

## ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ ПРИПОЛЯРНОЙ И АРКТИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ

**Лев Евгеньевич ПАНИН**

ФГБУ НИИ биохимии СО РАМН  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Сегодня перед Россией стоит огромная геополитическая задача, связанная с освоением Северного морского пути и шельфов Северного Ледовитого океана. С ее решением данные территории превращаются в зону непрерывной хозяйственной деятельности человека. Экстремальные климатические условия делают необходимым разработку системы жизнеобеспечения, опирающейся на новые принципы профилактики заболеваний человека и оказания ему необходимой медицинской помощи. Эффективность приполярной и арктической медицины будет зависеть от того, насколько полно они смогут учитывать эти особенности среды обитания человека и функционального состояния его органов и систем. Статья написана по материалам институтов СО РАМН, участвующих в изучении медицинских проблем Сибири и Азиатского Севера.

**Ключевые слова:** Азиатский Север, Арктика, адаптация человека, приполярная и арктическая медицина.



СЕЧЕНОВ  
(1829–1905)

«Организм без внешней среды, поддерживающей его существование, невозможен, поэтому в научное определение организма должна входить и среда, влияющая на него».

Сеченов И.М. Избранные произведения. - М.: Изд-во АН СССР, 1952.-Т.1. -772 с.

Адаптация человека к экстремальным экологическим условиям Сибири и Азиатского Севера, состояние его здоровья и работоспособности тесно связаны. Все это делает необходимым разработку нового направления здравоохранения – приполярной и арктической медицины. В значительной степени именно с этой целью в 1970 г. в Новосибирске был создан Сибирский филиал Академии медицинских наук СССР.

Успешное освоение природных богатств Сибири и Севера тесно связано со здоровьем сибирских популяций. Сегодня ишемическая болезнь сердца (ИБС) в высоких широтах служит одной из наиболее распространенных причин снижения работоспособности пришлых жителей и приводит к смерти на 10–15 лет раньше, чем в средних

широтах, а максимум смертей от ИБС (56,2 %) приходится на возраст 40–59 лет (в средних широтах – на возрастную группу после 60 лет, 69,9 %). Важной особенностью ИБС на Севере является прямая зависимость возникновения приступов стенокардии, нарушений электрической активности сердца, изменения артериального давления, ухудшения показателей обменных процессов, усиления окислительного стресса, увеличения склонности к гиперкоагуляции крови, увеличения в крови концентрации стрессовых гормонов, нарастания психоэмоционального напряжения и ухудшения самочувствия больных от резких колебаний величин метеорологических и геомагнитных факторов высоких широт (Ю.П. Никитин, Р.С. Карпов, В.Т. Манчук).

Исследования на Таймыре и Ямале показали высокую распространенность артериальной гипертензии (АГ) среди обследованных пришлых жителей Севера (35 %), при этом 60 % всех случаев АГ приходится на возраст до 40 лет. Выявлено, что вероятность развития АГ после 10 лет работы на Севере увеличивается в 3 раза. В отличие от средних широт, где максимум умерших приходится на возрастную группу старше 60 лет, основная часть летальных исходов гипертонической болезни у северян приходится на возраст 40–59 лет. Показана возможность выделения особого северного варианта гипертонической болезни с выраженной метеолабильностью (кардиометеопатии), кризами по церебральному и кардиальному типу с инсультами и инфарктами миокарда.

**Панин Л.Е.** – академик РАМН, директор, e-mail: [ibch@soramn.ru](mailto:ibch@soramn.ru)

По данным официальной статистической отчетности (ФГУБЗ Сибирский окружной медицинский центр ФМБА России) в подростковом возрасте регистрируются значительно более высокие показатели распространенности АГ, чем среди детей от 0 до 14 лет (по СФО – в 6,3 раза). Однако наряду с этим отмечается негативная тенденция в динамике данного показателя: его прирост за последние три года в возрастной группе 0–14 лет составил 100 %, а у подростков 15–17 лет – 66,0 %.

Распространенность АГ у школьников Республики Бурятия составляет 9,7 % при наличии взаимосвязи с половозрастным признаком: высокая распространенность АГ у мальчиков в 16–17 лет, у девочек – в 12–15 лет. На формирование АГ влияет фактор урбанизации и высокогорья. Наиболее значимыми факторами риска формирования АГ у детей и подростков Республики Бурятия являются отягощенная наследственность по сердечно-сосудистым заболеваниям, уровень холестерина сыворотки крови, избыточная масса тела, дополнительными – курение родителей, предполагающее вероятность пассивного курения членов семьи, и фаза неустойчивого полового созревания (менархе менее 1 года) у девочек.

Фундаментальные исследования позволяют выявить особенности патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) на Крайнем Севере. Известно, что в экстремальных условиях высоких широт изменяются все виды обмена: белков, жиров, углеводов, витаминов, макро- и микроэлементов [1, 2]. Формируется полярный метаболический тип. Организм переходит на новый уровень гомеостаза, для которого характерны иные экологически обусловленные нормы состояния внутренней среды (кровь, лимфа, межклеточная жидкость), иные критерии оценки функциональной активности органов и систем. Например, для энергетического обмена важное значение приобретает переключение его с углеводного типа на липидный [3]. В крови увеличивается содержание транспортных форм жира – липопротеинов очень низкой (ЛПОНП) и низкой (ЛПНП) плотности, т. е. тех форм, которые относятся к атерогенным. Однако ранее в северных популяциях это не приводило к развитию атеросклероза или ИБС. На Севере баланс атерогенных и антиатерогенных форм ЛП в крови восстанавливался за счет повышения содержания липопротеинов высокой плотности (ЛПВП). Сегодня в условиях урбанизации Севера на другом метаболическом фоне известные факторы риска сердечно-сосудистой патологии, т.е. стресс (состояние тревожности), неправильное питание, гиподинамия, вред-

ные привычки (курение, алкоголизм), действуют значительно активнее, и врачи должны это знать.

ЛПОНП и ЛПНП являются также факторами риска для развития диабета второго типа. На Севере выявлен метаболически обусловленный диабет. Он носит транзиторный характер и легко может формировать клинические проявления диабета второго типа при повышении в крови апоВ-содержащих ЛПНП и ЛПОНП. Этому способствуют состояние хронического стресса, употребление избыточного количества углеводов и гипотония. Молекулярные механизмы развития диабета второго типа на Крайнем Севере в настоящее время недостаточно исследованы.

Изменения всех видов обмена веществ естественно предъявляют другие требования к характеру питания человека. На Севере снижается потребность в углеводах и повышается потребность в белках и жирах. Снижение интенсивности углеводного обмена уменьшает потребность организма в ряде водорастворимых витаминов, таких как В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>. Одновременное усиление жирового обмена повышает потребность в жирорастворимых витаминах, таких как А, Д, Е, играющих роль антиоксидантов по отношению к ненасыщенным жирным кислотам. При адаптации человека к холоду снижается коэффициент полезного действия физической работы. Все это делает необходимым уточнение нормативной базы питания для производственных коллективов, осваивающих природные ресурсы Арктического бассейна.

В науке есть такое понятие, как «обуславливающий фактор» [4]. На Севере важную роль играет «метаболическое обуславливание» [3, 5]. Например, макрофаг является важной клеткой системы иммунитета, одновременно он занимает ключевые позиции в обмене липопротеинов крови. На Севере у человека скорость обмена липопротеинов значительно выше. Это ложится большой нагрузкой на печеночный пул макрофагов. Переключение макрофагов на метаболические функции создает предпосылки для развития «северных» иммунодефицитов. В дальнейшем анализ межсистемных связей позволит разработать систему профилактических мероприятий для коррекции иммунодефицитов на Севере.

Угнетение работы «макрофагального фильтра» в отношении бактериально-вирусной инфекции определяет большую подверженность человека в условиях Сибири и Севера инфекционным заболеваниям. Сегодня наибольшую тревогу вызывает туберкулез. Особенно неблагоприятная ситуация сложилась в Сибири. Это связано с ростом устойчивости *M. tuberculosis* к лекарственным препаратам. В Томской и Новосибирской областях множественная лекарственная устойчи-

вость обнаруживается у 14,5 % больных, что в 1,5 раза выше среднероссийского показателя. Наиболее опасная ситуация сложилась в Бурятии и Тувинской Республике. Здесь самая высокая заболеваемость и смертность от туберкулеза. Особую угрозу представляет пенитенциарная система Сибири – мощный рассадник распространения болезни среди населения, так как лечение больных туберкулезом в тюрьмах и колониях практически не проводится. Плохая ситуация складывается и в отношении течения воспалительных процессов.

Климато-географические условия Сибири, Дальнего Востока и Крайнего Севера определяют, в первую очередь, выраженные особенности климатического течения хронических болезней органов дыхания: высокую частоту холодовой гиперреактивности дыхательных путей, нарушение кондиционирующей способности дыхательных путей, рано возникающую и быстро прогрессирующую мукоцилиарную недостаточность, высокую частоту инфекционной зависимости обострений, быстро прогрессирующие нарушения функции внешнего дыхания, быстрое развитие легочной гипертензии и легочного сердца, отчетливый сезонный характер развития обострений, ассоциированный с действием низкой температуры среды.

Ранее было показано, что резидентные макрофаги отвечают за процессы клеточной регенерации в патологическом очаге любой этиологии [6, 7]. Усиление экспрессии генов и синтеза белка в клетках в очаге воспаления происходит под влиянием кооперативного механизма действия продуктов деградации клеток, стероидных гормонов и ЛПВП. Он реализуется в макрофагах и приводит к образованию биологически активного комплекса «восстановленные формы стероидных гормонов (тетрагидросоединения) – апоА-1». Последний запускает процессы внутриклеточной регенерации. Угнетение фагоцитарной активности макрофагов подавляет действие этого механизма, что способствует хронизации воспалительной патологии у человека на Севере. С данным явлением врачи постоянно сталкиваются. В связи с этим будут разработаны на основе новых представлений эффективные средства усиления клеточной регенерации в условиях Арктики.

Заболеваемость онкопатологией в Сибири неуклонно растет (НИИ онкологии СО РАМН). В 2009 г. в сибирском регионе впервые зарегистрировано 89 385 больных злокачественными новообразованиями, из них в 52,4 % случаев у женщин. За 10 лет прирост абсолютного числа заболевших составил 13,7 %. Показатели заболеваемости и у мужского (СФО – 306,6, ДВФО – 284,4 на 100 тыс. населения), и у женского (СФО –

216,2, ДВФО – 207,5 на 100 тыс. населения) населения выше, чем в среднем по стране (РФ – 227,4 и 204,1 соответственно). Онкологическая заболеваемость в регионе за 10-летний период увеличилась в мужской популяции на 3,1 %, в женской – на 6,2 %. Лидирующие позиции в ее структуре у мужчин занимают злокачественные новообразования трахеи, бронхов и легкого (23,4 %), желудка (9,9 %), предстательной железы (9,9 %) и кожи (8,8 %), у женщин – рак молочной железы (19,9 %), кожи (12,9 %), ободочной кишки (6,6 %), шейки матки (6,4 %) и желудка (6,1 %).

В регионе ежегодно умирают от злокачественных новообразований более 50 тыс. человек (в 2009 г. – 51 864 больных), что составляет 55–60 % от численности впервые взятых на учет. Стандартизированный показатель смертности от злокачественных новообразований в регионе выше, чем в среднем по стране, и в 2009 г. в СФО он составил 137,4, в ДВФО – 134,4 на 100 тыс. населения (в РФ – 125,2). В структуре смертности у мужчин наибольший удельный вес имели опухоли трахеи, бронхов и легкого (30,4 %), желудка (12,7 %) и предстательной железы (6,1 %), у женщин – новообразования молочной железы (17,0 %), желудка (10,8 %) и легкого (8,4 %). В регионе, как и в целом по стране, не удастся добиться значительного снижения смертности от новообразований (НИИ онкологии СО РАМН).

Показано, что для коренного национального населения характерен высокий уровень онкологической заболеваемости, различающейся у представителей отдельных групп. У народов Крайнего Севера заболеваемость в 1,5–1,8 раза выше, чем у пришлого населения, у аборигенов, проживающих на южных территориях региона, приближается к показателям приезжего населения. В структуре онкозаболеваемости коренного населения преобладают опухоли пищеварительного тракта и шейки матки. Риск возникновения рака желудка у аборигенов почти в 2 раза выше, чем у приезжих.

Много нерешенных проблем в Сибири связано с медицинской и популяционной генетикой. Во всех случаях оценок состояния генофондов популяции человека, в прошлом и настоящем, для прогноза их развития на будущее необходим анализ основных факторов эволюции – факторов динамики генофонда. Большая роль в решении этой задачи принадлежит исследованиям по генетической эпидемиологии или, иными словами, географии редких мутантных генов наследственных болезней (НИИ медицинской генетики СО РАМН, НИИ терапии и профилактической медицины СО РАМН).

В Сибирском регионе накоплен материал по эпидемиологическим исследованиям груза наследственной патологии. Показано, что существуют региональные особенности в разнообразии наследственной патологии и уровня отягощенности.

Изучение разнообразия наследственной патологии в популяциях Сибири позволяет описать генетическую структуру этих популяций через гены наследственных болезней, оценить роль отбора и дрейф генов в ее формировании и выявить те гены наследственных болезней, которые можно условно рассматривать как этнически приуроченные. В обобщенном виде на ближайшую перспективу можно сформулировать следующие задачи (НИИ медицинской генетики СО РАМН):

1) выявление ассоциации полиморфизма генов с наиболее распространенными в Сибири заболеваниями, изучение его связи с патогенезом данных заболеваний; определение диагностической и прогностической значимости полиморфных вариантов генов, их место в общей системе диагностики, прогноза и лечения указанных заболеваний в различных этнических группах Сибири;

2) выявление и изучение факторов техногенной среды Сибири, влияющих на генетический аппарат клеток организма, разработка методов выявления нарушений в структуре генома человека под действием указанных факторов;

3) изучение груза наследственной патологии в различных этнических группах сельского и урбанизированного населения Сибири, совершенствование способов диагностики наследственных заболеваний, разработка предложений по формированию (совершенствованию) системы медико-генетической помощи населению с учетом выявленных особенностей распространения и структуры наследственной патологии в Сибири.

Арктика – это холод. Человек, адаптированный к холоду, предпочтительнее окисляет жирные кислоты, что и было показано ранее [5]. Часть энергии окисления тратится на обогрев организма, а часть – на выполнение химической и физической работы. На Севере теплопродукция человека выше, что приводит к снижению коэффициента полезного действия физической работы [5, 8]. Возникает необходимость уточнения не только норм потребности человека в пищевых веществах, но и калорийности суточных рационов.

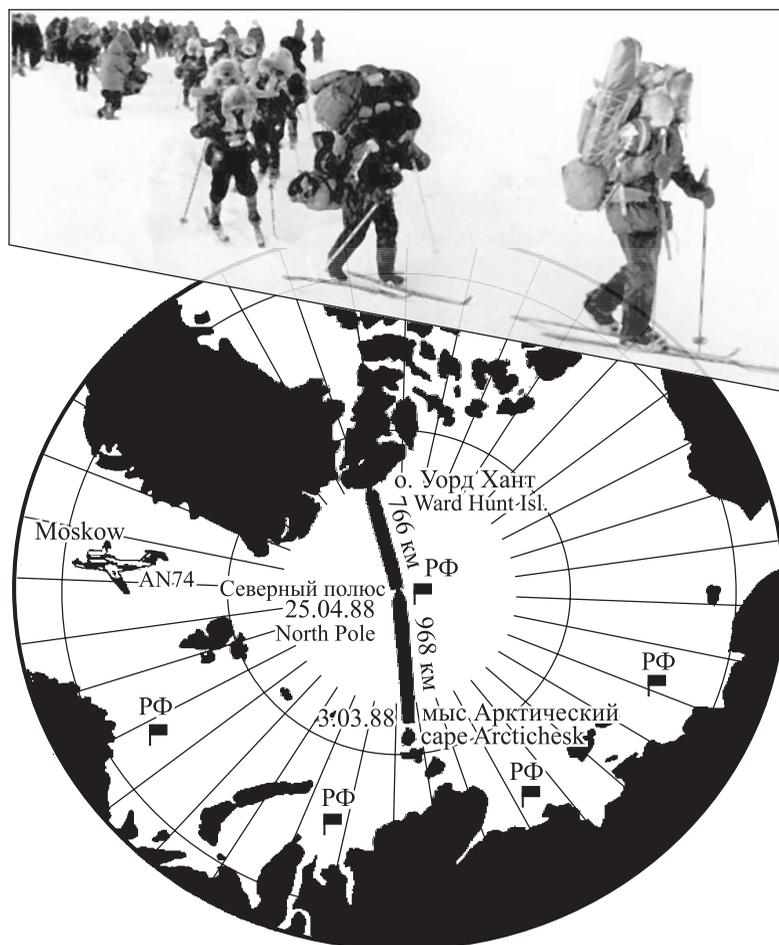
Изменение привычной фотопериодики в условиях Арктики приводит к развитию десинхронозов. Клинически это проявляется в снижении умственной и физической работоспособности, нарушении сна, эмоциональной нестабильности, непредсказуемости поведения человека и т.д.

В период полярной ночи возникают признаки сенсорной депривации, развиваются депрессивные состояния, иногда порождающие суицидные поступки. В период полярного дня доминируют повышенная возбудимость ЦНС, раздражительность, нарушение сна, различные вегетативные расстройства, в первую очередь кардиогенного характера, и т.д. Все это нуждается в правильной психотропной терапии, грамотном поведении врача – невропатолога и психиатра, опирающегося на системный подход к профилактике десинхронозов. Решение этой задачи сегодня требует интеграции усилий многих специалистов.

В развитии психосоматической патологии на Севере важную роль играет «синдром психоэмоционального напряжения» [9, 10]. Ведущим его признаком является развитие тревожности. Клинически она проявляется повышением внутренней напряженности, раздражительности и при нарастании тревожной симптоматики может переходить в невроз или депрессию. Выход в психосоматическую патологию здесь определяется индивидуальными особенностями высшей нервной деятельности. Это могут быть заболевания нервной системы, язвенная болезнь желудка и 12-перстной кишки, сердечно-сосудистая патология, увеличивается при этом и число инфекционных и простудных заболеваний. Сегодня пока нет надежных средств профилактики психосоматических заболеваний. Их активно нужно разрабатывать.

Большую медико-биологическую и социальную проблему в Арктике представляет употребление алкогольных напитков. Формирование алкогольной зависимости здесь идет на 5–7 лет быстрее, чем в умеренных широтах. Оказалось, что у северян в тканях уменьшается скорость гликолиза, метоболическим ответвлением которого является образование эндогенного (собственного) этанола. Снижение содержания эндогенного этанола, участвующего в образовании гормонов позитивного настроения, приводит к потребности повысить его содержание в крови за счет алкогольных напитков. Постепенно это формирует метаболическую зависимость от алкоголя. В НИИ биохимии СО РАМН разработан антиалкогольный препарат «PL-алко»; и получено разрешение на его применение для коррекции отмеченных выше нарушений обмена веществ у человека. Препарат оказался весьма эффективным, и может быть запущено его производство.

Выявлены особенности использования фармакологических препаратов для лечения различных заболеваний на Крайнем Севере, связанные с их повышенным окислением в системе мета-



*Маршрут трансарктической лыжной экспедиции Россия – Северный полюс – Канада*

близма ксенобиотиков организма и активным клиренсом. Данная проблема нуждается в дальнейшем изучении. Северная фармакология и приполярная медицина еще не стали достоянием практикующего врача и нуждаются в дальнейшем развитии. Однако краеугольные камни в эти направления уже заложены работами сотрудников институтов СО РАМН.

Сегодня перед Сибирским отделением стоят новые и очень ответственные задачи. Поиск минеральных и энергетических ресурсов в различных районах Арктического бассейна выявил наличие огромного количества запасов нефти, газа и газоконденсата. Сегодня эти территории стали сферой национальных интересов многих государств мира: России, США, Канады, скандинавских стран и др. Без преувеличения можно сказать, что экономическое освоение этих территорий уже сегодня приобретает геополитический характер. В настоящее время наибольшую перспективу представляет экономическое освоение шельфов Северного ледовитого океана, где Рос-

сия имеет самую протяженную государственную границу. В связи с активным таянием паковых льдов северный морской путь становится доступным для судоходства в течение круглого года. Таким образом, Европейский и Азиатский Север России превращается для человека в район активного хозяйственного освоения (см. рисунок).

Миграционные потоки населения в эти районы станут возрастать с каждым годом, и нужно иметь в виду, что они будут интернациональными. Рабочая сила будет привлекаться не только из России, но и из других стран ближнего и дальнего зарубежья: Украины, Белоруссии, среднеазиатских республик, Турции и т.д. Таким образом, речь идет о перемещении людей из благоприятных (комфортных) климатических условий в экстремальные условия Арктики. Разработка научных основ приполярной и арктической медицины становится межгосударственной задачей, в решение которой большой вклад вносит Сибирское отделение Российской академии медицинских наук.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бойко Е.Р.* Физиолого-биохимические основы жизнедеятельности человека на Севере. Екатеринбург: УРО РАН, 2005. 190 с.
2. *Казначеев В.П., Субботин М.Я.* Этюды к теории общей патологии. 2-е изд., Новосибирск, 2006. 255 с.
3. *Козырева Т.В.* Активность центральных и периферических терморепцепторов при длительной адаптации к холоду и действию норадреналина // *Организм и среда.* Новосибирск: СО РАМН, 2003. 80–94.
4. *Кривошеиков С.Г., Охотников С.В.* Производственные миграции и здоровье человека на Севере. Новосибирск: СО РАМН, 2000. 117 с.
5. *Механизмы адаптации человека в условиях высоких широт / Ред. В.П. Казначеев.* Л.: Медицина, 1980. 199 с.
6. *Панин Л.Е.* Биохимические механизмы стресса. Новосибирск: Наука, 1983. 232 с.
7. *Панин Л.Е., Соколов В.П.* Психосоматические взаимоотношения при хроническом психоэмоциональном напряжении. Новосибирск: Наука, 1981. 178 с.
8. *Панин Л.Е., Усенко Г.А.* Тревожность, адаптация и донозологическая диспансеризация. Новосибирск: СО РАМН, 2004. 315 с.
9. *Селье Г.* Концепция стресса, как мы ее понимаем в 1976 году // *Новое о гормонах и механизмах их действия.* Киев, 1977. 21–51.
10. *Observations on the Soviet / Canadian Transpolar Ski Trek / Ed. Roy J. Shepard, Andris Rode.* KARGER: Basel, Munchen, Paris, London, New York, 1992. 190 p.

## FUNDAMENTAL PROBLEMS OF THE CIRCUMPOLAR AND THE ARCTIC MEDICINE

**Lev Evgenyevich PANIN**

*Federal State Budgetary Institution «Scientific Research Institute of Biochemistry» of SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2.*

---

Today Russia has a huge geopolitical problem related to the development of the Northern Sea Route and the shelves of the Arctic Ocean. With its decision these territories become a zone of continuous human activities. Extreme climatic conditions make it necessary to develop the life support system here, based on new principles for prevention of human diseases and provide him with adequate medical care. The effectiveness of the circumpolar and arctic medicine in high latitudes will depend on how well they are able to take into account these features of the human environment and its functional state of organs and systems. The article is based on the material of institutes of the Siberian Branch of RAMS, involved in the study of medical problems of Siberia and the Asian North.

---

**Key words:** Asian North, Arctic, human adaptation, circumpolar and arctic medicine.

**Panin L.E.** – *academician of RAMS, director, e-mail: ibch@soramn.ru*

## КЛЕТОЧНЫЙ СОСТАВ ТИМУСА И СЕЛЕЗЕНКИ МЫШЕЙ В ДИНАМИКЕ РАЗВИТИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ РЕАКЦИИ «ТРАНСПЛАНТАТ ПРОТИВ ХОЗЯИНА»

Анна Вениаминовна ШУРЛЫГИНА<sup>1</sup>, Евгения Владимировна МЕЛЬНИКОВА<sup>1</sup>,  
Ольга Петровна КОЛЕСНИКОВА<sup>3</sup>, Елена Владимировна ГОЙМАН<sup>3</sup>,  
Валерий Алексеевич ТРУФАКИН<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБУ НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4

<sup>3</sup> ФГБУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН  
630099, г. Новосибирск, ул. Ядринцевская, 14

Цель исследования – изучение клеточного состава тимуса и селезенки мышей при хронической реакции «трансплантат против хозяина» (хРТПХ). Индукцию хронической РТПХ у мышей осуществляли путем переноса самкам B6D2F1 лимфоидных клеток родительской линии DBA/2. Субпопуляции лимфоцитов, пролиферацию и апоптоз определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител и пропидиума йодида. Выявлено, что в динамике развития хРТПХ нарушаются взаимодействия между центральным и периферическим звеном иммунитета. Результаты позволяют рассматривать процессы лимфопоза в тимусе как мишень для коррекции аутоиммунных заболеваний и хРТПХ.

**Ключевые слова:** хроническая РТПХ, аутоиммунитет, тимус, селезенка, лимфоциты.

Хроническая реакция «трансплантат против хозяина» (хРТПХ) является классической экспериментальной моделью аутоиммунных заболеваний человека, позволяющей изучать механизмы формирования иммунопатологических процессов и разрабатывать схемы корригирующей терапии [1, 4, 15, 19]. Аутоиммунные заболевания возникают вследствие патологических иммунных реакций против собственных тканей организма и представляют собой разнородную по клиническим проявлениям группу, в настоящее время включающую более 80 различных аутоиммунных синдромов, которыми болеет по разным данным до 8 % населения планеты [9, 11]. Патогенез развития аутоиммунных заболеваний очень сложен, во многом не ясен и может быть обусловлен перекрестной реакцией против собственных антигенов при ответе на инфекционные агенты, изменением антигенной структуры тканей так,

что она становится иммуногенной для собственной иммунной системы, нарушением проницаемости гистогематических барьеров, иммунным дисбалансом с нарушением функциональной активности регуляторных субпопуляций лимфоцитов, а также другими причинами [10, 12, 16]. Иммунологические механизмы развития хРТПХ состоят в нарушении баланса Т-хелперов 1-го и 2-го типов [2], изменении цитокинового профиля [3], Т-зависимой поликлональной активации В-клеток, сопровождающейся увеличением синтеза анти-ДНК антител, формированием иммунных комплексов, что приводит к системному иммунокомплексному воспалительному процессу в почках [6], который по многим параметрам является аналогом системной красной волчанки у человека. Однако в литературе очень мало данных об особенностях субпопуляционного состава клеток тимуса и селезенки, а также их пролифе-

*Шурлыгина А.В.* – д.м.н., проф., зав. лабораторией иммуноморфологии, e-mail: anna\_v\_s@mail.ru

*Мельникова Е.В.* – научный сотрудник лаборатории, e-mail: gennyma@gmail.com

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

*Гойман Е.В.* – к.м.н., научный сотрудник лаборатории экспериментальной иммунотерапии, e-mail: L.Goiman@mail.ru

*Труфакин В.А.* – д.м.н., проф., академик РАМН, зав. лабораторией хронофизиологии, e-mail: trufakin@physiol.ru

ративной активности на разных сроках развития экспериментальной хРТПХ. Эта проблема представляет значительный интерес, так как при изучении данной модели наибольшее внимание исследователи уделяют периферическим органам иммунитета, в частности, селезенке, в которой разворачиваются основные процессы клеточной активации, приводящие в конечном итоге к синтезу аутоантител и развитию аутоиммунного процесса. Изменения со стороны тимуса практически не описаны, хотя существует концепция о ведущей роли нарушения центральной дифференцировки Т-лимфоцитов в патогенезе аутоиммунных заболеваний [5]. Таким образом, целью настоящей работы явилось комплексное изучение клеток тимуса и селезенки мышей на ранних и поздних сроках развития хРТПХ в эксперименте. При этом мы уделили особое внимание исследованию поверхностного фенотипа тимоцитов и спленоцитов, характеризующего дифференцировку и активацию иммунокомпетентных клеток. Было также исследовано содержание в лимфоидных органах клеточных элементов, находящихся в различных фазах клеточного цикла, что дает возможность судить о процессах пролиферации и апоптоза в динамике развития модельного аутоиммунного процесса.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали самок мышей – гибридов первого поколения (C57Bl/6 × DBA/2)F1 (B6D2F1) и самок мышей линии DBA/2 в возрасте 2–8 мес., полученных из лаборатории экспериментальных животных (моделей) ФГБУ НИИ клинической иммунологии СО РАМН (г. Новосибирск). Животных содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Индукцию хРТПХ у мышей осуществляли путем переноса самкам B6D2F1 лимфоидных клеток родительской линии DBA/2. Клетки селезенки, выделенные *ex tempore*, внутривенно вводили реципиентам в дозе  $(60–70) \times 10^6$  клеток двукратно с интервалом в 5 дней. В качестве контрольной группы использовали интактных животных того же генотипа, пола, возраста, что и в опыте. Наличие аутоиммунного иммунокомплексного гломерулонефрита диагностировали через 3 мес. после индукции хРТПХ по наличию белка в моче, которое определяли колориметрически с кумасси бриллиантовым синим (Loba Feinchemie, Австрия) на Titertek Multiskan (США), длина волны 570 нм. Для исследования отбирали мышей с

наличием протеинурии. Животных забивали на 8-е и 90-е сутки после индукции хРТПХ методом дислокации шейного отдела позвоночника под легким эфирным наркозом. Тимус и селезенку взвешивали, затем готовили клеточную суспензию мягким раздавливанием органа в стеклянном гомогенизаторе.

Содержание субпопуляций лимфоцитов в клеточной суспензии тимуса и селезенки определяли методом проточной цитофлуориметрии с использованием моноклональных антител (BD Pharmingen, США) к поверхностным лимфоцитарным антигенам мыши, меченных флуоресцеин-5-изотиоцианатом (CD3, CD4, CD19) и фикоэритрином (CD25, CD8 и CD27) с помощью проточного цитометра FACSCalibur по программе CellQuest (Becton Dickinson, США).

Оценку соотношения клеток в различных фазах клеточного цикла в лимфоидных органах проводили с использованием метода окрашивания клеточной суспензии йодистым пропидиумом. Клетки дважды отмывали холодным забуференным физиологическим раствором (ЗФР, pH 7,4) и фиксировали в 70%-м этаноле. Через час образцы центрифугировали и удаляли спирт. Фиксированные клетки инкубировали в 1 мл раствора пропидиума йодида (10 мкг/мл в ЗФР) и РНКазы (0,2 мг/мл) в течение 15 минут при комнатной температуре, после чего анализировали методом проточной цитофлуориметрии с использованием цитометра FACS Calibur. Оценивали количество клеток в состоянии апоптоза (количество ДНК < 2n), в фазе G0/G1 (количество ДНК = 2n), в фазе S (2n < количество ДНК < 4n) и в фазе G2/M (количество ДНК = 4n).

Статистическая обработка была проведена с использованием методов описательной статистики, при помощи которых вычисляли среднее арифметическое (M) и стандартную ошибку среднего (SE). Оценку достоверности различий между группами проводили с использованием непараметрического критерия Вилкоксона – Манна – Уитни при 95%-м уровне значимости.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

На 8-е сутки после индукции хронической РТПХ повышается масса селезенки и общее количество клеток в органе. Увеличивается также абсолютное количество спленоцитов в G2/M-фазе клеточного цикла (табл. 1). Происходят изменения в субпопуляционном составе клеток органа: снижается относительное содержание спленоцитов CD3<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup>, но повышается абсолютная численность клеток CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>. Увеличивается абсолютное количество регуляторных

Таблица 1

Масса и клеточный состав лимфоидных органов у мышей B6D2F1 на 8-е сутки после переноса лимфоидных клеток родительской линии ( $M \pm SE$ )

Параметр	Интактные	РТПХ 8 сут.
Масса селезенки, мг	79,20 ± 5,29	242,00 ± 22,23*
Количество клеток в селезенке ( $\times 10^6$ )	576,85 ± 94,50	1148,07 ± 120,94*
Количество спленоцитов в фазе G0/G1 ( $\times 10^6$ )	547,97 ± 92,87	1039,15 ± 118,83*
Количество спленоцитов в фазе G2/M ( $\times 10^6$ )	4,33 ± 0,65	9,49 ± 0,70*
Количество спленоцитов в фазе S ( $\times 10^6$ )	10,50 ± 1,94	91,69 ± 50,90*
Количество спленоцитов CD3 <sup>+</sup> , %	27,58 ± 0,65	25,32 ± 0,77*
Количество спленоцитов CD8 <sup>+</sup> , %	10,39 ± 0,27	7,84 ± 0,19*
Количество спленоцитов CD19 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> , %	1,16 ± 0,13	0,65 ± 0,06*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> 27 <sup>+</sup> , %	1,77 ± 0,14	7,00 ± 0,33*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> 27 <sup>low</sup> , %	1,66 ± 0,14	6,15 ± 0,26*
Количество спленоцитов CD3 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	157,92 ± 25,08	290,06 ± 31,05*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	128,24 ± 19,06	238,76 ± 23,70*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> 25 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	7,35 ± 18,23	14,41 ± 22,00*
Количество спленоцитов CD19 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	325,79 ± 58,02	667,97 ± 63,24*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> 27 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	10,57 ± 2,44	78,92 ± 6,09*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> 27 <sup>low</sup> ( $\times 10^6$ )	10,02 ± 2,37	69,63 ± 5,99*
Количество тимоцитов CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> , %	83,64 ± 2,7	75,86 ± 3,21*
Количество тимоцитов CD25 <sup>+</sup> , %	2,50 ± 0,23	4,90 ± 0,04*

Примечание. Здесь и в табл. 2 \* – отличие от величины соответствующего показателя группы «интактные» статистически значимо при  $p < 0,05$ .

Таблица 2

Масса и клеточный состав лимфоидных органов мышей B6D2F1 на 90-е сутки после переноса лимфоидных клеток родительской линии ( $M \pm SE$ )

Параметр	Интактные	РТПХ 3 мес.
Масса селезенки, мг	84,00 ± 6,24	214,50 ± 40,55*
Количество клеток в тимусе ( $\times 10^6$ )	53,68 ± 8,69	12,25 ± 3,23*
Количество клеток в селезенке ( $\times 10^6$ )	63,04 ± 10,45	252,65 ± 83,29*
Количество тимоцитов в фазе G2/M, %	0,93 ± 0,22	0,24 ± 0,05*
Количество гиподиплоидных тимоцитов ( $\times 10^6$ )	0,06 ± 0,27	0,02 ± 0,00*
Количество тимоцитов в фазе G0/G1 ( $\times 10^6$ )	51,03 ± 14,25	14,61 ± 0,72*
Количество тимоцитов в фазе G2/M ( $\times 10^6$ )	0,47 ± 0,29	0,04 ± 0,01*
Количество тимоцитов в фазе S ( $\times 10^6$ )	2,12 ± 0,87	0,78 ± 0,03*
Количество спленоцитов в фазе G0/G1 ( $\times 10^6$ )	61,64 ± 34,82	248,15 ± 92,08*
Количество спленоцитов в фазе G2/M ( $\times 10^6$ )	0,28 ± 1,09	2,55 ± 1,69*
Количество спленоцитов в фазе S ( $\times 10^6$ )	0,62 ± 3,01	5,29 ± 2,29*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	10,48 ± 1,66	44,58 ± 16,11*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> 25 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	1,40 ± 0,17	5,54 ± 2,33*
Количество спленоцитов CD25 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	2,74 ± 0,39	12,17 ± 5,55*
Количество спленоцитов CD4 <sup>+</sup> 27 <sup>low</sup> ( $\times 10^6$ )	4,10 ± 1,25	19,23 ± 9,75*
Количество спленоцитов CD19 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	12,67 ± 4,50	245,70 ± 135,72*
Количество спленоцитов CD19 <sup>+</sup> 25 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	36,46 ± 7,62	147,12 ± 55,41*
Количество тимоцитов CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>-</sup> , %	7,74 ± 0,94	12,03 ± 1,24*
Количество тимоцитов CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> , %	82,65 ± 0,85	65,87 ± 4,54*
Количество тимоцитов CD4 <sup>+</sup> 25 <sup>high</sup> , %	0,13 ± 0,04	0,26 ± 0,06*
Количество тимоцитов CD25 <sup>+</sup> , %	2,19 ± 0,17	8,00 ± 0,76*
Количество тимоцитов CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>-</sup> ( $\times 10^6$ )	4,33 ± 1,20	1,35 ± 0,40*
Количество тимоцитов CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	44,31 ± 13,46	8,87 ± 2,31*
Количество тимоцитов CD4 <sup>+</sup> 8 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	2,77 ± 0,71	0,54 ± 0,20*
Количество тимоцитов CD3 <sup>+</sup> ( $\times 10^6$ )	48,06 ± 13,72	11,31 ± 2,95*

Т-клеток  $CD4^{+}25^{+}$  без изменения их процентного содержания. Повышается относительное и абсолютное количество  $CD4^{+}27^{+}$  и  $CD4^{+}27^{high}$  (предшественники Т-эффекторных лимфоцитов), а также  $CD4^{+}27^{low}$  (зрелые Т-эффекторы), возрастает абсолютное количество спленоцитов  $CD19^{+}$  (В-клетки), но не  $CD19^{+}25^{+}$  (активированные В-клетки). При этом процент активированных В-лимфоцитов достоверно снижается (см. табл. 1).

В тимусе пролиферативная активность клеток не меняется (см. табл. 1). Происходит снижение относительного содержания тимоцитов  $CD4^{+}8^{+}$  и  $CD25^{+}$  (активированные/незрелые Т-клетки).

К 3-му месяцу после индукции хРТПХ у животных с аутоиммунным гломерулонефритом увеличивались масса селезенки и общее количество спленоцитов. Численность клеток в тимусе, наоборот, снизилась относительно интактного контроля (табл. 2).

Кинетика клеточного цикла тимоцитов и спленоцитов претерпевает следующие изменения: снижается относительное содержание тимоцитов в фазе G2/M и абсолютное их количество во всех фазах цикла, в селезенке повышается абсолютное количество клеток в фазах G0/G1, G2/M и S (см. табл. 2).

Происходят изменения и в субпопуляционном составе органов иммунной системы. В тимусе возрастает относительное содержание  $CD4^{+}8^{+}$  (зрелые Т-хелперы),  $CD25^{+}$  (активированные/незрелые тимоциты),  $CD4^{+}25^{high}$  (регуляторные Т-клетки с супрессорной активностью), но снижается процент  $CD4^{+}8^{+}$  (незрелые дубльпозитивные тимоциты). В соответствии с уменьшением общего количества клеток в органе оказалась сниженной и абсолютная численность всех исследованных субпопуляций (см. табл. 2).

В селезенке увеличивается абсолютное число субпопуляций  $CD4^{+}$ ,  $CD4^{+}27^{low}$ ,  $CD19^{+}$  (см. табл. 2).

## ОБСУЖДЕНИЕ

Накопленный к настоящему времени клинический и экспериментальный материал свидетельствует о том, что ведущую роль в формировании аутоиммунных процессов играют нарушения дифференцировки Т-клеток, межклеточных взаимодействий, недостаточность Т-регуляторных клеток [7], что обуславливает экспансию В-лимфоцитов, продуцирующих аутоантитела [14]. Одним из центральных компонентов развития аутоиммунной патологии считается также цитокиновый дисбаланс, в котором значимая роль отводится снижению продукции ИЛ-2 иммуно-

компетентными клетками [14]. Аутоиммунные заболевания человека имеют многофакторную этиологию, во многом невыясненный механизм развития и, в связи с этим, очень трудно поддаются лечению. Поэтому существует потребность в подробном исследовании механизмов патогенеза аутоиммунного процесса в модельном эксперименте. Классической экспериментальной моделью аутоиммунной патологии считается хРТПХ и развивающийся в ходе ее иммунокомплексный гломерулонефрит [2]. Функциональная недостаточность Т-клеточного звена иммунной системы обнаруживается на самых ранних стадиях хронической РТПХ (модель переноса мышам – гибридам иммунокомпетентных клеток родительской линии) до появления «клинических» признаков аутоиммунного гломерулонефрита [20]. Авторы последней работы считают данную модель адекватной для исследования воздействий, способных повлиять на образование и функциональную активность Т-лимфоцитов. В связи с этим существует необходимость более подробной характеристики клеточного состава центральных и периферических органов иммунной системы на разных сроках развития хРТПХ.

В настоящей работе установлено, что на ранних этапах развития иммунопатологического процесса в исследованной нами модели идет преимущественная реакция в селезенке – пролиферация, увеличение численности и Т-, и В-популяций с увеличением абсолютного количества регуляторных Т-клеток –  $T_{per}$  ( $CD4^{+}25^{+}$ ) и клеток с фенотипом  $CD4^{+}27^{low}$ . Последняя субпопуляция по сообщениям разных авторов может представлять или терминально дифференцированные Th1, продуцирующие цитокины ИФН- $\gamma$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-17, ИЛ-2 [13], или Т-клетки памяти, относящиеся преимущественно к Th2 и продуцирующие эффекторные цитокины ИФН- $\gamma$ , ИЛ-10 и ИЛ-13 [18]. Однако в обеих публикациях отмечается, что Т-клетки с отсутствием или с низким уровнем экспрессии CD27 относятся к более дифференцированной, функционально активной эффекторной популяции. Количество В-лимфоцитов повышается, что соответствует данным литературы [3]. Все эти изменения могут свидетельствовать об активированном состоянии спленоцитов в результате иммунной реакции «трансплантат против хозяина».

В тимусе меняется процентное соотношение различных форм малодифференцированных клеток без изменений численности зрелых субпопуляций. Несколько снижается относительное содержание дубльпозитивных  $CD4^{+}8^{+}$  тимоцитов, которые находятся на сравнительно поздней стадии дифференцировки и после ее завершения ста-

новятся зрелыми Т-хелперами и Т-эффекторами/киллерами ( $CD4^+8^-$  и  $CD4^+8^+$ ). Однако почти в 2 раза возрастает процент тимоцитов, находящихся на более ранних стадиях созревания ( $CD25^+$ ). Таким образом, можно предположить развитие дисбаланса центральной дифференцировки Т-лимфоцитов. Этот факт согласуется с литературными данными о ведущей роли нарушений функции тимуса в патогенезе аутоиммунных заболеваний [5, 8]. При этом предполагается несколько возможных вариантов дисфункции тимуса при развитии хРТПХ, сопровождающейся аутоиммунной патологией: повреждение процесса негативной селекции аутореактивных клонов, нарушение заселения органа костно-мозговыми предшественниками Т-клеток и процессов созревания тимоцитов [17].

К 3-му месяцу после индукции хРТПХ у части экспериментальных животных развивается аутоиммунный гломерулонефрит [3]. Это состояние характеризуется повышением массы селезенки и общего количества спленоцитов. Численность клеток в тимусе, наоборот, снижается относительно интактного контроля.

Анализ содержания ДНК в ядрах тимоцитов и спленоцитов при окрашивании йодидом пропидиума свидетельствует о снижении пролиферации в тимусе и стимуляции клеточного деления в селезенке, что соответствует представлениям о механизмах развития аутоиммунного процесса: дисфункция и гипоплазия тимуса, сопровождающиеся активацией иммунокомпетентных клеток на периферии.

Происходят изменения и в субпопуляционном составе клеточных элементов органов иммунной системы. В тимусе повышается процентное содержание  $CD4^+8^-$  (зрелые Т-хелперы),  $CD25^+$  (активированные/незрелые тимоциты),  $CD4^+25^{\text{high}}$  (регуляторные Т-клетки с супрессорной активностью), но уменьшается относительная концентрация  $CD4^+8^+$  (незрелые дубльпозитивные тимоциты). В соответствии с уменьшением общего количества клеток в органе оказалась сниженной абсолютная численность всех исследованных субпопуляций.

В селезенке увеличивается абсолютное число субпопуляций  $CD4^+$ ,  $CD4^+27^{\text{low}}$ ,  $CD19^+$  (соответственно Т-хелперы, функционально активные Т-лимфоциты, продуцирующие цитокины, В-лимфоциты).

Таким образом, для мышей с хРТПХ и развившимся аутоиммунным гломерулонефритом характерными признаками являются спленомегалия и снижение количества клеток в тимусе, повышение пролиферативной активности спленоцитов и снижение пролиферации тимоцитов,

что соответствует динамике общего количества клеток в органах.

Изменение процентного соотношения клеточных субпопуляций в тимусе свидетельствует о том, что нарушение дифференцировки тимоцитов сохраняется и на поздних стадиях развития хРТПХ. Снижение количества дубльпозитивных (незрелых) тимоцитов  $CD4^+8^+$  говорит либо об их ускоренной дифференцировке, либо о снижении поступления в тимус костно-мозговых предшественников Т-лимфоцитов. Последнее предположение согласуется с данными литературы [17]. Возможно также, что происходит сдвиг костно-мозгового лимфопоэза в сторону В-клеточного роста и в результате образуется дефицит костно-мозговых предшественников Т-лимфоцитов, заселяющих тимус. Повышение процентного содержания в тимусе клеток  $CD4^+25^{\text{high}}$  ( $T_{\text{рег}}$ ) и на ранних, и на поздних сроках развития хРТПХ входит в некоторое противоречие с мнением авторов [7], отводящих значимую роль в развитии аутоиммунных процессов дефициту клеток  $T_{\text{рег}}$ . Однако в данном случае увеличение относительного содержания этих клеток может быть обусловлено более выраженным снижением численности других субпопуляций в соответствии с общим уменьшением количества тимоцитов.

В селезенке мышей с аутоиммунным гломерулонефритом повышено процентное содержание и абсолютное количество В-лимфоцитов  $CD19^+$ , что характерно для аутоиммунного процесса [3]. Увеличено также процентное содержание и абсолютное количество зрелых эффекторных спленоцитов  $CD4^+27^{\text{low}}$ . Эти данные позволяют сделать вывод о сохраняющемся активированном состоянии пула спленоцитов на поздних сроках развития хРТПХ у животных с аутоиммунным гломерулонефритом.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, проведенное исследование позволяет заключить, что при развитии аутоиммунного процесса, обусловленного хРТПХ, происходит нарушение иммунорегуляторных взаимодействий между центральным и периферическим звеном иммунитета. Нами выявлены клеточные индикаторы дисфункции тимуса в исследованной экспериментальной модели и на ранних, и на поздних сроках, что подтверждает мнение ряда авторов о значимой роли повреждения Т-лимфопоэза в развитии аутоиммунитета. Полученные данные свидетельствуют в пользу того, что процессы центральной пролиферации и дифференцировки Т-клеток могут рассматриваться как возможные фармакологические мишени для коррекции аутоиммунных заболеваний и хРТПХ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Колесникова О.П., Мирскова А.Н., Адамович С.Н. и др. Скрининг иммуноактивных и противоопухолевых свойств комплексов триэтанолamina с солями биомикроэлементов // Бюл. СО РАМН. 2009. 140. (6). 73–80.
2. Кудяева О.Т. Th1/Th2-поляризация как эпигенетический механизм формирования разных вариантов иммунопатологии при реакции «трансплантат против хозяина»: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Новосибирск, 2005.
3. Кудяева О.Т., Колесникова О.П. Патологические механизмы иммунных нарушений и баланс про- и противовоспалительных цитокинов. Модель РТПХ // Система цитокинов. Теоретические и клинические аспекты / Ред.: В.А. Козлов, С.В. Сенников. Новосибирск: Наука, 2004. 255–268.
4. Лимонов В.А., Шурлыгина А.В., Робинсон М.В. и др. Морфологическое исследование почек и селезенки у мышей с иммунокомплексным гломеруло-нефритом, интактных и на фоне иммуносупрессивной терапии // Бюл. СО РАМН. 2005. 116. (2). 50–55.
5. Труфакин В.А. Иммуноморфологические аспекты аутоиммунных процессов. Новосибирск: Наука, 1983. 178 с.
6. Appleby P., Webber D.G., Bowen J.G. Murine chronic graft-versus-host disease as model of systemic lupus erythematosus: Effect of immunosuppressive drugs on disease development // Clin. Exp. Immunol. 1989. 78. (3). 449–453.
7. Chen X., Vodanovic-Jankovic S., Johnson B. et al. Absence of regulatory T-cell control of TH1 and TH17 cells is responsible for the autoimmune-mediated pathology in chronic graft-versus-host disease // Blood. 2007. 110. (10). 3804–3813.
8. Chu Y.W., Gress R.E. Murine models of chronic graft-versus-host disease: insights and unresolved issues // Biol. Blood Marrow Transplant. 2008. 14. (4). 365–378.
9. Diamond B. Autoimmunity // Immunol. Rev. 2005. 204. 5–8.
10. Ercolini A.M., Miller S.D. The role of infections in autoimmune disease // Clin. Exp. Immunol. 2009. 155. (1). 1–15.
11. Fairweather D., Frisancho-Kiss S., Rose N.R. Sex differences in autoimmune disease from a pathological perspective // Am. J. Pathol. 2008. 173. (3). 600–609.
12. Invernizzi P., Lleo A., Podda M. Interpreting serological tests in diagnosing autoimmune liver diseases // Semin. Liver. Dis. 2007. 27. (2). 161–172.
13. Kapina M.A., Shepelkova G.S., Mischenko V.V. et al. CD27<sup>low</sup> CD4 T lymphocytes that accumulate in the mouse lungs during mycobacterial infection differentiate from CD27<sup>high</sup> precursors in situ, produce IFN-gamma, and protect the host against tuberculosis infection // J. Immunol. 2007. 178. (2). 976–985.
14. Katsiari C.G., Kyttaris V.C., Juang Y.T., Tsokos G.C. Protein phosphatase 2A is a negative regulator of IL-2 production in patients with systemic lupus erythematosus // J. Clin. Invest. 2005. 115. (11). 3193–3204.
15. Murphy W.J. Revisiting graft-versus-host disease models of autoimmunity: new insights in immune regulatory processes // Ibid. 2000. 106. (6). 745–747.
16. Paust S., Cantor H. Regulatory T cells and autoimmune disease // Immunol. Rev. 2005. 204. 195–207.
17. Sakoda Y., Hashimoto D., Asakura S. et al. Donor-derived thymic-dependent T cells cause chronic graft-versus-host disease // Blood. 2007. 109. (4). 1756–1764.
18. Schiött A., Lindstedt M., Johansson-Lindbom B. et al. CD27<sup>–</sup> CD4<sup>+</sup> memory T cells define a differentiated memory population at both the functional and transcriptional levels // Immunology. 2004. 113. (3). 363–370.
19. Slayback D.L., Dobkins J.A., Harper J.M., Allen R.D. Genetic factors influencing the development of chronic graft-versus-host disease in a murine model // Bone Marrow Transplant. 2000. 26. (9). 931–938.
20. Via C.S., Shearer G.M. Defective *in vitro* IL-2 production in lupus is an early but secondary event paralleling disease activity: evidence from the murine parent-into-F1 model supports staging of IL-2 defects in human lupus // Autoimmunity. 2010. 43. (1). 23–31.

## **THYMIC AND SPLEENS CELLULAR STRUCTURE OF MICE IN DYNAMICS OF DEVELOPMENT OF CHRONIC «GRAFT-VERSUS-HOST» REACTION**

**Anna Veniaminovna SHURLYGINA<sup>1</sup>, Evgenija Vladimirovna MELNIKOVA<sup>1</sup>,  
Olga Petrovna KOLESNIKOVA<sup>3</sup>, Elena Vladimirovna GOIMAN<sup>3</sup>,  
Valery Alekseevich TRUFAKIN<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Clinical and Experimental Lymphology of SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

<sup>2</sup> *Institute of Physiology and Fundamental Medicine of SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

<sup>3</sup> *Institute of Clinical Immunology of SB RAMS  
630099, Novosibirsk, Yadrincevskaja str., 14*

---

RESEARCH OBJECTIVE. Studying of thymic and spleens cellular structure of mice at chronic «graft-versus-host» reaction. MATERIAL AND METHODS. Induction of chronic «graft-versus-host» reaction at mice was carried out by transfer to females of B6D2F1 of lymphoid cells of the parental DBA/2 line. Subpopulations of lymphocytes, proliferation and apoptosis were determined by a method of a flow cytometry with use of monoclonal antibodies and propidium iodide. RESULTS AND DISCUSSION. It is revealed that in dynamics of development of chronic «graft-versus-host» reaction interactions between the central and peripheral components of immunity are broken. The results allow considering the processes of lymphopoiesis in thymus as a target for correction of autoimmune diseases and chronic «graft-versus-host» reaction.

---

**Key words:** chronic «graft-versus-host» reaction, autoimmunity, thymus, spleen, lymphocytes.

*Shurlygina A.V. – doctor of medical sciences, professor, head of the laboratory of immunomorphology,  
e-mail: anna\_v\_s@mail.ru*

*Melnikova E.V. – researcher of the laboratory of immunomorphology, e-mail: gennyma@gmail.com*

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

*Goiman E.V. – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of experimental immunotherapy,  
e-mail: L.Goiman@mail.ru*

*Trufakin V.A. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAMS, head of the laboratory  
of chronophysiology, e-mail: trufakin@physiol.ru*

## ГОРМОНАЛЬНО-БИОХИМИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ АЛЛОКСАНОВОЙ И СРЕПТОЗОТОЦИНОВОЙ МОДЕЛЕЙ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ДИАБЕТА

**Наталья Александровна ПАЛЬЧИКОВА, Наталья Владимировна КУЗНЕЦОВА,  
Ольга Ивановна КУЗЬМИНОВА, Вера Георгиевна СЕЛЯТИЦКАЯ**

*ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН  
630117, Новосибирск, ул. Тимакова, 2*

После введения крысам-самцам Вистар диабетогенной дозы аллоксана (170 мг/кг массы тела) у 31 % животных выявлен диабетико-уремический синдром с гибелью в течение первых пяти суток после введения препарата; 45 % животных проявили высокую и 34 % – низкую чувствительность к диабетогенному действию аллоксана. После введения крысам диабетогенной дозы стрептозотоцина (50 мг/кг массы тела) гибели животных отмечено не было; 55 % животных проявили высокую и 45 % – низкую чувствительность к диабетогенному действию препарата. Высокочувствительные к действию аллоксана или стрептозотоцина крысы, не смотря на разные механизмы повреждения островкового аппарата поджелудочной железы, однотипны по выраженности изменений гормонально-биохимических показателей через 14–21 сутки после введения препаратов и могут эффективно использоваться для изучения последствий гипoinsулинемии и коррекции гипергликемии различными соединениями.

**Ключевые слова:** аллоксан, стрептозотцин, чувствительность к диабетогенному действию препаратов, гипoinsулинемия, гипергликемия, эндокринно-обменные нарушения.

Для экспериментального моделирования гипергликемии, обусловленной абсолютной недостаточностью инсулина в организме, и других нарушений метаболизма, характерных для сахарного диабета 1 типа, наиболее часто используют разрушение  $\beta$ -клеток островков Лангерганса такими химическими соединениями, как аллоксан и стрептозотцин. Аллоксан (уреид мезоксалево́й кислоты) и стрептозотцин (антибиотик широкого спектра действия) представляют собой структурные аналоги глюкозы, за счет чего они связываются с транспортером глюкозы GLUT2 и избирательно накапливаются в  $\beta$ -клетках поджелудочной железы экспериментальных животных. Основным механизмом деструктивного действия аллоксана является генерация в циклической реакции с диалуроно́вой кислотой активных форм кислорода, которые инициируют разрушение  $\beta$ -клеток, имеющих низкую антиоксидантную защиту [20]. Поражение  $\beta$ -клеток стрептозотцином обусловлено алкилированием ДНК с последующей активацией поли-АДФ-рибозосинтетазы, истощением клеточного пула NAD, что приводит в конечном итоге к некрозу

клеток [27]. Разрушение  $\beta$ -клеток этими соединениями вызывает снижение синтеза и секреции в кровь инсулина, в результате чего у животных развиваются гипергликемия и диабетический синдром, аналогичный инсулинозависимому сахарному диабету 1 типа [1, 20].

В гепатоцитах и клетках почечных канальцев крыс также экспрессируется транспортер глюкозы GLUT2, поэтому введение аллоксана и стрептозотоцина может оказывать токсическое действие на печень и почки [17]. Но гепатоциты крыс обладают более высокой антиоксидантной активностью, чем  $\beta$ -клетки островкового аппарата поджелудочной железы, что уменьшает гепатотоксическое действие аллоксана [27]. Так, было обнаружено, что уже через 2 минуты после введения крысам аллоксана содержание сульфгидрильных групп в печени снижалось, а активность глутатионпероксидазы повышалась [26]. При этом проявления действия аллоксана на клетки печени, обусловленные активацией процессов перекисного окисления липидов, сохраняются даже на отдаленных сроках после введения препарата (до 29 суток) [25]. После введения мышам диабето-

*Пальчикова Н.А. – д.б.н., ведущий научный сотрудник, e-mail: labend@mail.ru*

*Кузнецова Н.В. – научный сотрудник, e-mail: labend@soramn.ru*

*Кузьминова О.И. – к.м.н., старший научный сотрудник, e-mail: labend@soramn.ru*

*Селятицкая В.Г. – д.б.н., проф., зав. лабораторией, e-mail: csem@soramn.ru*

генной дозы стрептозотоцина в гепатоцитах уже в течение первых суток было отмечено снижение содержания NAD [22], однако в последующие дни оно восстанавливалось, поэтому дегенеративные изменения и некроз гепатоцитов, наблюдаемые в более поздние сроки, относят непосредственно к осложнениям экспериментального диабета [15].

Нефротоксическое действие аллоксана на ранних сроках после его введения связано с некрозом отдельных участков извитых канальцев почек. Почечная недостаточность, возникающая у части животных прежде, чем развился сахарный диабет, может стать причиной гибели крыс в первые пять суток после введения диабетогенной дозы аллоксана [1, 18]. В отличие от аллоксана, введение диабетогенной дозы стрептозотоцина не вызывает явных повреждений почек на ранних сроках развития диабета [19].

Сравнительные исследования диабетогенных свойств аллоксана и стрептозотоцина направлены преимущественно на анализ ранних механизмов их цитотоксического действия на уровне островкового аппарата поджелудочной железы [20, 27]. Основные изменения величин показателей метаболизма развиваются на отдаленных сроках после введения этих препаратов (10-е сутки и далее), и именно на этих сроках, как правило, указанные экспериментальные модели используют для изучения особенностей процессов обмена веществ в условиях гипoinsулинемии, механизмов действия разрабатываемых препаратов для лечения диабета и т. д. [2, 10, 29]. Однако сравнительных исследований выраженности нарушений метаболизма на длительных сроках развития аллоксанового и стрептозотоцинового диабета крайне мало, хотя они необходимы для планирования схем экспериментов и решения вопроса о том, какую модель и для решения каких задач следует выбирать.

Целью исследования было проведение анализа специфичности и выраженности гормонально-метаболических нарушений, формирующихся у крыс в динамике развития аллоксанового или стрептозотоцинового диабета.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены 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». В исследовании использовали половозрелых крыс-самцов Вистар (масса тела 180–220 г), которых содержали

в индивидуальных клетках на стандартном рационе вивария со свободным доступом к воде и пище. Экспериментальный диабет вызывали однократным внутривентральным введением крысам раствора аллоксана гидрата (LaChema, Чехия) в 0,4 мл цитратного буфера в дозе 170 мг/кг массы тела ( $n = 46$ ) или раствора стрептозотоцина (Sigma) в 0,4 мл цитратного буфера в дозе 50 мг/кг массы тела после 18-часового голодания ( $n = 33$ ). Ранее было показано, что указанные дозы аллоксана и стрептозотоцина являются диабетогенными [1, 27]. Животным контрольной группы ( $n = 40$ ) вводили аналогичный объем цитратного буфера.

Для оценки суточных величин диуреза и глюкозурии индивидуально у каждой крысы с использованием специально сконструированных мочесборников в динамике эксперимента, начиная уже с первых суток после введения аллоксана или стрептозотоцина, проводили сбор мочи. Крыс выводили из эксперимента декапитацией через 14–21 сутки после введения препаратов (средний срок 17 сут).

Почки, щитовидную железу, надпочечники, забрюшинный и эпидидимальный жир, тимус выделяли, взвешивали и рассчитывали индекс массы (ИМ) как отношение массы органа к 100 г массы тела. Концентрацию глюкозы, холестерина, триглицеридов в сыворотке крови, а также активность трансаминаз и содержание белка в печени определяли с помощью соответствующих диагностических наборов BioCon (Германия).

В сыворотке крови радиоиммунным методом измеряли концентрацию иммунореактивного инсулина (ИРИ), трийодтиронина (Т3), тироксина (Т4) с использованием наборов рию-ИНС-ПГ-125I («ХОПИБОХ НАНБ», Белоруссия); Т4(125J) RIA KIT, Т3(125J) RIA KIT (Institute of Isotopes Co., Ltd., Чехия) соответственно и кортикостерона с использованием (1,2,6,7-<sup>3</sup>H)-Corticosterone (Amersham, Великобритания) и Corticosterone antiserum (Sigma-Aldrich, США).

Данные представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – выборочное среднее,  $m$  – стандартная ошибка. Для множественных сравнений применяли критерий Краскела – Уоллиса, для парных сравнений – критерий Манна – Уитни. Вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при 5 % уровне значимости.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты, полученные нами ранее [8], а также сведения из научной литературы [3, 12, 21] свидетельствуют о том, что при моделировании сахарного диабета 1 типа с использованием ал-

локсана или стрептозотоцина экспериментальные животные – крысы разных линий – проявляют выраженную вариабельность в индивидуальной чувствительности к диабетогенному действию этих цитотоксических аналогов глюкозы. Данный феномен может быть связан с различиями в состоянии окислительно-восстановительного баланса [12, 21], с активностью процессов регенерации островкового аппарата поджелудочной железы, восстановления его структуры и функции [3, 5], со степенью активации глюкокортикоидной функции надпочечников [24] и т. д.

Индивидуальная гетерогенность животных по реакции на введение аллоксана проявилась уже в течение нескольких суток после введения препарата. Так, за пять первых суток на фоне постепенного отказа от потребления воды и прекращения экскреции мочи погибли 31 % крыс, что позволяет охарактеризовать этот период как острую фазу заболевания. Подобная форма реакции на введение аллоксана В.Г. Барановым с соавторами в книге «Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии» [1] была описана как диабетико-уремический синдром.

После введения стрептозотоцина гибели экспериментальных животных в первые дни отмечено не было. Этот факт согласуется со сведениями из научной литературы о постепенно накапливаемом токсическом эффекте стрептозотоцина на  $\beta$ -клетки поджелудочной железы, его менее выраженном, чем после введения аллоксана, действии на печень и отсутствии эффектов на почки экспериментальных животных [19, 20].

Крысы, у которых после введения аллоксана величина диуреза не снижалась, а, наоборот, повышалась, а также все животные, которым вводили стрептозотин, при анализе динамики величины диуреза были разделены на две группы – с низкой и высокой чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана (АлН и АлВ соответственно) или стрептозотоцина (СтН и СтВ соответственно). К группам с низкой чувствительностью отнесли животных, у которых величина диуреза повышалась в течение вторых – седьмых суток после введения препаратов относительно величины соответствующего показателя у контрольных крыс в 2–3 раза, а в последующие сутки начинала снижаться. К группам с высокой чувствительностью отнесли животных, у которых величина диуреза уже со вторых суток после введения препарата превышала контрольную величину более чем в пять раз и в дальнейшем продолжала увеличиваться (табл. 1). В итоге соотношение крыс с диабетико-уремическим синдромом, высокой и низкой чувствительностью к аллоксану составило 31, 45 и 24 % соответственно. У крыс после введения стрептозотоцина такое соотношение было 0, 55 и 45 % соответственно.

Величина глюкозурии у всех животных резко повышалась уже в первые сутки после введения диабетогенных препаратов, но если у крыс из группы АлН в последующем она снижалась, то у крыс из групп АлВ, СтВ и СтН оставалась стабильно высокой. Однако в группе СтН величина глюкозурии была в 3 раза ниже, чем в группе СтВ (см. табл. 1).

Таблица 1

Динамика суточного диуреза и глюкозурии у крыс с разной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана или стрептозотоцина ( $M \pm m$ )

Показатель	Контрольные крысы, $n = 40$	Срок после введения аллоксана или стрептозотоцина, сут	Крысы после введения аллоксана, $n = 32$		Крысы после введения стрептозотоцина, $n = 33$	
			Низкочувствительные (АлН), $n = 11$	Высокочувствительные (АлВ), $n = 21$	Низкочувствительные (СтН), $n = 15$	Высокочувствительные (СтВ), $n = 18$
Диурез, мл/сут	$10 \pm 1$	1 (18 ч)	$13 \pm 4$	$32 \pm 9^{*}\#$	$15 \pm 2$	$26 \pm 3^{*}\#$
		2	$20 \pm 6$	$61 \pm 6^{*}\#$	$20 \pm 4$	$69 \pm 4^{*}\#$
		5	$23 \pm 8$	$100 \pm 8^{*}\#$	$28 \pm 6^{*}$	$96 \pm 3^{*}\#$
		7	$20 \pm 5$	$87 \pm 8^{*}\#$	$32 \pm 6^{*}$	$94 \pm 3^{*}\#$
		14	$14 \pm 3$	$107 \pm 14^{*}\#$	$24 \pm 7$	$93 \pm 6^{*}\#$
Глюкозурия, г/сут	$0,002 \pm 0,001$	1	$0,16 \pm 0,10^{*}$	$0,36 \pm 0,19^{*}$	$0,19 \pm 0,05^{*}$	$0,62 \pm 0,17^{*}\#$
		2	$2,20 \pm 1,11^{*}$	$3,59 \pm 1,18^{*}$	$1,99 \pm 0,66^{*}$	$9,58 \pm 1,29^{*}\#^{\wedge}$
		5	$1,24 \pm 0,72^{*}$	$5,37 \pm 1,01^{*}\#$	$2,87 \pm 0,96^{*}$	$9,69 \pm 0,77^{*}\#^{\wedge}$
		7	$0,81 \pm 0,50^{*}$	$10,68 \pm 2,21^{*}\#$	$3,21 \pm 1,05^{*}\#^{\wedge}$	$9,21 \pm 0,72^{*}\#$
		14	$0,10 \pm 0,08^{*}$	$9,27 \pm 0,94^{*}\#$	$3,21 \pm 1,2^{*}\#^{\wedge}$	$10,97 \pm 1,34^{*}\#$

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3 отличия статистически значимы ( $p < 0,05$ ) от величины соответствующего показателя: \* – у контрольных крыс, # – у низкочувствительных крыс, ^ – у крыс после введения аллоксана при соответствующем сроке.

В сыворотке крови крыс групп АлН и СтН, взятой из шейных вен при декапитации животных, содержание глюкозы было менее 12 ммоль/л, а у крыс из групп АлВ и СтВ – более 12 ммоль/л (табл. 2). Хотя концентрация глюкозы в сыворотке крови крыс из групп АлВ и СтВ превышала контрольную величину более чем в 4 раза, у крыс из групп АлН и СтН – только в 1,3 раза, уровень ИРИ в сыворотке крови всех опытных крыс достоверно снизился относительно контрольных величин. Крысы из групп АлН и АлВ не разли-

чались по содержанию ИРИ, а у крыс из группы СтВ оно было в 1,6 раза ниже, чем у крыс СтН (см. табл. 2).

Увеличение концентрации триглицеридов и холестерина в сыворотке крови (см. табл. 2), снижение ИМ жировых депо (табл. 3) у крыс из групп АлВ и СтВ более выраженное, чем у крыс из групп АлН и СтН, соответствует нарушениям метаболизма, наблюдаемым при недостаточности инсулина в организме, и аналогично сведениям, изложенным в научной литературе [10, 11, 15, 29].

Таблица 2

Гормонально-биохимические показатели сыворотки крови крыс с разной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана или стрептозотоцина ( $M \pm m$ )

Показатель (содержание)	Контрольные крысы, $n = 40$	Крысы после введения аллоксана, $n = 32$		Крысы после введения стрептозотоцина, $n = 33$	
		Низкочувствительные (АлН), $n = 11$	Высокочувствительные (АлВ), $n = 21$	Низкочувствительные (СтН), $n = 15$	Высокочувствительные (СтВ), $n = 18$
Глюкоза, ммоль/л	6,4 ± 0,1	8,6 ± 0,7*	27,5 ± 2,6*#	8,7 ± 0,4*	30,6 ± 1,1*#
Иммунореактивный инсулин, пмоль/л	130,2 ± 8,9	60,8 ± 3,7*	53,3 ± 7,7*	76,12 ± 17,6*	47,02 ± 6,7*
Кортикостерон, нмоль/л	133,7 ± 29,6	212,6 ± 30,1	306,2 ± 23,6*#	150,8 ± 21,5	213,2 ± 25,9*#^
Трийодтиронин, нмоль/л	1,86 ± 0,07	1,95 ± 0,14	1,54 ± 0,11*	1,99 ± 0,23	1,84 ± 0,17
Тироксин, нмоль/л	70,8 ± 2,6	88,6 ± 7,6	84,7 ± 7,1	97,7 ± 10,9*	107,8 ± 16,2*
Холестерин, ммоль/л	1,97 ± 0,10	2,33 ± 0,20	2,59 ± 0,16*	2,26 ± 0,10	2,37 ± 0,11*
Триглицериды, ммоль/л	1,15 ± 0,09	1,66 ± 0,20	1,58 ± 0,17*	1,62 ± 0,20	2,23 ± 0,54*

Таблица 3

Индекс массы органов и желез внутренней секреции, активность трансаминаз в печени крыс с разной чувствительностью к диабетогенному действию аллоксана или стрептозотоцина ( $M \pm m$ )

Показатель	Контрольные крысы, $n = 40$	Крысы после введения аллоксана, $n = 32$		Крысы после введения стрептозотоцина, $n = 33$	
		Низкочувствительные (АлН), $n = 11$	Высокочувствительные (АлВ), $n = 21$	Низкочувствительные (СтН), $n = 15$	Высокочувствительные (СтВ), $n = 18$
ИМ почек, г/100 г массы тела	0,59 ± 0,02	0,66 ± 0,02*	1,06 ± 0,06*#	0,71 ± 0,03*	0,99 ± 0,03*#
ИМ жировых депо, г/100 г массы тела	2,50 ± 0,13	1,95 ± 0,17*	0,68 ± 0,15*#	2,09 ± 0,28*	0,81 ± 0,14*#
ИМ тимуса, г/100 г массы тела	0,16 ± 0,01	0,15 ± 0,02	0,10 ± 0,01*#	0,16 ± 0,01	0,13 ± 0,03
ИМ надпочечников, мг/100 г массы тела	14,8 ± 0,5	17,8 ± 0,8*	23,8 ± 1,3*#	18,12 ± 1,1*	21,4 ± 0,6*#
ИМ щитовидной железы, мг/100 г массы тела	5,05 ± 0,22	4,59 ± 0,33	5,96 ± 0,39*#	6,25 ± 0,44*	6,59 ± 0,28*
Активность аланин-аминотрансферазы, Ед/г белка	257,0 ± 14,5	197,9 ± 17,6	481,5 ± 49,6*#	244,4 ± 34,1	485,0 ± 41,3*#
Активность аспаргатаминотрансферазы, Ед/г белка	476,8 ± 23,8	587,4 ± 59,7	786,0 ± 70,1*#	673,8 ± 62,6	993,8 ± 81,2*#

У крыс из групп АлВ и СтВ выявлено повышение величины ИМ надпочечников (см. табл. 3) и содержания кортикостерона в сыворотке крови (см. табл. 2), что ассоциировано с увеличением активности аминотрансфераз в печени и снижением ИМ тимуса по сравнению с величинами соответствующих показателей у контрольных крыс. У крыс из групп АлН и СтН отмечены аналогичные сдвиги изучаемых показателей, однако они выражены в меньшей степени, чем у высокочувствительных крыс. Полученные результаты согласуются со сведениями из научной литературы о повышении концентрации глюкокортикоидов в сыворотке крови и активности трансаминаз в печени экспериментальных животных с диабетом [16, 23, 28].

Также были выявлены изменения показателей функционального состояния щитовидной железы у крыс после введения им аллоксана или стрептозотоцина, которые были более выражены после введения крысам стрептозотоцина, чем аллоксана, и также были выше у крыс из группы СтВ, чем из группы СтН (см. табл. 2 и 3).

Следует отметить, что выведение большого количества жидкости было сопряжено с физиологическим увеличением относительной массы почек крыс, выраженность которого после введения диабетогенных препаратов также зависела от степени гипергликемии и не различалась у крыс АлВ – СтВ и АлН – СтН (см. табл. 3).

Таким образом, полученные результаты позволяют говорить о том, что высокочувствительные к действию аллоксана или стрептозотоцина крысы, несмотря на разные механизмы повреждения островкового аппарата поджелудочной железы, однотипны по выраженности изменений изученных гормонально-биохимических показателей через 14–21 дней после введения диабетогенных препаратов. Следовательно, такие крысы могут быть эффективно использованы для изучения последствий гипoinsулинемии и коррекции гипергликемии различными соединениями.

Крысы, низкочувствительные к диабетогенному действию аллоксана или стрептозотоцина, существенно различаются по динамике развития патологического состояния. Одинаково низкий уровень ИРИ у крыс из групп АлН и АлВ указывает на равновеликое поражение островкового аппарата поджелудочной железы. Рост глюкозурии у крыс АлН и АлВ в первые – вторые сутки после введения препарата свидетельствует об эффективной работе почек по выведению избыточной глюкозы, однако после пятых – седьмых суток у крыс АлН значительно снижается глюкозурия, что не сопровождается выраженным подъемом содержания глюкозы в сыворотке кро-

ви. Можно предположить, что у этих животных в меньшей степени активируются процессы глюконеогенеза в печени и почках после введения аллоксана и снижения уровня инсулина в крови [4]. Поскольку активность процессов глюконеогенеза в печени находится под контролирующим влиянием глюкокортикоидных гормонов, нами ранее было высказано предположение о меньшей реактивности адренкортикальной системы на гипoinsулинемию у низкочувствительных к аллоксану крыс [9, 24].

Низкочувствительные к действию стрептозотоцина крысы имеют уровень ИРИ в сыворотке крови выше, чем высокочувствительные крысы (см. табл. 2). Это позволяет говорить о меньшем поражении у них островкового аппарата поджелудочной железы, что и может определять менее выраженные изменения гормонально-биохимических показателей по сравнению с высокочувствительными к действию стрептозотоцина крысами.

Использование диабетогенных препаратов аллоксана и стрептозотоцина в исследованиях весьма широко. Так, например, только за последние два десятилетия количество публикаций из базы PubMed с указанием на применение аллоксана и стрептозотоцина составило 2203 и 14 819 соответственно. Это доказывает, что гипергликемию и экспериментальный диабет активно моделируют с помощью обоих препаратов, однако число работ, в которых применяли стрептозототин, в несколько раз больше, чем работ с использованием аллоксана. Это можно объяснить, по крайней мере частично, желанием исследователей избежать возможного токсического действия аллоксана на почки и печень, а также разработкой разнообразных схем введения стрептозотоцина, позволяющих, например, дополнительно вовлекать в развитие диабетического синдрома иммунную систему или моделировать диабет типа 2 [13, 14].

Полученные нами результаты указывают на возможность использования аллоксановой модели для определения антиоксидантных свойств различных препаратов, для оценки на уровне организма резистентности к индукции окислительного стресса и исследования способов ее модуляции различными соединениями. Так, ранее нами было выявлено, что внутрибрюшинное введение эмульсии перфторана здоровым животным повышает в последующем их чувствительность к токсическому действию аллоксана [6]. Добавление в корм сухого концентрата топинамбура в течение двух недель до введения аллоксана приводит к снижению в 1,7 раза гибели животных в острую фазу заболевания [7]. Другими исследователями

было показано снижение процента летальности животных после введения аллоксана крысам, сохранившимся на высокобелковом рационе [2].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные результаты позволяют заключить, что гормонально-биохимические изменения, включая выраженность гипoinsулинемии и гипергликемии, одинаковы у высокочувствительных к действию аллоксана или стрептозотоцина крыс, что позволяет использовать обе эти модели экспериментального диабета для исследования механизмов развивающихся при гипoinsулинемии нарушений метаболизма и их нивелирования различными соединениями. Однако для корректной постановки эксперимента необходима предварительная прижизненная оценка индивидуальной чувствительности животных к диабетогенному действию использованного препарата по величине диуреза и уровню глюкозурии. Определение индивидуальной гетерогенности животных, с одной стороны, усложняет проведение эксперимента, но с другой стороны – позволяет получать, особенно при использовании аллоксана, много дополнительной информации, например, в сравнительных исследованиях разных линий лабораторных животных, при модификации свойств живых организмов различными воздействиями физической, химической и биологической природы и т.д.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баранов В.Г., Соколова И.М., Гаспарян Э.Г. и др. Экспериментальный сахарный диабет. Роль в клинической диабетологии. Л.: Наука, 1983. 240 с.
2. Древалъ А.В., Садыкова Р.Е., Мазо В.К. Влияние несбалансированности пищевого рациона на индуцирование и течение аллоксанового сахарного диабета у крыс // Пробл. эндокринологии. 1991. 37. (6). 56–58.
3. Закирьянов А.Р., Плахотный М.А., Онищенко Н.А. и др. Диабетические осложнения у крыс при длительных сроках моделирования сахарного диабета 1-го типа // Патол. физиол. эксперим. терапии. 2007. (4). 21–25.
4. Кендыш И.Н. Регуляция углеводного обмена. М.: Медицина, 1985. 272 с.
5. Обухова Л.А., Дружинина Ю.Г., Пальчикова Н.А. и др. Влияние длительного приема пробиотика на морфофункциональное состояние эндокринной части поджелудочной железы у экспериментальных животных с аллоксановым диабетом // Бюл. СО РАМН. 2006. (2). 171–175.
6. Пальчикова Н.А., Кузьминова О.И., Селятицкая В.Г. Влияние перфторана на чувствительность животных к диабетогенному действию аллоксана и течение экспериментального диабета // Там же. 2006. (3). 113–116.
7. Пальчикова Н.А., Лутов Ю.В., Обухова Л.А., Селятицкая В.Г. Особенности течения экспериментального сахарного диабета при введении в рацион животных природного инсулинового комплекса // Там же. 2007. (2). 114–118.
8. Пальчикова Н.А., Селятицкая В.Г., Шорин Ю.П. Количественная оценка чувствительности экспериментальных животных к диабетогенному действию аллоксана // Пробл. эндокринологии. 1987. 33. (4). 65–68.
9. Селятицкая В.Г., Пальчикова Н.А., Кузнецова Н.В. и др. Активность адренкортикальной системы у крыс с высокой и низкой устойчивостью к диабетогенному действию аллоксана // Фундаментальные исследования. 2011. (3). 142–148.
10. Смирнов Л.Д., Инчина В.И., Костин Я.В. и др. Возможности фармакологической коррекции метаболических нарушений при экспериментальном диабете препаратами антиоксидантного типа действия // Биомед. химия. 2004. 50. (3). 502–508.
11. Baydas B., Karagoz S., Meral I. Effects of oral zinc and magnesium supplementation on serum thyroid hormone and lipid levels in experimentally induced diabetic rats // Biol. Trace Elem. Res. 2002. 88. (3). 247–253.
12. Behr G.A., da Silva E.G., Romanelli A. et al. Pancreas b-cells morphology, liver antioxidant enzymes and liver oxidative parameters in alloxan-resistant and alloxan-susceptible Wistar rats: a viable model system for the study of concepts into reactive oxygen species // Fundam. Clin. Pharmacol. 2008. 22. 657–666.
13. Briede J., Stivrina M., Stoldere Dz. et al. Effect of cerebrocrast, a new long-acting compound on blood glucose and insulin levels in rats when administered before and after STZ-induced diabetes mellitus // Cell Biochem. Funct. 2007. 25. (6). 673–680.
14. Chatzigeorgiou A., Halapas A., Kalafatakis K., Kamper E. The use of animal models in the study of diabetes mellitus // In Vivo. 2009. 23. (2). 245–258.
15. Celik S., Erdogan S., Tuzcu M. Caffeic acid phenethyl ester (CAPE) exhibits significant potential as an antidiabetic and liver-protective agent in streptozotocin-induced diabetic rats // Pharmacol. Res. 2009. 60. (4). 270–276.
16. Chan O., Inouye K., Vranic M. et al. Hypereactivation of the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in streptozotocin-diabetes is associated with reduced stress responsiveness and decreased pituitary and adrenal sensitivity // Endocrinology. 2002. 143. (5). 1761–1768.
17. Elsner M., Tiedge M., Guldbakke B. et al. Importance of the GLUT2 glucose transporter for

pancreatic beta cell toxicity of alloxan // *Diabetologia*. 2002. 45. (11). 1542–1549.

18. *Evan A.P., Mong S.A., Connors B.A. et al.* The effect of alloxan, and alloxan-induced diabetes on the kidney // *Anat. Rec.* 1984. 208. (1). 33–47.

19. *Evan A.P., Mong S.A., Connors B.A. et al.* The effect of streptozotocin and streptozotocin-induced diabetes on the kidney // *Ren. Physiol.* 1984. 7. (2). 78–89.

20. *Lenzen S.* The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced diabetes // *Diabetologia*. 2008. 51. 216 – 226.

21. *Mathews C.E., Leite E.H.* Constitutive differences in antioxidant defense status distinguish alloxan-resistant and alloxan-susceptible mice // *Free Radic. Biol. Med.* 1999. 27. (3–4). 449–455.

22. *Schein P.S., Loftus S.* Streptozotocin: Depression of mouse liver pyridine nucleotides // *Cancer Res.* 1968. 28. 1501–1506.

23. *Selyatitskaya V.G., Cherkasova O.P., Pankina T.V., Palchikova N.A.* Functional state of adrenocortical system in rats with manifest alloxan-induced diabetes mellitus // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2008. 146. (6). 708–710.

24. *Selyatitskaya V.G., Palchikova N.A., Kuznetsova N.V.* Adrenocortical system activity in alloxan-resistant and alloxan-susceptible Wistar rats // *J. Diabetes Mellit.* 2012. 2. (2). 165–169.

25. *Shkurupiy V.A., Palchikova N.A., Selyatitskaya V.G. et al.* Silica inflammation modulate lipoperoxide and thiobarbituric acid reactive substances levels in liver and glucose concentration in blood of alloxan diabetic rats // *Mod. Res. Inflamm.* 2012. 1. (2). 19–25.

26. *Szkudelski T., Kandulska K., Okulicz M.* Alloxan *in vivo* does not only exert deleterious effects on pancreatic B cells // *Physiol. Res.* 1998. 47. (5). 343–346.

27. *Szkudelski T.* The Mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas // *Ibid.* 2001. 50. (6). 536–546.

28. *Tanaka K., Nanbara S., Tanaka T. et al.* Aminotransferase activity in the liver of diabetic mice // *Diabetes Res. Clin. Pract.* 1988. 5. (1). 71–75.

29. *Tavangar K., Murata Y., Pedersen M.E. et al.* Regulation of lipoprotein lipase in the diabetic rat // *J. Clin. Invest.* 1992. 90. (5). 1672–1678.

## HORMONAL AND BIOCHEMICAL FEATURES OF ALLOXAN AND STREPTOZOTOCIN-INDUCED MODELS OF EXPERIMENTAL DIABETES

Nataliya Aleksandrovna PALCHIKOVA, Nataliya Vladimirovna KUZNETSOVA,  
Olga Ivanovna KUZMINOVA, Vera Georgievna SELYATITSKAYA

*Scientific Centre of Clinical and Experimental Medicine of SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

The diabetic uremic syndrome with death within the first five days after drug administration has been revealed in 31 % of animals after administration to male Wistar rats diabetogenic dose of alloxan (170 mg / kg body weight); 45 % of the animals demonstrated high sensitivity and 34 % – low sensitivity to diabetogenic action of the drug. The animal deaths have not been observed after administration to rats diabetogenic dose of streptozotocin (50 mg/kg body weight); 55 % of the animals demonstrated high sensitivity and 45 % – low sensitivity to the diabetogenic effects of the drug. Highly-sensitive to the action of alloxan or streptozotocin rats, despite the different mechanisms of injury insular apparatus of the pancreas are similar by intensity of the changes of hormonal and biochemical parameters in 14–21 days after drug administration and can be effectively used to study the effects of hypoinsulinemia and correction of hyperglycemia with various drugs.

**Key words:** alloxan, streptozotocin, sensitivity to diabetogenic action of drugs, hypoinsulinemia, hyperglycemia, endocrine and metabolic disorders.

*Palchikova N.A.* – doctor of biological sciences, leading researcher, e-mail: labend@mail.ru

*Kuznetsova N.V.* – researcher, e-mail: labend@soramn.ru

*Kuzminova O.I.* – candidate of medical sciences, senior researcher, e-mail: labend@soramn.ru

*Selyatitskaya V.G.* – doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory, e-mail: ccem@soramn.ru

## ГИСТОХИМИЧЕСКОЕ И ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО МАТРИКСА ФИБРОЗНОГО КОЛЬЦА МЕЖПОЗВОНКОВЫХ ДИСКОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ СТАФИЛОКОККОВОЙ ИНФЕКЦИИ

Игорь Павлович ЖУРАКОВСКИЙ, Сергей Алексеевич АРХИПОВ,  
Мария Геннадьевна ПУСТОВЕТОВА, Ирина Александровна ГОЛУБЕВА,  
Игорь Олегович МАРИНКИН, Павел Александрович ЕЛЯСИН

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

Цель исследования – изучить изменения внеклеточного матрикса фиброзного кольца межпозвонковых дисков при моделировании стафилококковой инфекции. Исследованы 18 крыс-самцов Wistar с остеомиелитом большеберцовой кости и 6 контрольных животных, гистохимия и иммуногистохимия с автоматическим анализом изображения волокнистого хряща через 1, 2 и 3 месяца после развития остеомиелита. Выявлена перестройка внеклеточного матрикса фиброзного кольца при длительной стафилококковой инфекции, что является отражением происходящих дегенеративных изменений в межпозвонковых дисках.

**Ключевые слова:** межпозвонковый диск, фиброзное кольцо, *Staphylococcus aureus*, экстрацеллюлярный матрикс, гистохимия, иммуногистохимия.

Стафилококковая инфекция на протяжении более 50 лет является одной из наиболее важных проблем медицинской науки. Метициллин-устойчивые штаммы *Staphylococcus aureus* служат одной из основных причин заболеваемости и смертности во многих странах мира [3, 5]. Выраженным проявлениям инфекционного процесса, вызванного стафилококками, уделяется пристальное внимание. Вместе с тем, хотя минорные проявления взаимодействия макро- и микроорганизмов не менее значимы, они еще недостаточно изучены. Длительное существование фокальной персистирующей инфекции вызывает определенное изменение функционирования основных гомеостатических систем и, как следствие, структурную перестройку органов и тканей. Важно отметить, что патологические изменения в межпозвонковых дисках могут служить одним из проявлений синдрома дистрофически-дегенеративных изменений мезенхимальных производных при локальном хроническом воспалительном процессе [1]. При этом в качестве фактора, инициирующего и поддерживающего развитие дистрофически-дегенеративных изменений в

межпозвонковых дисках, отмечают отдельные провоспалительные цитокины [7; 8]. Вместе с тем вопрос о роли бактериальной инфекции, при которой неизбежно возникают нарушения баланса противо- и провоспалительных цитокинов, в этиопатогенезе поражения волокнистого хряща остается дискуссионным.

Особого внимания при формировании дистрофически-дегенеративных изменений межпозвонковых дисков заслуживает проблема изменения компонентов внеклеточного матрикса, а следовательно, и условий транспортировки водных растворов в межклеточном веществе при различных патологических процессах, в том числе и при фокальной персистирующей инфекции. Это обусловлено тем, что данный аспект проблемы связан с дальнейшей разработкой учения о гомеостазе, а именно: насколько прочны механизмы, лежащие в его основе, как долго они могут выдерживать высокие нагрузки при длительных патогенных воздействиях. Необходимость интенсивных разработок в этой области диктуется прежде всего тем, что она теснейшим образом связана и в значительной мере определяет решение

*Жураковский И.П.* – к.м.н., старший научный сотрудник ЦНИЛ, e-mail: murash2003@yandex.ru

*Архипов С.А.* – д.б.н., старший научный сотрудник ЦНИЛ

*Пустоветова М.Г.* – д.м.н., проф., зав. ЦНИЛ

*Голубева И.А.* – д.м.н., проф. кафедры анатомии

*Маринкин И.О.* – д.м.н., проф., ректор

*Елясин П.А.* – к.м.н., доцент кафедры анатомии

таких важных проблем клинической медицины, как компенсация нарушенных функций и выздоровление.

Цель работы – выявить гистохимические и иммуногистохимические изменения внеклеточного матрикса межпозвоночных дисков в условиях моделирования стафилококковой инфекции.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на 24 половозрелых крысах-самцах Вистар с массой тела 180–220 г. У 18 животных под общим ингаляционным наркозом выполнена трепанация большеберцовой кости с последующим тампонирующим отверстием хлопчатобумажной нитью, находившейся 30 минут в смыве суточной культуры *S. aureus* (штамм 209). Предварительное исследование позволило установить, что при подобной обработке нити на ней содержится  $1 \times 10^7$  колониеобразующих единиц. В последующем у всех прооперированных крыс развивался остеомиелит большеберцовой кости, что подтверждалось результатами морфологического исследования [10]. Животных выводили из эксперимента декапитацией под эфирным наркозом через 1, 2 и 3 мес с момента воспроизведения модели. В качестве контроля использовали 6 интактных животных. Эксперимент выполняли с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации по защите позвоночных животных, используемых для лабораторных и иных целей.

Для исключения влияния неоптимального двигательного стереотипа, развивавшегося вследствие травмирования большеберцовой кости и формирования остеомиелита, исследованию подвергались межпозвоночные диски хвостового отдела позвоночника, которые фиксировали в 12 % формалине и жидкости Теллесницкого. Во избежание деформации и повреждения фиброзных колец межпозвоночных дисков удаление одного из тел позвонков выполнялось во время проводки по батарее спиртов с возрастающей концентрацией перед помещением объекта в абсолютный спирт. Тело другого позвонка сохранялось. В дальнейшем материал заливался в парафин по общепринятой методике. Парафиновые срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином Эрлиха и эозином; коллагеновые волокна выявляли пикрофуксином по ван Гизону, сульфатированные гликозаминогликаны – альциановым синим (рН 1,0), нейтральные гликопротеины – с помощью PAS-реакции по McManus.

Для уточнения характера изменений внеклеточного матрикса межпозвоночных дисков

использовали двухэтапный иммуногистохимический метод с первичными антителами, производимыми компанией Santa Cruz: к коллагену I (goat polyclonal – IgG, титр 1:100; COL1A1 (D-13): sc-25974, Lot #CO712), коллагену II (mouse monoclonal – IgG2b, титр 1:50; COL2A1 (M2193): sc-52658, Lot #B2312), фибронектину (mouse monoclonal – IgG1, титр 1:100; Fibronectin (IST-9): sc-59826, Lot #L1510), фибулину 2 (rabbit polyclonal – IgG, титр 1:100; Fibulin-2 (H-250): sc-30176, Lot #HO111), матрилину 2 (rabbit polyclonal – IgG, титр 1:100; Matrilin-2 (H-65): sc-66959, Lot #AO108). При использовании в работе козьих первичных антител применяли систему визуализации «ABC Staining System» (Santa Cruz: sc-2023, Lot #E2212), включающей в свой состав антикозьи ослиные биотинилированные антитела, согласно прилагаемому к набору протоколу иммуногистохимической окраски. При использовании в работе мышинных и кроличьих первичных антител применяли систему визуализации «Novocastra (250)» (Leica: RE7110-K, Lot #6005382), включающей в свой состав смесь антимишинных и антикроличьих лошадиных биотинилированных антител, согласно прилагаемому к набору протоколу иммуногистохимической окраски. При проведении всех иммуногистохимических реакций проводили «отрицательные контроли», заменяя инкубацию с первичными антителами на инкубацию с неиммунными сыворотками соответствующих животных. Все результаты реакций соответствующих «отрицательных контролей» были отрицательными.

В фиброзных кольцах межпозвоночных дисков условно выделяли три зоны: наружную (в пределах 3–4 наружных пластин), внутреннюю (3–4 пластин, примыкающие к пульпозному ядру) и промежуточную или центральную (располагающуюся между двумя предыдущими). С использованием системы анализа изображений на базе микроскопа Micros MC 300A, цифровой камеры CX 13c (Baumer Optronic GmbH, Германия) и программного обеспечения ImageJ 1.42g (Национальный институт здоровья, США) определяли площадь положительно окрашенных участков для каждого изучаемого компонента внеклеточного матрикса, интенсивность окрашивания и их тинкториальные свойства. Дополнительно рассчитывали относительную площадь и относительное содержание изучаемых компонентов внеклеточного матрикса. Для экспериментальных и контрольной групп оценивали по 48 изображений промежуточной зоны фиброзного кольца для каждого типа окрашивания, площадь одного изображения составляла 21455 мкм<sup>2</sup>.

При выполнении статистического анализа полученных данных вычисляли среднее арифметическое значение ( $M$ ) и его ошибку ( $m$ ), результаты представляли в виде  $M \pm m$ . Различия между группами оценивали с помощью критерия Крускала – Уоллиса с последующим межгрупповым сравнением с помощью критерия Манна – Уитни, статистически значимыми считали значения при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При гистохимическом исследовании через 1 мес. после инокуляции *S. aureus* в наружных пластинах фиброзного кольца межпозвонковых дисков определялись участки межклеточного вещества со сниженным количеством сульфатированных гликозаминогликанов. В этих случаях при окраске ализциановым синим при pH 1,0 с последующей докраской ядер кармалюмом Майера сульфатированные гликозаминогликаны выявлялись в непосредственной близости от хондробластов. По мере отдаления от клеточных элементов наблюдалось прогрессирующее снижение интенсивности бирюзовой окраски и появление сродства межклеточного матрикса к дающему розовое окрашивание кармалюму Майера.

Результаты морфометрического анализа показателей, характеризующих изменения внеклеточного матрикса межпозвонковых дисков на сре-

зах, окрашенных гистохимическими методами выявления коллагеновых волокон, нейтральных гликопротеинов и сульфатированных гликозаминогликанов, отражены в табл. 1. Достаточно показательно, что уже через 1 мес. после создания очага стафилококковой инфекции в большеберцовой кости исследование компонентов экстрацеллюлярного матрикса фиброзного кольца межпозвонковых дисков позволило выявить статистически значимые изменения интенсивности окрашивания и относительного содержания сульфатированных гликозаминогликанов. Кроме того, отмечалось статистически значимое уменьшение относительного содержания коллагеновых волокон, а также изменение тинкториальных свойств нейтральных гликопротеинов. Это свидетельствует о том, что уже на ранних этапах течения стафилококковой инфекции происходит изменение соотношения различных компонентов внеклеточного матрикса, образующих вязкоупругий каркас фиброзного кольца межпозвонковых дисков. Данные наблюдения согласуются с работами [2, 4], указывающими, что изменения гликозаминогликанов, входящих в состав протеогликанов фиброзного кольца, являются наиболее постоянным признаком дистрофически-дегенеративных изменений межпозвонковых дисков.

Необходимо отметить, что изменение тинкториальных свойств нейтральных гликопротеинов через 1 мес. после воспроизведения стафилокок-

Таблица 1

Морфометрические показатели внеклеточного матрикса межпозвонковых дисков в динамике стафилококковой инфекции, выявленные с помощью гистохимических методов окраски ( $M \pm m$ )

Показатель	Интактные животные	Воспаление		
		1 мес.	2 мес.	3 мес.
Коллагеновые волокна				
Относительная площадь, %	78,55 ± 1,06	75,84 ± 0,82	73,61 ± 0,70*	66,73 ± 1,08*
Интенсивность окрашивания, у. е.	90,29 ± 1,17	85,53 ± 1,88	84,39 ± 1,60*	80,95 ± 2,39*
Относительное содержание, у. е.	7094,7 ± 130,4	6451,2 ± 128,3*	6209,9 ± 131,0*	5337,1 ± 138,1*
Red-составляющая, у. е.	187,91 ± 1,03	187,38 ± 0,94	173,63 ± 0,95*	151,21 ± 1,01*
Нейтральные гликопротеины				
Относительная площадь, %	63,38 ± 1,31	64,82 ± 1,31	68,94 ± 0,93*	73,04 ± 0,91*
Интенсивность окрашивания, у. е.	16,02 ± 1,10	15,63 ± 0,65	19,31 ± 0,87*	23,85 ± 2,69
Относительное содержание, у. е.	1042,6 ± 79,3	1013,1 ± 45,5	1332,6 ± 63,5*	1785,6 ± 206,9*
Red-составляющая, у. е.	195,43 ± 1,85	188,15 ± 0,97*	184,44 ± 1,12*	169,16 ± 2,35*
Сульфатированные гликозаминогликаны				
Относительная площадь, %	81,73 ± 1,17	81,19 ± 0,90	63,48 ± 1,57*	40,01 ± 2,32*
Интенсивность окрашивания, у. е.	63,95 ± 2,26	49,67 ± 2,85*	43,79 ± 2,49*	27,55 ± 1,52*
Относительное содержание, у. е.	5208,1 ± 184,4	4074,9 ± 233,4*	2766,5 ± 171,4*	1069,5 ± 79,7*
Blue-составляющая, у. е.	187,38 ± 0,94	181,87 ± 1,82	178,97 ± 1,22*	151,90 ± 1,07*

Примечание. Здесь и в табл. 2 \* – отличие от величины соответствующего показателя у интактных животных статистически значимо при 95%-м уровне значимости ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2

Морфометрические показатели внеклеточного матрикса межпозвонковых дисков в динамике стафилококковой инфекции, выявленные с помощью иммуногистохимического метода ( $M \pm m$ )

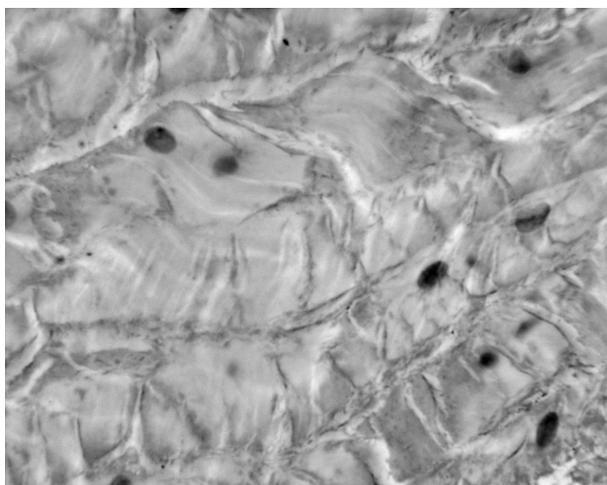
Показатель	Интактные животные	Воспаление		
		1 мес.	2 мес.	3 мес.
Коллагеновые волокна I типа				
Относительная площадь, %	80,09 ± 0,63	84,12 ± 0,74*	88,16 ± 0,54*	76,79 ± 1,65
Интенсивность окрашивания, у. е.	28,38 ± 1,34	26,63 ± 1,57	7,84 ± 0,49*	22,48 ± 1,33*
Относительное содержание, у. е.	2264,5 ± 103,1	2230,0 ± 131,9	690,7 ± 43,6*	1663,6 ± 83,6*
Коллагеновые волокна II типа				
Относительная площадь, %	89,32 ± 1,24	67,10 ± 0,83*	65,26 ± 0,99*	77,34 ± 0,80*
Интенсивность окрашивания, у. е.	8,69 ± 0,88	50,70 ± 0,67*	54,57 ± 0,88*	51,27 ± 0,57*
Относительное содержание, у. е.	788,1 ± 82,8	3399,0 ± 58,8*	3547,9 ± 65,7*	3976,8 ± 72,8*
Фибронектин				
Относительная площадь, %	73,11 ± 0,81	78,70 ± 0,69*	72,24 ± 0,90	65,56 ± 0,81*
Интенсивность окрашивания, у. е.	38,09 ± 1,52	42,13 ± 1,37	17,18 ± 0,75*	17,03 ± 1,27*
Относительное содержание, у. е.	2805,6 ± 127,0	3298,9 ± 102,4*	1247,2 ± 58,5*	1130,1 ± 85,4*
Фибулин 2				
Относительная площадь, %	67,02 ± 1,11	67,75 ± 1,11	83,22 ± 0,92*	82,20 ± 1,08*
Интенсивность окрашивания, у. е.	21,60 ± 1,14	34,06 ± 1,14	54,63 ± 1,61*	77,34 ± 1,41*
Относительное содержание, у. е.	1442,0 ± 80,5	2301,9 ± 85,0*	4522,6 ± 131,3*	6373,3 ± 164,3*
Матрилин 2				
Относительная площадь, %	56,28 ± 2,36	68,29 ± 0,63*	69,75 ± 0,84*	63,69 ± 1,47*
Интенсивность окрашивания, у. е.	9,54 ± 1,28	9,99 ± 0,22	11,23 ± 0,13*	26,20 ± 1,57*
Относительное содержание, у. е.	437,4 ± 51,8	681,4 ± 15,6*	782,5 ± 11,2*	1664,5 ± 106,8*

ковой инфекции свидетельствует об изменении соотношения отдельных их фракций. Это подтверждается данными иммуногистохимического исследования (табл. 2).

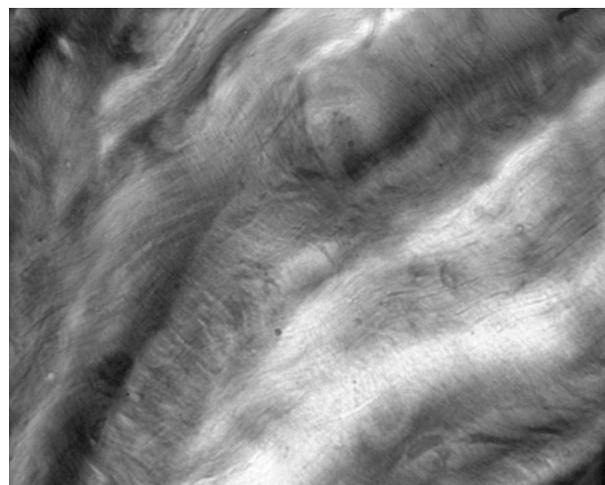
В дальнейшем, через 2 мес. после создания очага стафилококковой инфекции в большеберцовой кости, гистохимическое и иммуногистохимическое морфометрическое исследование компонентов внеклеточного матрикса фиброзного кольца межпозвонковых дисков выявило статистически значимые изменения тинкториальных свойств, характера распределения и интенсивности окрашивания коллагеновых волокон и нейтральных гликопротеинов экстрацеллюлярного матрикса (см. табл. 1), свидетельствующие об изменении состава нейтральных гликопротеинов (рис. 1) и преобладающего типа коллагена (см. табл. 2). Не исключено, что данные изменения являются свидетельством фиброзных изменений в фиброзном кольце, развивающихся уже через 2 месяца после воспроизведения стафилококковой инфекции, на что обращается внимание при изучении дегенеративных изменений межпозвонковых дисков [9].

Кроме того, по сравнению с контролем, достоверно ( $p < 0,05$ ) снижались и относительное содержание сульфатированных гликозаминогликанов, и занимаемая ими относительная площадь, что отражало нарастание патологических изменений в фиброзных кольцах межпозвонковых дисков при моделировании стафилококковой инфекции.

В динамике эксперимента, через 3 месяца после создания очага персистирующей бактериальной инфекции в большеберцовой кости, при морфометрическом изучении внеклеточного матрикса межпозвонковых дисков выявлено прогрессирующее снижение относительной площади и интенсивности окрашивания сульфатированных гликозаминогликанов фиброзного кольца (рис. 2). Прогрессивно уменьшалась относительная площадь коллагеновых волокон, статистически значимо ( $p < 0,05$ ) возрастала относительная площадь нейтральных гликопротеинов. Наиболее вероятно, что нарушения обмена сульфатированных гликозаминогликанов и, следовательно, протеогликанов при длительном течении стафилококковой инфекции отражаются на упруговязких



**Рис. 1.** Неравномерное увеличение содержания фибулина 2 в фиброзном кольце крысы через 2 мес. после создания очага стафилококковой инфекции. Иммуногистохимическое выявление фибулина 2 с докраской ядер гематоксилином Эрлиха. Ув. 1000



**Рис. 2.** Участок фиброзного кольца межпозвоночного диска крысы через 3 мес. после создания очага бактериальной инфекции с зоной, лишенной сульфатированных гликозаминогликанов. Окраска альциановым синим при pH 1,0 с последующей докраской ядер кармалюмом Майера. Ув. 1000

свойствах межпозвоночных дисков [6]. В комплексе с изменениями волокнистого компонента дополнительные биомеханические нагрузки могут провоцировать формирование грыж межпозвоночных дисков. Эти данные подтверждают клинические наблюдения об утяжелении симптоматики проявлений остеохондроза позвоночника и более неблагоприятных прогнозах лечения пациентов с очагами хронического воспаления [1].

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Продемонстрирована роль стафилококковой инфекции (инокуляция штамма 209 в большеберцовую кость крыс Вистар) в инициации и развитии перестройки внеклеточного матрикса фиброзного кольца, которая проявляется прогрессирующим снижением содержания сульфатированных гликозаминогликанов, достоверным уменьшением относительной площади и относительного содержания коллагеновых волокон при изменении соотношения коллагенов I и II типов, компенсаторным повышением количества нейтральных гликопротеинов и изменением соотношения отдельных их фракций. Данные изменения внеклеточного матрикса волокнистого хряща межпозвоночных дисков способны привести к нарушению путей несосудистой микроциркуляции, функционально связанных с корнями лимфатической системы, и должны приниматься во внимание при проведении комплекса лечебных мероприятий, направленных на профилактику и лечение остеохондроза позвоночника.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Команденко Н.И., Рыжов А.И., Жураковский И.П. Остеохондроз позвоночника. Новосибирск: Сибмедииздат НГМУ, 2006. 246 с.
2. Fukuta S., Miyamoto K., Suzuki K. et al. Abundance of calpain and aggrecan-cleavage products of calpain in degenerated human intervertebral discs // *Osteoarthritis Cartilage*. 2011. 19. 1254–1262.
3. Green B.N., Johnson C.D., Egan J.T. et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview for manual therapists // *J. Chiropr. Med*. 2012. 11. (1). 64–76.
4. Gruber H.E., Hoelscher G.L., Ingram J.A. Variations in aggrecan localization and gene expression patterns characterize increasing stages of human intervertebral disk degeneration // *Exp. Mol. Pathol*. 2011. 91. (2). 534–539.
5. Klevens R.M., Morrison M.A., Nadle J. et al. Invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in the United States // *JAMA*. 2007. 298. (15). 1763–1771.
6. Miyamoto K., Masuda K., Kim J.G. Intradiscal injections of osteogenic protein-1 restore the viscoelastic properties of degenerated intervertebral discs // *Spine J*. 2006. 6. 692–703.
7. Miyamoto K., An H.S., Sah R.L. et al. Exposure to pulsed low intensity ultrasound stimulates extracellular matrix metabolism of bovine intervertebral disc cells cultured in alginate beads // *Spine (Phila Pa 1976)*. 2005. Vol. 30. P. 2398–2405.
8. Weiler C., Nerlich A.G., Zipperer J. et al. Award Competition in Basic Science: expression of major matrix metalloproteinases is associated with

intervertebral disc degradation and resorption // Eur. Spine J. 2002. Vol. 11. P. 308–320.

9. Zhao C.Q., Wang L.M., Jiang L.S. The cell biology of intervertebral disc aging and degeneration // Ageing Res Rev. 2007. 3. (6). 247–261.

10. Zhurakovsky I., Arkhipov S., Pustovetova M. et al. Functional status of skin fibroblasts at chronic staphylococcus aureus osteomyelitis of the tibia // AJIM. 2013. 1. (2). 10-13.

## **HISTOCHEMICAL AND IMMUNOHISTOCHEMICAL INVESTIGATION OF EXTRACELLULAR MATRIX OF FIBROUS RING OF INTERVERTEBRAL DISCS AT STAPHYLOCOCCOSIS MODELING**

**Igor Pavlovich ZHURAKOVSKI, Sergei Alekseevich ARKHIPOV, Mariya Gennad'evna PUSTOVETOVA, Irina Aleksandrovna GOLUBEVA, Igor Olegovich MARINKIN, Pavel Aleksandrovich ELYASIN**

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

---

**RESEARCH OBJECTIVE:** to study the changes of an extracellular matrix of a fibrous ring of intervertebral disks at modelling staphylococcal infection. **MATERIAL AND METHODS:** 18 males Wistar with tibia bone osteomyelitis and 6 control animals; histochemistry and immunohistochemistry on the basis of the automatic analysis of fibrocartilage image at 1, 2 and 3 months after osteomyelitis development. **RESULTS AND DISCUSSION:** reorganization of the extracellular matrix of the fibrous ring has been revealed at the long-term staphylococcal infection that is the response to occurring degenerative changes in intervertebral disks.

---

**Key words:** intervertebral disk, fibrous ring, Staphylococcus aureus, extracellular matrix, histochemistry, immunohistochemistry.

*Zhurakovski I.P. – candidate of medical sciences, senior researcher, e-mail: murash2003@yandex.ru*

*Arkhipov S.A. – doctor of biological sciences, senior researcher*

*Pustovetova M.G. – doctor of medical sciences, professor, head of the central scientific research laboratory*

*Golubeva I.A. – doctor of medical sciences, professor of the chair for anatomy*

*Marinkin I.O. – doctor of medical sciences, professor, rector*

*Elyasin P.A. – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair for anatomy*

## РЕГИОНАРНЫЕ ЛИМФАТИЧЕСКИЕ УЗЛЫ ПЕЧЕНИ КРЫС В УСЛОВИЯХ ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ ЭПИФИЗЭКТОМИИ, ОТЯГОЩЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИЕЙ ЭТАНОЛОМ

Ирина Юрьевна ИЩЕНКО, Светлана Викторовна МИЧУРИНА

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

Изучено влияние функциональной эпифизэктомии, осложненной хронической интоксикацией этанолом, на морфологическую организацию регионарных лимфатических узлов печени крыс. Показано, что сочетание исследуемых дестабилизирующих факторов вызывает усиление интенсивности В-зависимых иммунных реакций – увеличение удельной объемной плотности лимфоидных узелков, возрастание в них доли герминативных центров, усиление бластообразования в последних, а также рост числа средних и малых лимфоцитов в мозговых тяжах. Уменьшение относительных размеров паракортикальной зоны и снижение числа бластов в ней свидетельствуют об угнетении активности Т-зависимых иммунных реакций. Помимо этого исследуемое воздействие приводит к нарушению ультраструктуры ретикулярного каркаса, который выполняет функцию коммуникативной сети лимфоузла, к утрате антигенпрезентирующих способностей интердегитирующих дендритных и фибробластических ретикулярных клеток паракортикальной зоны, истощению запасов плазматических клеток с активной иммуноглобулинсинтетической функцией в мозговых тяжах. Значительные ультраструктурные нарушения в лимфатических узлах усугубляются недостаточностью их дренажной функции. Описанные факты свидетельствуют о срыве адаптационных возможностей регионарных лимфатических узлов печени.

**Ключевые слова:** лимфатические узлы, круглосуточное освещение, этанол.

Ритмический характер продукции мелатонина эпифизом (в темное время суток, с максимумом после полуночи) позволяет рассматривать этот гормон в качестве ведущего синхронизатора циркадианных ритмов, модулирующего активность органов и систем организма млекопитающих в зависимости от чередования света и темноты [3, 4]. Установлено, что пребывание человека и животных в условиях круглосуточного освещения приводит к подавлению синтеза мелатонина (функциональной эпифизэктомии) и развитию десинхроноза [7]. В условиях десинхроноза значительная нагрузка ложится на печень и гомеостатические системы, обеспечивающие резистентность организма: лимфатическую, иммунную, эндокринную. Согласно концепции Ю.И. Бородина о лимфатическом регионе [1], дренируемый орган и регионарные лимфатические узлы представляют собой единую функциональную гомеостатическую систему. Последние выполняют иммунную функцию и являются важнейшим звеном тканевого дренажа и детоксикации. Получены данные, подтверждающие феномен ритмичности функционирования лимфоидной системы [8, 11, 12].

Целью исследования явились изучение микро- и ультраструктурной организации регионарных лимфатических узлов печени крыс Вистар и оценка их клеточного состава в условиях функциональной эпифизэктомии на фоне дозированного введения животным этанола.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили на самцах крыс Вистар массой 250–300 г в условиях содержания на стандартном рационе со свободным доступом к пище и воде. Экспериментальную группу составили животные, которые ежедневно в течение 28 сут получали по 1,5 мл 15%-го этанола, а с 15-х по 28-е сутки еще и подвергались воздействию круглосуточного освещения (модель функциональной эпифизэктомии [7]). Группой сравнения служили интактные крысы. По истечении сроков эксперимента крысы забивали под эфирным наркозом методом декапитации и забирали регионарные лимфатические узлы печени.

Для электронно-микроскопического исследования лимфатические узлы фиксировали методом

*Ищенко И.Ю.* – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы, e-mail: irenisch@mail.ru

*Мичурина С.В.* – д.м.н., проф., главный научный сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы

двойной фиксации (4 % параформальдегидный изотонический 0,1 М фиксатор на фосфатном буфере Миллонига (рН 7,4), 1 % осмиевый фиксатор на фосфатном буфере (рН 7,4)). После дегидратации в серии спиртов возрастающей концентрации образцы органа заключались в эпон-812. Ультратонкие срезы толщиной 35–45 нм последовательно контрастировали раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEOL JEM-1400.

Для светооптического исследования лимфатические узлы фиксировали в растворе Телесницкого, обезживали в серии спиртов возрастающей концентрации, заключали в гистомикс. Срезы толщиной 7 мкм окрашивали гематоксилином Майера и эозином. Морфометрический анализ проводили при помощи стереометрического метода точечного счета с использованием закрытой тестовой системы при увеличении в 32 раза (окуляр  $\times 8$ ; объектив  $\times 4$ ). Для клеточного анализа лимфоузлов срезы толщиной 5 мкм окрашивали азуром II и эозином. Подсчитывали абсолютное количество разных видов клеток на стандартной площади 4500 мкм<sup>2</sup> в герминативных центрах, паракортексе, мозговых тяжях и мозговых синусах.

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  $p < 0,05$ .

Все экспериментальные работы были проведены с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации.

## РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных, содержащихся в течение 14 сут в условиях круглосуточного освещения на фоне интоксикации этанолом, соотношение коркового и мозгового вещества в регионарных лимфатических узлах печени не изменилось, однако внутри этих компартментов произошли значительные структурные перестройки.

Морфометрическое исследование регионарных лимфатических узлов печени выявило достоверное увеличение относительных размеров В-зависимой зоны коркового вещества – возрастание удельного объема всех лимфоидных узелков и доли герминативных центров в них (табл. 1). При этом в последних достоверно возросло количество лимфобластов (табл. 2). Установлено уменьшение удельного объема Т-зависимой паракортикальной зоны коркового вещества (см. табл. 1) и снижение в ней содержания бластных клеточных форм (см. табл. 2). Ультраструктурное исследование выявило присутствие в паракортикальной зоне большого количества детрита разрушенных клеток (рис. 1, а, б, г, рис. 2, а). Он проникал между коллагеновыми волокнами, нарушая целостность коллагеновых пучков, заполнял межклеточное пространство, препятствуя межклеточным

**Таблица 1**

*Объемная плотность (V) структурно-функциональных зон регионарных лимфатических узлов печени крыс с функциональной эпифизэктомией на фоне интоксикации этанолом (%),  $M \pm m$*

Показатель	Контроль	Круглосуточное освещение + этанол
Индекс К/М	1,855 $\pm$ 0,181	1,855 $\pm$ 0,191
V коры	64,79 $\pm$ 2,27	64,59 $\pm$ 2,54
V паракортекса	50,19 $\pm$ 3,15	40,45 $\pm$ 2,75#
V краевого синуса	3,13 $\pm$ 1,17	3,59 $\pm$ 0,31
V междузелковой зоны	1,34 $\pm$ 0,85	1,99 $\pm$ 0,42
V лимфоидных узелков	10,12 $\pm$ 3,39	18,57 $\pm$ 1,84#
V герминативных центров	0,79 $\pm$ 0,18	2,71 $\pm$ 0,44*
Доля ГЦ в лимфоидных узелках	8,30 $\pm$ 1,32	14,55 $\pm$ 1,77*
V мозгового вещества	35,21 $\pm$ 2,27	35,41 $\pm$ 2,54
V мозговых тяжей	23,38 $\pm$ 1,95	22,20 $\pm$ 3,36
V мозговых синусов	11,84 $\pm$ 0,77	13,21 $\pm$ 0,83
V синусной системы лимфоузла	14,97 $\pm$ 1,17	16,80 $\pm$ 1,12

*Примечание.* «Индекс К/М» – соотношение коркового и мозгового вещества лимфоузла; здесь и в табл. 2, 3 \* – отличие от величины соответствующего показателя группы контроля статистически значимо при  $p < 0,05$ ; # – имеется тенденция к отличию от величины соответствующего показателя группы контроля ( $p < 0,1$ ).

Таблица 2

Клеточный состав герминативных центров и паракортикальной зоны регионарных лимфатических узлов печени у крыс после воздействия круглосуточного освещения на фоне интоксикации этанолом (количество клеток на стандартной площади исследования),  $M \pm t$

Показатель	Контроль		Круглосуточное освещение + этанол	
	Герминативный центр	Паракортекс	Герминативный центр	Паракортекс
Лимфоциты:	17,75 ± 0,88	23,1 ± 0,92	19,27 ± 0,88	22,93 ± 1,66
бласти	9,15 ± 0,73	1,75 ± 0,27	11,27 ± 0,88#	0,93 ± 0,24*
средние лимфоциты	7,4 ± 0,78	14,3 ± 0,91	7,13 ± 0,71	15,87 ± 1,48
малые лимфоциты	1,2 ± 0,31	7,05 ± 0,67	0,87 ± 0,24	6,13 ± 0,56
Макрофаги	1,0 ± 0,22	0,9 ± 0,18	1,13 ± 0,22	0,53 ± 0,14
Ретикулярные клетки	1,95 ± 0,33	2,0 ± 0,30	2,07 ± 0,45	2,0 ± 0,34
Все клетки	21,25 ± 1,06	26,05 ± 0,74	22,8 ± 0,85	25,47 ± 1,72

взаимодействиям (см. рис. 1, а). В паракортексе обнаружены фибробластические ретикулярные клетки (ФРК), охватывающие крупные пучки с неструктурированными волокнами коллагена, которые принимали вид «разбухших» пучков (см. рис. 1, б). Иногда рядом с отростками фибробластических ретикулярных клеток обнаруживались хаотично расположенные коллагеновые волокна, не сформированные в пучки (см. рис. 1, в). В паракортикальной зоне часто встречались интердегитирующие дендритные клетки разбухшей формы, для которых было характерным сглаживание цитоплазматической мембраны и исчезновение отростков. В цитоплазме таких клеток отмечалось практически полное отсутствие лизосом и пиноцитозных везикул, но выявлялось большое количество рибосом и митохондрий, хотя и с разрушающимися кристами (см. рис. 1, г). Макрофаги содержали большое количество вторичных лизосом (рис. 2, а). В венах паракортикальной зоны иногда обнаруживались лимфоциты, преодолевающие эндотелиальную выстилку этих сосудов (рис. 2, в, г). При этом эндотелий таких венул имел многочисленные выросты и изгибы (рис. 2, б), что свидетельствует об их напряженном функционировании.

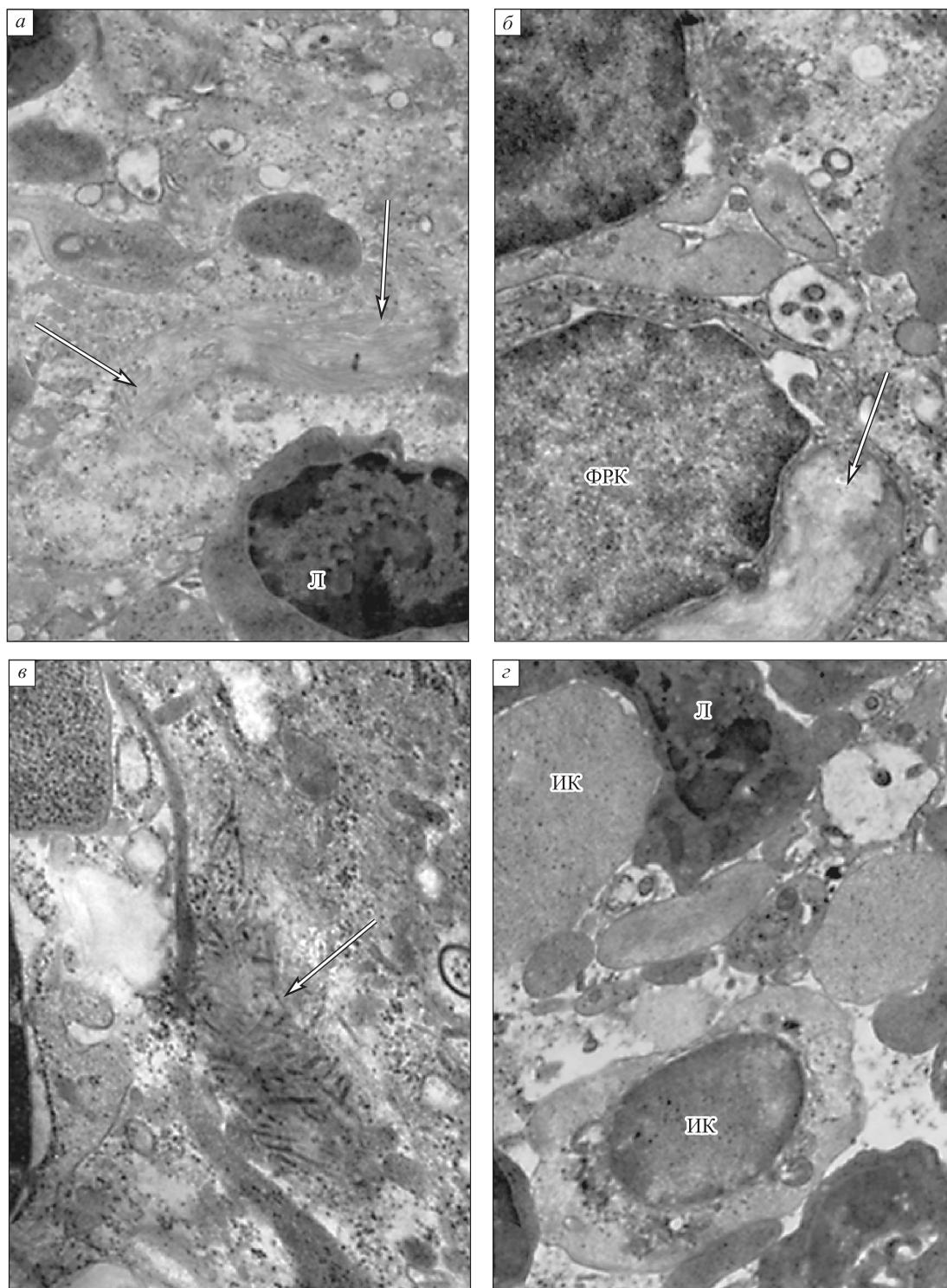
Морфометрическое исследование мозгового вещества лимфатических узлов не выявило достоверных изменений относительных размеров мозговых тяжей и мозговых синусов (см. табл. 1). Однако при этом установлено увеличение числа лимфоидных клеточных элементов за счет средних и малых лимфоцитов и уменьшение количества зрелых плазматических клеток (табл. 3). На ультраструктурном уровне в большинстве плазматических клеток выявлены умеренно и даже слабо расширенные профили шероховатого эндо-

плазматического ретикулума и цистерны комплекса Гольджи, что соответствует умеренному и/или слабоактивному состоянию данных клеточных структур (рис. 3, а). Иногда встречались плазматические клетки с гиперплазией белоксинтетических профилей шероховатого эндоплазматического ретикулума и отсутствием активного аппарата Гольджи, что, видимо, отражает факт нарушения в них белковой секреции (см. рис. 3, б). В межклеточном пространстве мозговых тяжей определялся детрит разрушенных клеток (см. рис. 3, б).

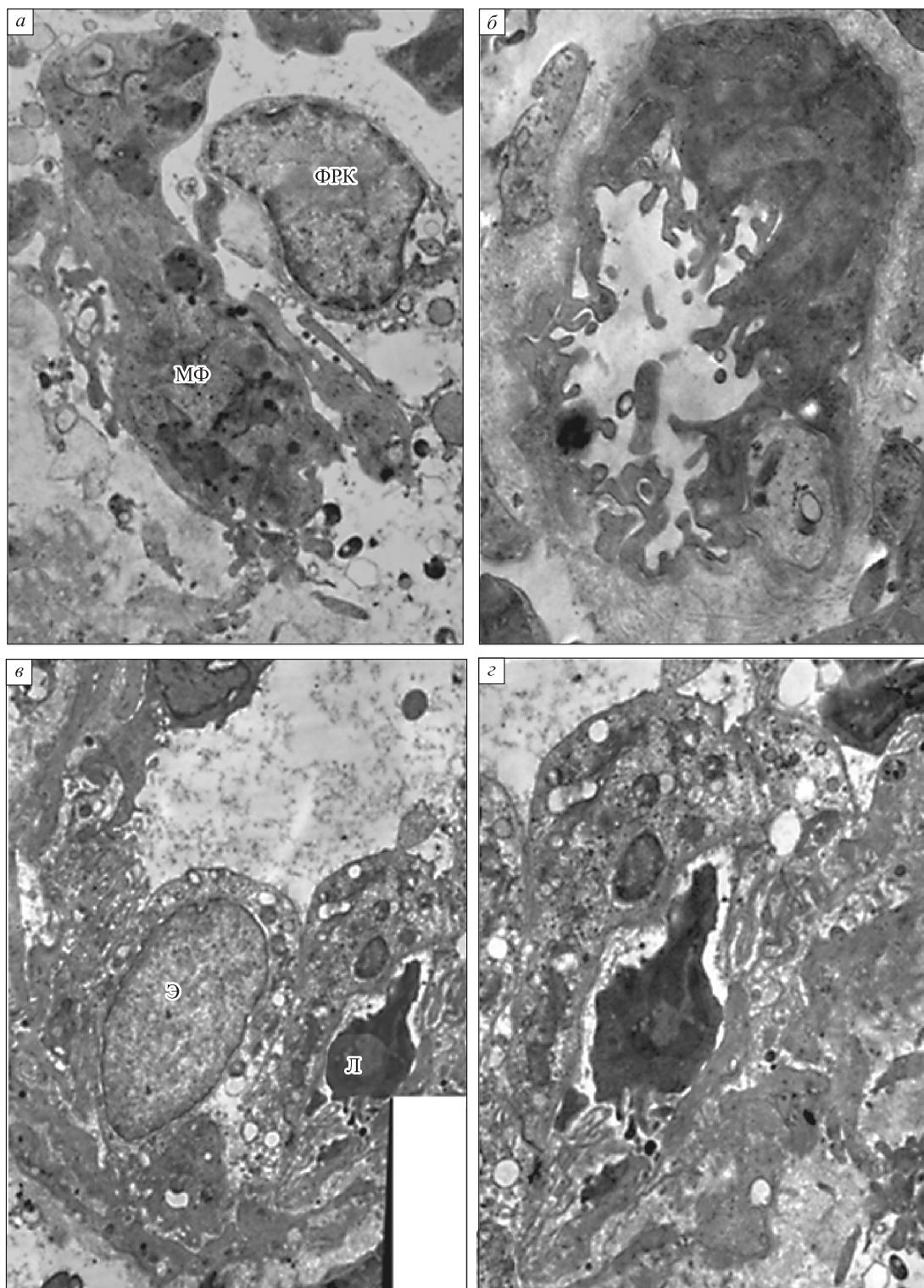
Стереометрический анализ лимфатических узлов крыс с функциональной эпиפיэктомией на фоне интоксикации этанолом не выявил значительного увеличения относительного объема синусной системы (краевого и мозгового синусов) (см. табл. 1). В мозговых синусах установлено достоверное увеличение содержания средних лимфоцитов и уменьшение числа плазматических клеток (см. табл. 3). В предыдущих исследованиях печени у этих животных [2, 5] нами было обнаружено достоверное увеличение относительной площади сети синусоидных капилляров. Отсутствие реакции краевого и мозгового синусов регионарных лимфатических узлов на увеличение емкостей синусоидных капилляров в долях печени, по-видимому, свидетельствует о недостаточности дренажной функции лимфоузлов при исследуемых дестабилизирующих воздействиях.

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание животных в условиях круглосуточного освещения (приводящее к функциональной эпиפיэктомии) и дозированного введения этанола приводит к стимуляции В-зависимой зоны коркового вещества (увеличению относи-



**Рис. 1.** Нарушения в паракортикальной зоне регионарных лимфатических узлов крыс после круглосуточного освещения и интоксикации этанолом. а – стрелками показано проникновение детрита разрушенных клеток между волокнами коллагена;  $\times 6000$ ; б – фибробластическая ретикулярная клетка (ФРК), охватывающая «разбухший» пучок коллагена (стрелка); в межклеточном пространстве – клеточный детрит;  $\times 8000$ ; в – стрелкой показано хаотичное расположение около отростка ФРК коллагеновых волокон, несформированных в пучок;  $\times 15\ 000$ ; г – интердигтирующие клетки (ИК), характеризующиеся сглаженной цитоплазматической мембраной, отсутствием отростков, лизосом и пиноцитозных пузырьков, но содержащие большое количество рибосом; в межклеточном пространстве – клеточный детрит;  $\times 6000$ . Л – лимфоцит

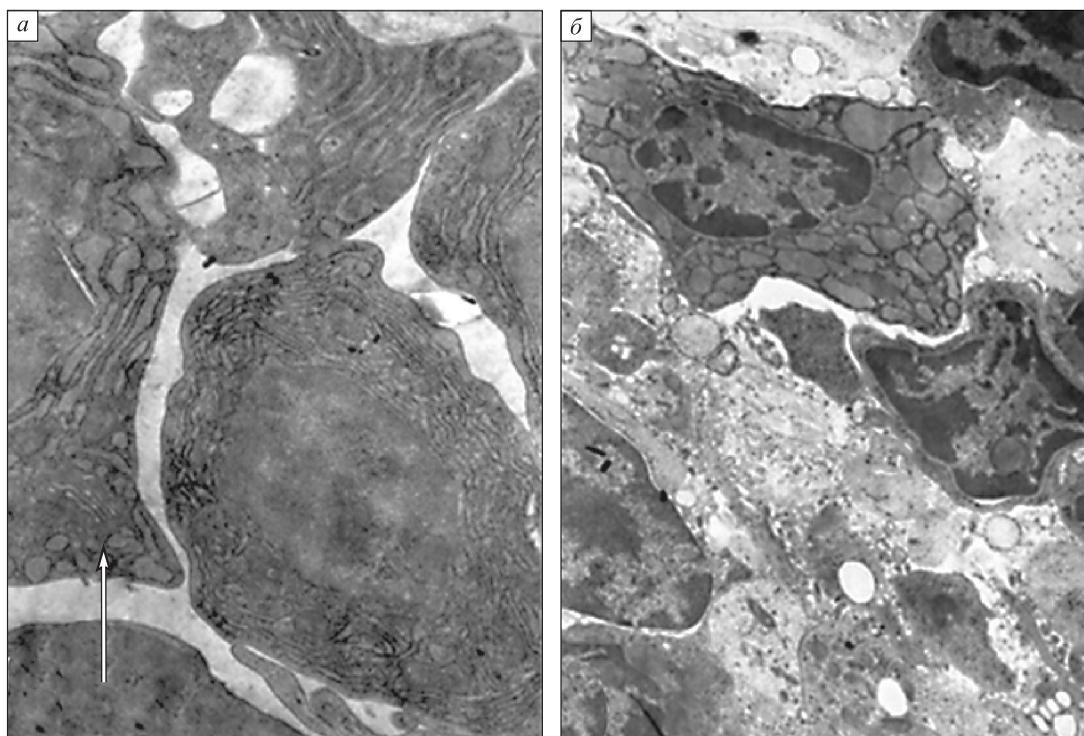


**Рис. 2.** Нарушения в паракортикальной зоне регионарных лимфатических узлов крыс после круглосуточного освещения и интоксикации этанолом. а – макрофаг, содержащий большое количество вторичных лизосом и окруженный клеточным детритом;  $\times 4000$ ; б – многочисленные выросты и изгибы эндотелия венулы;  $\times 8000$ ; в – венула с высоким эндотелием и лимфоцитом, преодолевающим эндотелиальную выстилку этого сосуда;  $\times 3000$ ; г – фрагмент рис. 2, в;  $\times 5000$ . МФ – макрофаг, Э – эндотелиальная клетка

Таблица 3

Клеточный состав мозговых тяжей и мозговых синусов регионарных лимфатических узлов печени крыс после воздействия круглосуточного освещения на фоне интоксикации этанолом (количество клеток на стандартной площади исследования),  $M \pm t$

Показатель	Контроль		Круглосуточное освещение + этанол	
	Мозговые тяжи	Мозговые синусы	Мозговые тяжи	Мозговые синусы
Иммунобласты	3,05 ± 0,40	0,65 ± 0,19	2,27 ± 0,36	0,87 ± 0,20
Лимфоциты:	2,55 ± 0,44	5,25 ± 0,89	4,33 ± 0,78#	5,80 ± 0,81
средние лимфоциты	0,90 ± 0,25	1,50 ± 0,27	1,93 ± 0,48#	2,47 ± 0,49#
малые лимфоциты	1,65 ± 0,38	3,75 ± 0,80	2,4 ± 0,44	3,33 ± 0,50
Плазматические клетки:		2,45 ± 0,42		1,73 ± 0,33#
незрелые	10,35 ± 0,98		10,13 ± 0,81	
зрелые	2,65 ± 0,44		1,2 ± 0,35*	
Макрофаги	0,45 ± 0,17	0,85 ± 0,17	0,4 ± 0,17	0,87 ± 0,28
Ретикулярные клетки	2,00 ± 0,32	2,20 ± 0,31	1,27 ± 0,31	1,73 ± 0,29
Все клетки	21,35 ± 0,76	11,4 ± 0,80	19,73 ± 1,02	11,0 ± 0,82



**Рис. 3.** Изменения в мозговом веществе регионарных лимфатических узлов крыс после круглосуточного освещения и интоксикации этанолом. а – плазматические клетки с умеренно и слабо расширенными профилями шероховатого эндоплазматического ретикулума и цистернами комплекса Гольджи (указан стрелкой);  $\times 8000$ ; б – плазматическая клетка с гиперплазией белоксинтезирующих профилей шероховатого эндоплазматического ретикулума и отсутствием активного комплекса Гольджи;  $\times 6000$

тельных размеров лимфоидных узелков и доли в них герминативных центров), усилению бластообразования в герминативных центрах, увеличению содержания средних и малых лимфоцитов в мозговых тяжах. Эти факты свидетельствуют об усилении интенсивности В-зависимых иммунных реакций. Уменьшение относительного объема паракортикальной зоны и снижение в ней содержания бластных клеточных форм отражают угнетение активности Т-зависимых иммунных реакций.

Функциональная эпифизэктомия на фоне интоксикации этанолом оказывается столь значительным дестабилизирующим воздействием, что на ультраструктурном уровне страдает стромальный каркас лимфатических узлов. Происходит изменение структуры межклеточного матрикса (в частности, заболачивание детритом разрушенных клеток) и нарушение формирования коллагеновых пучков, необходимых для образования системы каналов в лимфатическом узле. Известно, что белки межклеточного матрикса оказывают влияние на иммунную активацию клеток и их дифференцировку, пучки коллагена участвуют в формировании каналов, необходимых для транспорта лимфоцитов и дендритных клеток в пределах лимфоузла, антигенов и цитокинов с лимфой из субкапсулярного синуса к венам с высоким эндотелием [9, 13].

В данной модельной ситуации страдают интердигитирующие дендритные клетки паракортикальной зоны. Сглаживание их цитоплазматических мембран, исчезновение с поверхности мембран характерных отростков свидетельствуют о нарушении целостности структур, необходимых для миграции этих клеток. Известно, что антигенпрезентирующие клетки (интердигитирующие дендритные и фибробластические ретикулярные клетки паракортикальной зоны) путем макропиноцитоза [10] поглощают растворимые формы антигенов из интерстициального пространства, перерабатывают его, экспрессируют антигенную детерминанту в комплексе с молекулами МНС I класса и затем мигрируют в регионарные лимфатические узлы, где презентуют переработанный антиген Т-лимфоцитам. Отсутствие макропиноцитозных везикул в цитоплазме таких клеток при сочетанном воздействии исследованных факторов, по-видимому, свидетельствует о неспособности антигенпрезентирующих клеток поглощать растворимые формы антигенов и презентовать их Т-лимфоцитам. При этом большое количество рибосом в цитоплазме интердигитирующих клеток отражает усиление их белоксинтетической активности для своих нужд.

Содержание животных в условиях круглосуточного освещения и дозированного введения

этанолол приводит к истощению мозговых тяжей лимфоузлов – в них отмечается достоверное уменьшение количества зрелых плазматических клеток (светооптические данные), обнаруживаются клетки плазматического ряда со сниженной белоксинтетической функцией либо с нарушенной белковой секрецией (ультраструктурные данные).

Недостаточность дренажной функции лимфатических узлов во многом объясняется не только нарушением их соединительнотканного каркаса, но и заболачиванием интерстициального пространства детритом разрушенных клеток. Ранее нами было обнаружено [5, 6], что круглосуточное освещение, вызывающее десинхронизацию в организме, уже само по себе приводит к напряженному функционированию гематолимфатического барьера в печени и разбалансировке корней лимфатической системы, способствует застою лимфы в прелимфатиках и, как следствие, ухудшению дренажа в лимфатическом регионе органа в целом. В настоящем исследовании отягощение функциональной эпифизэктомии интоксикацией, по-видимому, приводит к срыву адаптационных возможностей регионарных лимфатических узлов печени.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Функциональная эпифизэктомия, смоделированная у животных круглосуточным освещением в течение 14 суток и усугубленная хронической интоксикацией этанолом, вызывает в регионарных лимфатических узлах печени развитие стереотипного ответа [2], свидетельствующего об усилении интенсивности В-зависимых иммунных реакций в корковом веществе и угнетении активности Т-зависимых иммунных реакций. При таком воздействии нарушается структура ретикулярного каркаса, который выполняет функцию коммуникативной сети лимфоузла, утрачиваются антигенпрезентирующие способности интердигитирующих и фибробластических ретикулярных клеток паракортикальной зоны, истощаются запасы плазматических клеток с активной иммуноглобулинсинтезирующей функцией в мозговых тяжах. Значительные ультраструктурные нарушения в лимфатических узлах усугубляются недостаточностью их дренажной функции. Описанные факты свидетельствуют о срыве адаптационных возможностей регионарных лимфатических узлов печени, что может способствовать развитию еще большего напряженного состояния микроциркуляторного русла и гематолимфатического барьера дренируемого органа и развитию значительных нарушений в его паренхиме.

## БЛАГОДАРНОСТЬ

Благодарим сотрудников Центра коллективного пользования «Электронной и оптической микроскопии» ФГБУ НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН за предоставление работы на электронном микроскопе JEOL JEM-1400 и за содействие в подготовке материала данной статьи.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бородин Ю.И. Внутренняя среда организма и корни лимфатической системы // Проблемы лимфангиологии / Ред.: Ю.И. Бородин, В.И. Коненков, А.Ф. Повещенко. Новосибирск, 2010. 26–33.

2. Бородин Ю.И., Мичурина С.В., Ищенко И.Ю. и др. Лимфатический регион и гематолимфатический барьер печени при дестабилизирующих воздействиях // Лимфология. Новосибирск: Манускрипт, 2012. 490–494.

3. Бородин Ю.И., Труфакин В.А., Мичурина С.В. и др. Структурно-временная организация печени, лимфатической, иммунной, эндокринной систем при нарушении светового режима и введении мелатонина. Новосибирск, 2012. 208 с.

4. Кветная Т.В., Князькин И.В., Кветной И.М. Мелатонин – нейроиммуноэндокринный маркер возрастной патологии. СПб., 2005. 144 с.

5. Мичурина С.В., Бородин Ю.И., Ищенко И.Ю. и др. Лимфатический регион печени крыс Вистар в условиях сочетанного влияния алкогольной интоксикации и круглосуточного освещения // Бюл. СО РАМН. 2008. (5). 44–49.

6. Мичурина С.В., Ищенко И.Ю., Вакулин Г.М. Микро- и ультраструктурные особенности регионарных лимфатических узлов печени крыс Вистар

при воздействии круглосуточного освещения // Структурно-временная организация печени, лимфатической, иммунной, эндокринной систем при нарушении светового режима и введении мелатонина. Новосибирск: Манускрипт, 2012. 61–70.

7. Мичурина С.В., Шурлыгина А.В., Белкин А.Д. и др. Изменения печени и некоторых органов иммунной системы животных в условиях круглосуточного освещения // Морфология. 2005. 128. (4). 65–68.

8. Cutolo M., Sulli A., Pizzorni C. et al. Circadian rhythms: glucocorticoids and arthritis // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2006. 1069. 289–299.

9. Kaldjian E.P., Gretz J.E., Anderson A.O. et al. Spatial and molecular organization of lymph node T cell cortex: a labyrinthine cavity bounded by an epithelium-like monolayer of fibroblastic reticular cells anchored to basement membrane-like extracellular matrix // Int. Immunol. 2001. 13. (10). 1243–1253.

10. Le Roux D., Le Bon A., Dumas A. et al. Antigen stored in dendritic cells after macropinocytosis is released unprocessed from late endosomes to target B cells // Blood. 2012. 119. (1). 95–105.

11. Mocchegiani E., Giacconi R., Cipriano C. et al. The variations during the circadian cycle of liver CD1d-unrestricted NK1.1+TCR gamma/delta+ cells lead to successful ageing. Role of metallothionein/IL-6/gp130/PARP-1 interplay in very old mice // Exp. Gerontol. 2004. 39. (5). 775–788.

12. Prendergast B.J., Bilbo S.D., Nelson R.J. Short day lengths enhance skin immune responses in gonadectomised Siberian hamsters // J. Neuroendocrinol. 2005. 17. (1). 18–21.

13. Sobocinski G.P., Toy K., Bobrowski W.F. et al. Ultrastructural localization of extracellular matrix proteins of the lymph node cortex: evidence supporting the reticular network as a pathway for lymphocyte migration // BMC Immunol. 2010. 17. (11). 42.

## **THE LIVER REGIONAL LYMPH NODES OF RATS IN CONDITIONS OF FUNCTIONAL EPIPHYSECTOMY AGGRAVATED BY ETHANOL INTOXICATION**

**Irina Yurievna ISHCENKO, Svetlana Viktorovna MICHURINA**

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

---

The influence of functional epiphysectomy aggravated by chronic ethanol intoxication on morphological organization of the liver regional lymph nodes of rats has been studied. It is shown that combination of the investigated destabilizing factors causes strengthening of the B-dependent immune response intensity – the increase in specific volume density of the lymphoid nodules, the percentage growth of the germinative centers in them, strengthening the blast cell formation in the germinative centers, the increase in the number of medium and small lymphocytes in the medullary cords. The decrease in the relative size of the paracortical zone and the reduction in the number of blasts in it testify to suppression of activity of the T-dependent immune reactions. In addition combination of destabilizing factors leads to disruption of the reticular frame ultrastructure, which performs the function of a communicative network in a lymph node, causes the loss of antigen-presenting abilities of interdigitating dendritic cells and fibroblastic reticular cells in the paracortical zone, leads to exhausting stocks of the plasma cells with active immunoglobulinsynthesizing function in the medullary cords. Significant ultrastructural changes in the lymph nodes are aggravated by lack of their drainage function. These described facts testify to the adaptation possibilities failure of the liver regional lymph nodes.

---

**Key words:** lymph nodes, round-the-clock lighting, ethanol.

*Ishchenko I.Yu. – candidate of biological sciences, senior researcher of the laboratory of lymphatic system functional morphology, e-mail: irenisch@mail.*

*Michurina C.V. – doctor of medical sciences, professor, chief researcher of the laboratory of lymphatic system functional morphology*

## **ДИНАМИКА СОДЕРЖАНИЯ ИММУНОКОМПЕТЕНТНЫХ КЛЕТОК В КРОВИ У ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ ПОСЛЕ ПРИМЕНЕНИЯ ОБЩЕЙ ГИПЕРТЕРМИИ**

**Иван Алексеевич КРИВОШАПКИН, Анатолий Васильевич ЕФРЕМОВ,  
Елена Николаевна САМСОНОВА, Мария Геннадьевна ПУСТОВЕТОВА,  
Ольга Николаевна ЛОГАЧЕВА, Сергей Николаевич АЛЕКСЕЕНКО**

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

В настоящем исследовании определялось содержание лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+ у 60 крыс-самцов линии Вистар. Отмечалось снижение количества иммунокомпетентных клеток на 1-е сутки пост-гипертермического периода с восстановлением к 3-м суткам. Далее количество лимфоцитов CD3+, CD4+, CD20+ продолжало повышаться. Содержание лимфоцитов CD8+ и CD16+ оставалось в пределах контрольных значений.

**Ключевые слова:** иммунокомпетентные клетки, лимфоциты CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+, общая гипертермия.

На современном этапе развития медицины активно разрабатываются новые диагностические и терапевтические технологии, приборы и другая медицинская техника, которые успешно внедряются в практическую деятельность клиник для лечения различных заболеваний [7, 13].

В настоящее время гипертермия, как локальная, так и общая, находится в центре внимания врачей различного профиля, особенно онкологов [5, 11]. Локальная гипертермия в форме термо-радио-, термохимио- и терморadioхимиотерапии применяется при лечении онкологических больных в самостоятельном виде или в качестве неоадьювантной и адьювантной терапии, именно ей посвящено подавляющее большинство исследований. Что касается общей (системной) и особенно сочетанной или комбинированной гипертермии, то эти методики пока используются в немногочисленных онкологических клиниках. Между тем в искусственной управляемой гипертермии в сочетании с химиотерапией и лучевой терапией скрыты немалые резервы, в частности,

при многокомпонентном лечении больных с далеко зашедшими злокачественными новообразованиями (первичные местнораспространенные, рецидивные и/или метастатические опухоли), а также с локализованными, но крайне неблагоприятными формами заболевания [3, 12].

В научной литературе идет активная дискуссия о механизмах действия локальной и общей гипертермии на организм человека и ее влиянии на патогенез различных заболеваний [4, 10]. Состояние общей гипертермии тела представляет собой один из вариантов тяжелого стресса, адаптация к которому лежит за пределами физиологических возможностей организма. Характер развития стресс-реакции во многом определяется функциональным состоянием лимфоидной ткани, макрофагов и ретикулоэндотелиальной системы [1, 2].

Клинические и экспериментальные работы, посвященные влиянию общей гипертермии на организм человека, проводились в подавляющем большинстве случаев в диапазоне температур 37–

---

*Кривошапкин И.А. – аспирант кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии, e-mail: decoivan@yandex.ru*

*Ефремов А.В. – д.м.н., проф., член-кор. РАМН, зав. кафедрой патологической физиологии и клинической патофизиологии, e-mail: AVE 48@yandex.ru*

*Самсонова Е.Н. – д.м.н., проф., зав. учебной частью кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии, e-mail: Elena-samsonova@mail.ru*

*Пустоветова М.Г. – д.м.н., проф. кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии*

*Логачева О.Н. – аспирант кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии*

*Алексеев С.Н. – аспирант кафедры патологической физиологии и клинической патофизиологии*

42 °С. Вместе с тем известно, что гибель опухолевых клеток происходит только при температуре более 43 °С [14].

Поскольку основными областями применения общей гипертермии являются онкология и клиника инфекционных болезней, то наибольший интерес представляют вопросы влияния гипертермии на состояние иммунной системы. Одним из методов изменения количества и функциональной активности иммунокомпетентных клеток может стать общая гипертермия. Поэтому представлялось интересным изучить содержание лимфоцитов CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+ после воздействия общей гипертермии, что и явилось целью настоящего исследования.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты выполнены на 60 крысах-самцах линии Вистар массой 220–230 г, содержащихся в условиях вивария в соответствии с требованиями приказов «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию вивариев» от 06.04.1973 № 1045-73, а также от 10.10.1983 № 1179 МЗ СССР, от 19.06.2003 № 267 МЗ РФ, «Правилами по обращению, содержанию, обезболиванию и умерщвлению экспериментальных животных», утвержденными МЗ СССР (1977) и МЗ РСФСР (1977), принципами Европейской конвенции (Страсбург, 1986) и Хельсинкской декларации всемирной медицинской ассоциации о гуманном обращении с животными (1996). Кормление животных осуществляли согласно установленному рациону с применением комбикорма для лабораторных крыс и мышей «ПроКорм» производства акционерного общества «БиоПро» (заводской артикул Р-22; ГОСТ Р 50258-92) (Россия). Разогревание животных до 43,5 °С проводили в соответствии со «Способом экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных» [8]. Животных забивали методом декапитации под эфирным наркозом на 1-е, 3-и, 7-е и 14-е сутки после общей гипертермии. В группу контроля вошли 7 интактных крыс этой же породы. В качестве материала исследования использовали периферическую кровь.

Исследование клеточного звена иммунной системы проводили путем определения моноклональных антител к следующим маркерам: CD3+ (клон G4.18, 1:100, FITC, зеленый; cat. № LS-C58677; LifeSpan BioSciences, США), CD4+ (клон OX-35, 1:100, Alexa567, красный; cat. № LS-C106953; LifeSpan BioSciences), CD8+ (клон OX-8, 1:100, FITC, зеленый; cat. № LS-C45150; LifeSpan BioSciences); CD16+ (клон FCR4G8; cat. № MBS673332; MyBioSource,

США) на люминесцентном микроскопе AXIO SCOPE A1 LED (Carl Zeiss MicroImaging GmbH 07740 Jena, Германия).

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

Воздействие высокой температуры на организм млекопитающих, как и многих других стресс-факторов, вызывает значительные изменения нейроэндокринной и иммунной систем, метаболических и обменных процессов на молекулярном, клеточном и тканевом уровне. В механизме развития стрессовой реакции главную роль играет длительное и значительное повышение концентрации катехоламинов и глюкокортикоидов. Катехоламины и глюкокортикоиды усиливают метаболическое и физиологическое (в частности, мембранотропное) действие друг друга, поэтому вряд ли возможно в полной мере дифференцировать патологические изменения, обусловленные отдельным влиянием их высоких концентраций. Тем не менее если содержание катехоламинов в крови возрастает в первые же секунды стрессового воздействия, то гиперкортицизм требует для своего развития как минимум 1 ч. Гиперкортицизм, особенно длительный, обуславливает выраженную инволюцию и деструкцию тимико-лимфатической системы, угнетает костно-мозговое кроветворение, тормозит механизмы клеточного и гуморального иммунитета, киллерную активность Т-лимфоцитов. Выход из иммунодепрессии начинается только через несколько дней [9].

У животных контрольной группы содержание лимфоцитов в периферической крови составило  $(2,57 \pm 0,18) \times 10^9/\text{л}$ . При изучении влияния общей гипертермии на содержание лимфоцитов в сыворотке крови отмечено, что на 1-е сутки постгипертермического периода изучаемый показатель уменьшился на 28 % и составил  $(1,88 \pm 0,14) \times 10^9/\text{л}$ . На 3-и сутки эксперимента содержание лимфоцитов в сыворотке крови животных  $((2,35 \pm 0,33) \times 10^9/\text{л})$  не отличалось от контрольных значений. Период с 7-х по 14-е сутки наблюдения характеризовался повышением содержания лимфоцитов в сыворотке крови: на 7-и сутки – на 24 %  $((3,18 \pm 0,23) \times 10^9/\text{л})$ , на 14-е сутки – на 38 %  $((4,39 \pm 0,51) \times 10^9/\text{л})$ .

Таблица

Динамика содержания субпопуляций лимфоцитов в крови у экспериментальных животных после применения общей гипертермии, % ( $M \pm m$ )

Срок исследования	Субпопуляция лимфоцитов				
	CD3+	CD4+	CD8+	CD20+	CD16+
Контроль	59,9 ± 2,6	31,7 ± 2,72	18,41 ± 1,44	14,03 ± 1,36	9,11 ± 1,03
Гипертермия:					
1-е сутки	48,42 ± 2,01*	26,48 ± 1,41*	15,25 ± 1,32*	11,17 ± 1,05*	7,28 ± 0,83*
3-и сутки	63,54 ± 1,98	29,34 ± 2,07	19,56 ± 1,50	13,38 ± 1,22	7,41 ± 1,04*
7-е сутки	71,28 ± 2,51*	38,19 ± 2,34*	18,79 ± 1,08	17,09 ± 1,77*	8,34 ± 1,63
14-е сутки	62,41 ± 3,02	35,76 ± 2,54*	17,23 ± 1,12	16,74 ± 1,34*	8,87 ± 1,76

Примечание. \* – отличие от величины соответствующего показателя группы контроля статистически значимо при  $p < 0,05$ .

Результаты исследования содержания субпопуляций лимфоцитов в периферической крови животных после общей гипертермии представлены в таблице. При анализе содержания лимфоцитов CD3+ в крови у экспериментальных животных были выявлены следующие изменения. На 1-е сутки наблюдения величина показателя статистически значимо снижалась, на 7-е сутки повышалась, в остальные сроки не отличалась от контрольных значений. Динамика содержания лимфоцитов CD4+ была следующей: в 1-е сутки постгипертермического периода оно уменьшалось на 20 %, на 3-и сутки не отличалось от контрольных значений, на 7-е сутки было максимально увеличено и к окончанию эксперимента (14-е сутки) несколько снизилось, в то же время оставаясь выше контрольных значений. При анализе содержания лимфоцитов CD8+ в крови экспериментальных животных в постгипертермическом периоде обнаружено его уменьшение на 1-е сутки, в остальные сроки наблюдения изучаемый показатель достоверно не отличался от контрольных значений.

У животных, подвергшихся воздействию общей гипертермии, в 1-е сутки наблюдения отмечалось снижение содержания лимфоцитов CD20+ в крови, на 3-и сутки изучаемый показатель не отличался от контрольных значений, с 7-х по 14-е сутки содержание лимфоцитов CD20+ было повышено. Содержание лимфоцитов CD16+ было снижено с 1-х по 3-и сутки постгипертермического периода, в остальные сроки наблюдения не отличалось от контрольных значений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, на 1-е сутки после воздействия общей гипертермии отмечается уменьшение содержания в крови относительного и абсолютного количества иммунокомпетентных клеток. Значительное снижение количества лим-

фоцитов в ранние сроки постгипертермического периода связано, по-видимому, с тем, что повышенные концентрации глюкокортикоидов при термическом стрессе вызывают апоптоз лимфоидных элементов [6], а катехоламины способствуют хоумингу лимфоцитов в ткани. К 3-м суткам после воздействия общей гипертермии относительное и абсолютное количество CD3+, CD4+, CD8+, CD16+ и CD20+ возвращалось к контрольному уровню. Это связано с рекрутированием лимфоцитов из костного мозга, где происходит интенсивное восстановление количественного и качественного состава клеток. Далее относительное и абсолютное количество лимфоцитов CD3+, CD4+, CD20+ продолжало возрастать, что может быть вызвано поступлением в кровь продуктов клеточной деструкции и внутриклеточных антигенов с последующей стимуляцией иммунной системы. Относительное содержание лимфоцитов CD8+ и CD16+ оставалось в пределах контрольных значений, но при этом абсолютное содержание данных субпопуляций лимфоцитов также повышалось.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева Л.И., Горанчук В.В., Столярова Н.А. и др. Метаболические и функциональные особенности срочной реакции организма человека на перегревание // Бюл. эксперим. биол. мед. 1999. (1). 19–23.
2. Баллюзек Ф.В., Баллюзек М.Ф., Виленский В.И. и др. Управляемая гипертермия. СПб.: Невский Диалект. 2001. 123 с.
3. Бирюков А.В., Хубулава Г.Г., Ларин И.А. и др. Операционная изолированная химиогипертермическая перфузия легкого с удалением легочных метастазов // Вестн. хирургии. 2010. (4). 12–16.
4. Литвицкий П.Ф. Нарушения теплового баланса организма: гипертермия, гипертермические реакции, тепловой удар, солнечный удар // Вопр. соврем. педиатрии. 2010. (1). 96–102.

5. Мардынский Ю.С., Курпешев О.К., Медведев В.С., Максимов С.А. Комбинированное лечение больных раком полости рта с использованием «условно-динамического» режима фракционирования лучевой терапии и локорегионарной гипертермии // Сибирское мед. обозрение. 2011. (1). 80–83.

6. Новиков В.С., Горанчук В.В., Шустов Е.Б. Физиология экстремальных состояний. СПб.: Наука, 1998. 247 с.

7. Осинский С.П. Гипертермия в клинической онкологии: современное состояние проблемы (по итогам 20-й ежегодной конференции Европейского общества гипертермической онкологии) // Онкология. 2002. 4. (4). 288–292.

8. Пат. 2165105 РФ. Способ экспериментального моделирования общей гипертермии у мелких лабораторных животных / А.В. Ефремов, Ю.В. Пахомова, Е.А. Пахомов и др.; опублик. 12.10.2001.

9. Симакова И.В. Особенности эндокринно-метаболического статуса у крыс в динамике общей

искусственной гипертермии: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Новосибирск, 2005.

10. Старченко В.В. Лихорадка и гипертермия // Новая аптека. 2009. (10). 24–27.

11. Шельгин Ю.А., Рыбаков Е.Г., Ревельский И.А., Алексеев М.В. Обоснованность применения интраоперационной внутритазовой химиотерапии в сочетании с гипертермией при лечении рака прямой кишки // Вопр. онкол. 2011. (2). 173–178.

12. Pech M., Wieners G., Freund T., Dudeck O. et al. MR-guided interstitial laser thermotherapy of colorectal liver metastases: efficiency, safety and patient survival // Eur. J. Med. Res. 2007. 12. (4). 161–168.

13. Peer A.J., Grimm M.J., Zynda E.R., Repasky E.A. Diverse immune mechanisms may contribute to the survival benefit seen in cancer patients receiving hyperthermia // Immunol. Res. 2010. 46. (1–3). 137–154.

14. Repasky E.A., Lee M. Complex effects of hyperthermia on the immune system and implications for cancer therapy // Abstract ICHO. 2008. 9.

## **DYNAMICS OF IMMUNOCOMPETENT CELLS IN BLOOD OF EXPERIMENTAL ANIMALS FOLLOWING THE APPLICATION OF THE GENERAL HYPERTHERMIA**

**Ivan Alekseevich KRIVOSHAPKIN, Anatoliy Vasil'evich EFREMOV, Elena Nikolaevna SAMSONOVA, Mariya Gennad'evna PUSTOVETOVA, Olga Nikolaevna LOGACHEVA, Sergey Nikolaevich ALEKSEENKO**

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

The determination of CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+ lymphocytes content in 60 male rats Wistar has been carried out. The decrease in number of immunocompetent cells has been revealed in the first day of post-hypothermic period with the restoration to the third day. Hereafter the number of Cd3 +, CD4 +, Cd20 + cells continued to rise. The content of CD4 + and CD16 + cells remained within the reference values.

**Key words:** immunocompetent cells, CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD20+ lymphocytes, general hyperthermia.

*Krivoshapkin I.A. – postgraduate student of the chair for physiopathology and clinical physiopathology, e-mail: decoivan@yandex.ru*

*Efremov A.V. – doctor of medical sciences, professor, corresponding member of the RAMS, head of chair for physiopathology and clinical physiopathology, e-mail: AVE 48@yandex.ru*

*Samsonova E.N. – doctor of medical sciences, professor, head of curriculum of the chair for physiopathology and clinical physiopathology, e-mail: Elena-samsonova@mail.ru*

*Pustovetova M.G. – doctor of medical sciences, professor of the chair for physiopathology and clinical physiopathology*

*Logacheva O.N. – postgraduate student of the chair for physiopathology and clinical physiopathology*

*Alekseenko S.N. – postgraduate student of the chair for physiopathology and clinical physiopathology*

**ДИНАМИКА СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ АКТИВНОСТИ В ПРОЦЕССЕ РЕГУЛЯЦИИ ПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ И ОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ЭМОЦИЙ**

**Сергей Валентинович ПАВЛОВ, Наталия Владимировна РЕВА,  
Константин Валерьевич ЛОКТЕВ, Владимир Викторович КОРЕНЕК,  
Алексей Вячеславович ТУМЯЛИС, Иван Викторович БРАК,  
Любомир Иванович АФТАНАС**

*ФГБУ НИИ физиологии и фундаментальной медицины СО РАМН  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 4*

Когнитивная переоценка, направленная на переосмысление эмоциогенного события с целью уменьшения или увеличения его эмоционального воздействия, является одной из наиболее эффективных стратегий управления эмоциями. Целью настоящего исследования было изучение модулирующих эффектов когнитивной переоценки на динамику сердечно-сосудистой активности в процессе восприятия эмоциогенных изображений. В зависимости от инструкции испытуемые либо просто внимательно рассматривали изображения (контрольное условие), либо произвольно ослабляли негативные эмоции при появлении негативных изображений, либо усиливали положительные эмоции при появлении позитивных изображений. Результаты исследования показали, что когнитивная переоценка негативных изображений характеризовалась более низкими значениями общего периферического сопротивления сосудов и более высокими значениями сердечного выброса по сравнению с контрольным условием в периоде ожидания стимула. Переоценка позитивных изображений сопровождалась гемодинамическими изменениями на ранних этапах их непосредственного восприятия, которые заключались в менее выраженном снижении частоты сердечных сокращений, сердечного выброса и артериального давления по сравнению с контрольным условием.

**Ключевые слова:** регуляция эмоций, динамика сердечно-сосудистой активности.

Проблема оптимальной адаптации индивида к окружающей среде в последние годы породила интерес к изучению механизмов управления эмоциональными состояниями. Эмоции, будучи важнейшим компонентом регуляции поведения, могут выполнять свои адаптивные функции только при адекватном восприятии стимулов внешней среды. Так, например, устойчивая тенденция к завышению мотивационной значимости негативных стимулов приводит к чрезмерной эмоциональной реактивности на авersive события и в конечном итоге к разбалансировке и ускоренному износу висцеральных систем и развитию ряда соматических заболеваний [11]. И, наоборот, нечувствительность к положительным подкрепляющим сигналам либо недооценка их значимости сопровождается сужением спектра положительных эмоций, а в экстремальных случаях – раз-

витием симптомов депрессии и ангедонии [4]. Таким образом, когнитивная оценка значимости поступающей эмоциональной информации в существенной степени определяет динамику и интенсивность последующего эмоционального ответа [10].

Одной из стратегий волевого управления эмоциональными реакциями является стратегия «когнитивной переоценки» («cognitive reappraisal»), основанная на реинтерпретации входящей эмоционально значимой информации, что позволяет индивиду воспринимать негативную ситуацию как менее негативную или, наоборот, усиливать положительные эмоции при слабopоложительном либо даже нейтральном входе [5]. Можно предположить, что переоценка эмоциональной значимости события помимо субъективного компонента эмоционального реагирования должна

*Павлов С.В. – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории психофизиологии, e-mail: pavlov@physiol.ru*

*Рева Н.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории психофизиологии, e-mail: n.v.reva@physiol.ru*

*Локтев К.В. – научный сотрудник лаборатории психофизиологии, e-mail: kvloktev@gmail.com*

*Коренек В.В. – научный сотрудник лаборатории психофизиологии, e-mail: v.v.korenyok@physiol.ru*

*Тумялис А.В. – научный сотрудник лаборатории психофизиологии, e-mail: a.v.tumyalis@physiol.ru*

*Брак И.В. – к.б.н., научный сотрудник лаборатории психофизиологии, e-mail: brack@physiol.ru*

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

оказывать существенное влияние и на динамику физиологических изменений, сопутствующих данному событию [8, 11]. Учитывая, что сердечно-сосудистая система особенно чувствительна к изменению аффекта, мы предположили, что метод когнитивной переоценки аверсивной информации будет способствовать более адаптивной кардиоваскулярной реакции на негативный стимул. Согласно биопсихосоциальной модели, адаптивный паттерн сердечно-сосудистой активности отражает эмоциональное состояние вызова и характеризуется увеличением частоты сердечных сокращений (ЧСС) и сократимости левого желудочка (СЛЖ) при одновременном снижении общего периферического сопротивления сосудов (ОПСС), что в итоге способствует увеличению сердечного выброса (СВ) и улучшению кровоснабжения тканей. Напротив, малоадаптивный паттерн, характерный для эмоционального состояния угрозы, характеризуется увеличением ОПСС, ведущей к снижению СВ и ухудшению перфузии тканей кровью [1].

Таким образом, цель настоящего исследования заключалась в изучении модулирующего влияния когнитивной переоценки на динамику ЧСС, среднего артериального давления (СрАД), ударного объема сердца (УО), СВ и ОПСС в процессе просмотра эмоциогенных изображений. Мы предположили, что когнитивная переоценка негативных изображений повлечет за собой ослабление выраженности ориентировочного кардиоваскулярного паттерна «угрозы» – редукцию ориентировочной брадикардии и менее выраженный прирост ОПСС и, как следствие, менее выраженное снижение СВ и АД на ранней стадии эмоционального ответа.

Важно отметить, что подавляющее большинство психофизиологических исследований произвольной эмоциональной регуляции было сосредоточено на негативных эмоциях. При этом имеются экспериментальные подтверждения тому, что переживание положительных эмоций ассоциируется со снижением уровня кортизола крови и улучшением иммунного статуса, а также с уменьшением риска развития сердечно-сосудистых заболеваний [3, 15]. Принимая во внимание вышеизложенное, мы включили в исследование позитивные эмоциональные изображения, с инструкцией усиливать положительные эмоции во время их просмотра. Опираясь на основные положения биопсихосоциальной модели, мы предположили, что кардиоваскулярные эффекты волевого усиления положительных эмоций будут нести в себе черты эмоциональной ситуации вызова, характеризующейся мотивацией приближения и позитивным аффектом, – усиление и увеличение

длительности второй фазы подъема ЧСС, а также более высокие значения УО и более низкие значения ОПСС и, как следствие более значительный СВ, чем при «нерегулируемом» восприятии стимулов.

Необходимо отметить, что до недавнего времени активность центральной и вегетативной нервной системы во время когнитивной регуляции эмоций изучалась только как реакция на актуальное эмоциогенное событие. Однако намерение регулировать предстоящие эмоции еще до появления эмоциогенного стимула также стало предметом психофизиологических исследований последних лет [2]. Поэтому кардиоваскулярная активность в периоды ожидания стимула, который необходимо переоценить, также явилась предметом нашего изучения. Мы предположили, что намерение ослабить негативные переживания будет приводить к снижению кардиоваскулярной активации в периоде ожидания и, наоборот, намерение усилить положительные эмоции – к увеличению кардиальной активности (преимущественно ЧСС), но не вазоконстрикции.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

**Испытуемые.** В исследовании приняли участие 52 нормотензивных мужчин-правшей в возрасте 20–38 лет ( $25,8 \pm 5,1$ ,  $M \pm SD$ ) с отсутствием в анамнезе сердечно-сосудистых, психиатрических заболеваний и заболеваний дыхательных путей и не принимающих каких-либо лекарственных препаратов. Все испытуемые дали письменное согласие на участие в исследовании.

**Стимулы.** Для исследования было отобрано 160 фотографий: 151 – с открытых веб-сайтов, 9 – из набора Международной системы аффективных изображений (IAPS) [9]. Были выбраны 32 эмоционально нейтральные, 64 негативные и 64 позитивные фотографии. Дополнительно были отобраны 14 фотографий для тренировочной сессии (2 позитивные, 2 негативные) и тренировочного блока (4 позитивные, 4 негативные, 2 нейтральные), которые не включались в основную исследовательскую процедуру.

**Исследуемые показатели.** *Субъективный отчет.* По окончании предъявления каждого изображения испытуемые оценивали свое эмоциональное впечатление по двум девятибалльным шкалам для знака эмоции («приятно – неприятно») и уровня эмоциональной активации («спокоен (а) – возбужден (а)»).

**Показатели сердечно-сосудистой активности.** Регистрацию активности сердечно-сосудистой системы оценивали с помощью специализированного гемодинамического монитора

Finometer (Finapres Medical System BV, Нидерланды), предназначенного для неинвазивного «поударного» измерения ряда гемодинамических показателей. Регистрировали значения среднего артериального давления СрАД, (мм рт. ст.), УО (мл), СВ (л/мин) и ОПСС ((мм рт. ст. × с)/мл). ЧСС (уд/мин) рассчитывали по пульсовому интервалу. Для анализа указанных показателей использовали программное обеспечение Beatscope 1.1 (Великобритания).

**Процедура исследования. Тренировочная сессия.** Перед подготовкой к регистрации физиологических показателей испытуемым предоставлялось детальное описание стратегий переоценки эмоциональных изображений и возможность самостоятельно поработать с несколькими изображениями. Для ослабления отрицательных эмоций во время просмотра негативных фотографий испытуемым рекомендовалось психологически отдалиться от запечатленных событий, рассматривать фотографию с позиции стороннего наблюдателя и воздерживаться от сопереживания изображенным на ней людям, испытывающим отрицательные эмоции. Для усиления положительных эмоций во время просмотра позитивных фотографий испытуемым предлагалось усилить собственное ощущение близости к изображенным событиям, живо вообразить себя вовлеченным в действия и попытаться пережить позитивные эмоции вместе с людьми, запечатленными на фотографии.

**Экспериментальная сессия.** После наложения сенсоров для регистрации физиологической активности проводилась регистрация состояния покоя с закрытыми (2 мин) и открытыми (5 мин) глазами. Затем испытуемые выполняли тренировочный блок, включавший 10 предъявлений изображений. Далее последовательно выполнялись 4 экспериментальных блока по 40 предъявлений с интервалами между блоками 3–5 минут. Цикл предъявлений состоял из четырех событий: сигнальное слово («Усиливайте», «Ослабляйте», «Смотрите»; длительность 2,5 с), изображение (нейтральное, негативное, позитивное; длительность 5 с), субъективный рейтинг (длительность 3–4 с), темный экран (длительность 2,5 с). «Смотреть» сочеталось со всеми типами эмоциональных изображений и означало простой просмотр без попыток контроля возникающих эмоций, тогда как «ослаблять» всегда относилось к негативным изображениям, а «усиливать» – к позитивным. Таким образом, всего было 5 условий предъявлений, объединенных в серии по 8 стимулов. Каждая фотография предъявлялась испытуемому только один раз. Порядок предъявления стимулов и принадлежность стимулов к заданию

(обычный просмотр/переоценка) были сбалансированы между сериями, блоками и испытуемыми.

**Анализ данных. Предварительная обработка данных.** «Поударные» значения СрАД, ЧСС, УО, СВ и ОПСС были усреднены для каждого типа предъявления в интервалах длительностью 500 мс на временном отрезке от –2500 мс перед началом предъявления изображения до 5000 мс после его предъявления. Таким образом, в анализе участвовало 15 временных периодов по 500 мс. Первые 5 периодов (от –2500 до 0 мс до начала предъявления) соответствовали периоду ожидания, а последние 10 – периоду просмотра (от 0 до 5000 мс после начала предъявления).

**Статистический анализ.** Сравнения субъективных рейтингов стимулов по шкалам знака эмоции и эмоциональной активации между всеми возможными парами экспериментальных условий были проведены с помощью двустороннего теста Стьюдента.

Сердечно-сосудистые эффекты переоценки негативных изображений проанализированы для каждого показателя с использованием двухфакторного дисперсионного анализа (ANOVA) по схеме: Экспериментальное условие (нейтральное, негативное–просмотр, негативное–переоценка) × Время (15 × 500 мс). Аналогичным образом были проанализированы эффекты переоценки позитивных изображений. Все результаты сравнений ANOVA скорректированы поправкой Гринхауса – Гейссера. Апостериорные сравнения выполнены посредством теста Тьюки.

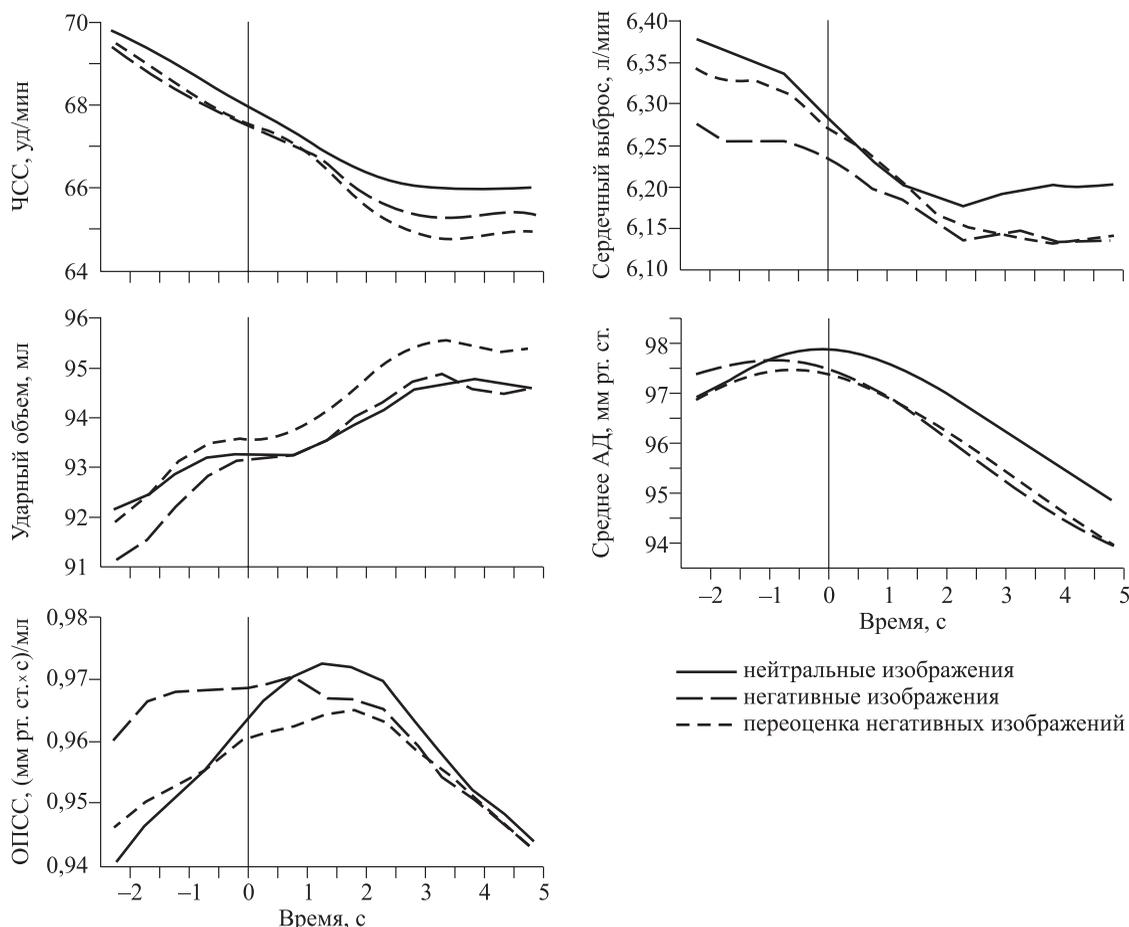
## РЕЗУЛЬТАТЫ

**Субъективный отчет.** При обычном просмотре значения по шкале знака эмоции для негативных изображений были ниже, чем для нейтральных ( $t = 15,1; p < 0,001$ ) и позитивных ( $t = 23,6; p < 0,001$ ), а для нейтральных ниже, чем для позитивных ( $t = -20,6; p < 0,001$ ). Выраженность эмоциональной активации не различалась для обоих типов эмоциогенных изображений в условиях обычного просмотра ( $t = -0,8; p > 0,39$ ) и была выше по сравнению с нейтральными изображениями (все  $t > 8,7$ ; все  $p < 0,001$ ). Позитивные изображения, подвергнутые переоценке, оценивались как более приятные ( $t = 8,1; p < 0,001$ ) и как вызывающие более выраженную эмоциональную активацию ( $t = 6,8; p < 0,001$ ) по сравнению с «нерегулируемым» условием. Негативные изображения, подвергнутые переоценке, оценивались как менее негативные ( $t = 3,2; p < 0,003$ ) и как вызывающие менее выраженную эмоциональную активацию ( $t = -3,9; p < 0,001$ ) по сравнению с «нерегулируемым» условием.

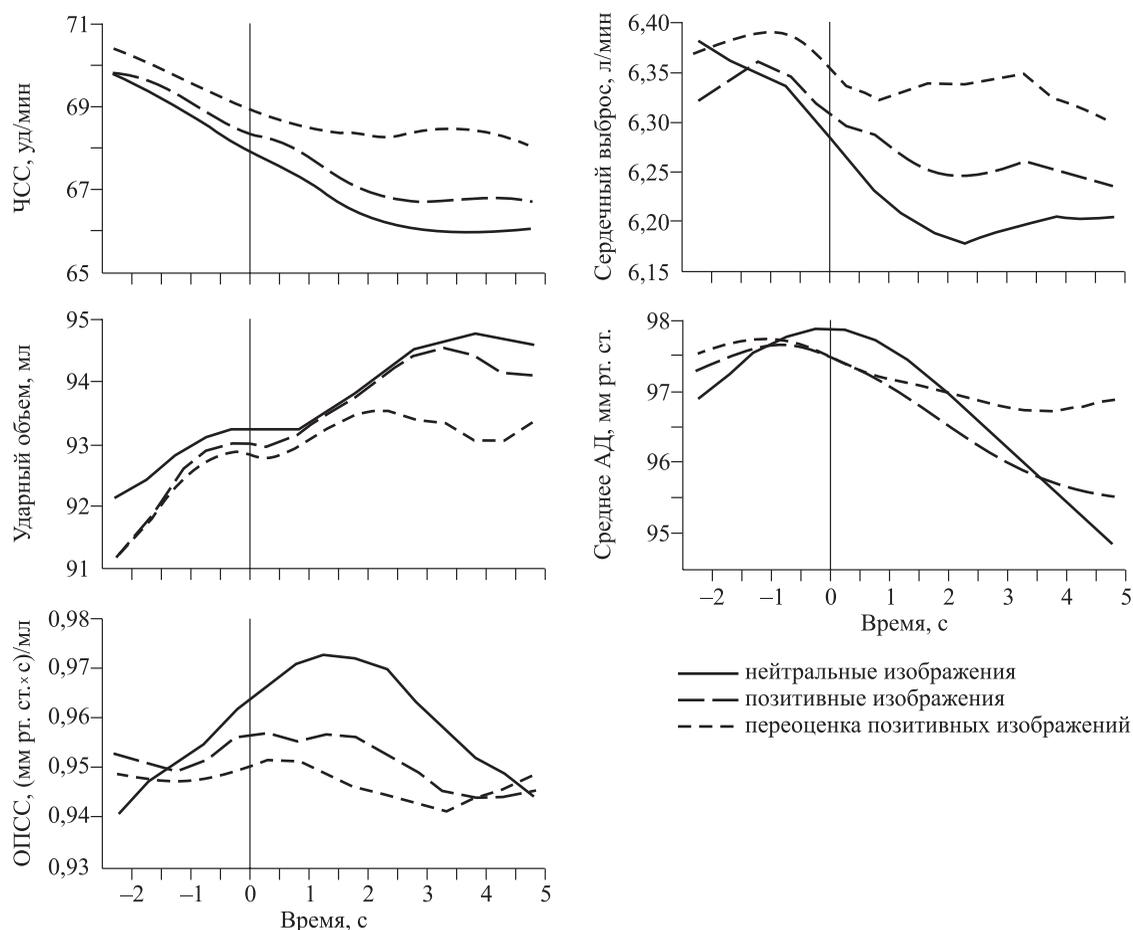
**Сердечно-сосудистые эффекты переоценки негативных изображений.** ANOVA обнаружил значимые взаимодействия Экспериментальное условие × Время для ЧСС ( $F(28,1428) = 2,81, p < 0,01$ ), УО ( $F(28,1428) = 2,21, p < 0,22$ ), ОПСС ( $F(28,1428) = 5,91, p < 0,001$ ), СВ ( $F(28,1428) = 3,23, p < 0,002$ ) и СрАД ( $F(28,1428) = 8,79, p < 0,001$ ) (рис. 1). Динамический анализ взаимодействий выявил более высокую величину ОПСС и более низкие уровни СВ и УО в периоде ожидания (от  $-2,5$  до  $-0,5$  с для ОПСС и СВ; от  $-2,5$  до  $-1$  с для УО; все  $p < 0,05$ ) негативных изображений по сравнению с нейтральными (все  $p < 0,001$ ). Намерение переоценить негативные изображения приводило к достоверному снижению ОПСС и повышению СВ и УО в периоде ожидания относительно «нерегулируемого» условия (все  $p < 0,05$ ), нивелируя тем самым различия с нейтральным экспериментальным условием (все  $p > 0,05$ ). В периоде просмотра оба негативных условия по сравнению с нейтральным ассоциировались с более низкими значениями ЧСС (от 2,5

до 5 с; все  $p < 0,05$ ), СВ (от 3,5 до 5 с; все  $p < 0,05$ ) и СрАД (от 0,5 до 5 с; все  $p < 0,05$ ) (все  $p > 0,05$ ). Переоценка негативных изображений сопровождалась более высокими значениями УО по сравнению с «нерегулируемым» условием в середине периода просмотра (от 2,5 до 4 с) (все  $p < 0,05$ ).

**Сердечно-сосудистые эффекты переоценки позитивных изображений.** ANOVA обнаружил значимые взаимодействия Экспериментальное условие × Время для ЧСС ( $F(28,1428) = 7,18, p < 0,001$ ), УО ( $F(28,1428) = 3,8, p < 0,001$ ), ОПСС ( $F(28,1428) = 7,99, p < 0,001$ ), СВ ( $F(28,1428) = 6,63, p < 0,001$ ) и СрАД ( $F(28,1428) = 13,88, p < 0,001$ ) (рис. 2). Динамический анализ взаимодействий показал, что процесс переоценки позитивных изображений ассоциировался с более высокими значениями ЧСС, СВ и СрАД и более низким УО в периоде просмотра по сравнению с «нерегулируемым» условием (временные периоды соответственно: 2–5 с, 1,5–5 с, 2–5 с, 2,5–5 с; все  $p < 0,05$ ) и по сравнению с нейтральными изображениями (временные периоды соответствен-



**Рис. 1.** Динамика сердечно-сосудистой активности в процессе ожидания (от  $-2,5$  до  $0$  с перед предъявлением) и непосредственного восприятия (от  $0$  до  $5$  с после предъявления) стимулов в экспериментальных условиях когнитивной переоценки (негативные изображения) и в «нерегулируемых» условиях (нейтральные и негативные изображения)



**Рис. 2.** Динамика сердечно-сосудистой активности в процессе ожидания (от –2,5 до 0 с перед предъявлением) и непосредственного восприятия (от 0 до 5 с после предъявления) стимулов в экспериментальных условиях когнитивной переоценки (позитивные изображения) и в «нерегулируемых» условиях (нейтральные и позитивные изображения)

но 0–5 с, 0–5 с, 3–5 с, 2,5–5 с; все  $p < 0,05$ ). ОПСС при этом было ниже для обоих позитивных условий по сравнению с нейтральным (от 0,5 до 3,5 с). Следует отметить, что «нерегулируемые» позитивные изображения, кроме более низкого ОПСС, не обнаружили существенных отличий при контрастировании с нейтральными условиями. Выявлены лишь точечные различия, указывающие на тенденцию к более высоким уровням ЧСС (от 3,5 до 4,5 с) и СВ (1,5, 2,5 и 3,5 с) по сравнению с нейтральным условием в периоде просмотра (все  $p < 0,05$ ).

### ОБСУЖДЕНИЕ

В режиме обычного «нерегулируемого» восприятия изображений вне зависимости от их эмоционального содержания имели место гемодинамические сдвиги, присущие ориентировочной реакции: наблюдалось сочетанное снижение ЧСС, СВ и СрАД, сопровождавшееся подъемом

УО и ОПСС во второй половине периода просмотра изображений. Ориентировочная брадикардия была наиболее выражена в ответ на негативные стимулы, сопровождаясь более низкими значениями СрАД и СВ в сравнении с остальными стимулами. Кроме того, ожидание негативного изображения характеризовалось более низким СВ и более высоким ОПСС по сравнению с нейтральными и позитивными стимулами. Гемодинамические изменения в процессе восприятия позитивных стимулов были достаточно умеренными по сравнению с другими стимулами за счет менее выраженного снижения ЧСС и отсутствия изменений ОПСС.

Основной гипотезой исследования в отношении негативных изображений был тезис, что их когнитивная переоценка должна приводить к снижению выраженности характерных кардиоваскулярных паттернов ориентировочной реакции на аверсивный стимул. Однако, несмотря на наши предположения, когнитивная переоцен-

ка негативных изображений повлияла только на период их ожидания: обнаружены более низкое ОПСС (снижение вазоконстрикции) и более высокие УО и СВ, чем при «нерегулируемом» ожидании негативных стимулов. Выявленное уменьшение вазоконстрикции в периоде антиципации может указывать на редукцию тревоги ожидания и свидетельствовать о запуске волевой регуляции эмоций уже в периоде ожидания аверсивного события. С физиологической точки зрения этот эффект, возможно, отражает перераспределение кровотока от внутренних органов к большим мышечным группам для более эффективной реализации реакций борьбы–бегства. Результаты нашего исследования согласуются с работой И. Маусс и коллег, показавших, что индивиды, склонные к переоценке негативных событий, в повседневной жизни демонстрировали больший СВ и УО при одновременно меньшем ОПСС в периоде, предшествовавшем аверсивному эмоциональному воздействию [12]. В другом исследовании наблюдался аналогичный гемодинамический паттерн, но уже при актуализации стратегии переоценки непосредственно в процессе выполнения стрессорной задачи [6].

Кардиоваскулярные эффекты переоценки позитивных изображений, т.е. намеренного усиления позитивного аффекта, проявились только в процессе непосредственного их восприятия и заключались в редукции ориентировочной брадикардии наряду с менее значительным снижением СВ и СрАД по сравнению с их «нерегулируемым» восприятием. Механизм данного эффекта, вероятнее всего, связан с параллельным усилением симпатoadреналовых влияний на сердце. Это предположение находит свое подтверждение в работах, посвященных вегетативным механизмам ориентировочной реакции, связавших ослабление ориентировочной брадикардии с возрастанием конкурирующих симпатических влияний на сердце [14]. А следствием ослабления ориентировочной брадикардии, вероятно, явилась редукция «ориентировочного» снижения СВ и СрАД.

Подводя итог, можно заключить, что когнитивные стратегии переоценки содержания аффективных изображений вызвали гемодинамические сдвиги как на этапе подготовки к их переоценке, так и при их непосредственном восприятии в зависимости от эмоционального знака стимула и направленности регуляции (ослабление или усиление аффекта). Результаты, касающиеся переоценки негативных изображений, представляются нам особенно важными в силу практически полного отсутствия сведений о гемодинамических эффектах эмоциональной регуляции в периоде ожидания аверсивных стимулов. В то же

время именно состояние ожидания возможной угрозы имеет существенное значение в реальной жизни человека и способно стать симптомом различных форм психопатологии (панического расстройства, генерализованного тревожного расстройства, социофобии и т.д.), многие из которых ассоциируются с сердечно-сосудистыми нарушениями [7, 13]. Результаты переоценки позитивных стимулов позволяют нам предполагать, что произвольное усиление позитивного аффекта не только в эмоционально позитивной или нейтральной, но даже в стрессовой ситуации (например, восприятие определенных аспектов негативной ситуации с некоторой долей юмора) будет уменьшать не только спонтанно возникающий негативный аффект, но и гемодинамические «издержки» (брадикардия, снижение артериального давления и сердечного выброса) ориентировочной реакции на аверсивный стимул.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Blascovich J.* Challenge and threat // Handbook of approach and avoidance motivation / Ed. A.J. Elliot. Mahwah: Lawrence Erlbaum Associates, 2008.
2. *Denny B.T., Ochsner K.N., Weber J., Wager T.D.* Anticipatory brain activity predicts the success or failure of subsequent emotion regulation // Soc. Cogn. Affect. Neurosci. 2013. doi: 10.1093/scan/nss148.
3. *Dockray S., Steptoe A.* Positive affect and psychobiological processes // Neurosci. Biobehav. Rev. 2010. 35. 69–75.
4. *Fredrickson B.L.* Cultivating positive emotions to optimize health and well-being // Prev. Treat. 2000. 3. ID 0001a.
5. *Gross J.J.* Emotion regulation: affective, cognitive, and social consequences // Psychophysiology. 2002. 39. 281–291.
6. *Jamieson J.P., Nock M.K., Mendes W.B.* Mind over matter: reappraising arousal improves cardiovascular and cognitive responses to stress // J. Exp. Psychol. Gen. 2012. 141. 417–422.
7. *Kupper N., Pedersen S.S., Hofer S. et al.* Cross-cultural analysis of Type D (distressed) personality in 6222 patients with ischemic heart disease: a study from the International HeartQoL Project // Int. J. Cardiol. 2013. 166. 327–333.
8. *Lane R.D., Waldstein S.R., Critchley H.D. et al.* The rebirth of neuroscience in psychosomatic medicine, Part II: clinical applications and implications for research // Psychosom. Med. 2009. 71. 135–151.
9. *Lang P.J., Bradley M.M., Cuthbert B.N.* International Affective Picture System IAPS: Technical manual and affective ratings. The Center for Research in Psychophysiology. Gainesville: University of Florida, 1999.

10. Lazarus R.S. Coping theory and research: past, present, and future // *Psychosom. Med.* 1993. 55. 234–247.
11. Lovallo W.R. Cardiovascular responses to stress and disease outcomes: a test of the reactivity hypothesis // *Hypertension.* 2010. 55. 842–843.
12. Mauss I.B., Cook C.L., Cheng J.Y., Gross J.J. Individual differences in cognitive reappraisal: experiential and physiological responses to an anger provocation // *Int. J. Psychophysiol.* 2007. 66. 116–124.
13. Player M.S., Peterson L.E. Anxiety disorders, hypertension, and cardiovascular risk: a review // *Int. J. Psychiatry Med.* 2011. 41. 365–377.
14. Sokolov E.N., Cacioppo J.T. Orienting and defense reflexes: Vector coding the cardiac response // *Attention and orienting: Sensory and motivational processes.* Eds. P.J. Lang, R.F. Simons, M.T. Balaban. Mahwah: Erlbaum, 1997. 1–22.
15. Tindle H., Davis E., Kuller L. Attitudes and cardiovascular disease // *Maturitas.* 2010. 67. 108–113

## DYNAMICAL ASPECTS OF EMOTION REGULATION: CARDIOVASCULAR CONSEQUENCES OF COGNITIVE REAPPRAISAL

**Sergei Valentinovich PAVLOV, Natalia Vladimirovna REVA,  
Konstantin Valerievich LOKTEV, Vladimir Victorovich KORENYOK,  
Alexey Vyacheslavovich TUMYALIS, Ivan Victorovich BRACK,  
Ljubomir Ivanovich AFTANAS**

*Research Institute of Physiology and Basic Medicine SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 4*

This study examines the effects of cognitive reappraisal on the cardiovascular response to affective stimuli. Participants (N = 52) were shown affective images and were asked either to attend to the images, or to down-regulate negative affect through reappraisal of negative images or up-regulate positive affect through reappraisal of positive images while continuous measures of cardiovascular activity were recorded. Reappraisal of negative images was associated with lower total peripheral resistance and larger cardiac output in the anticipatory period in comparison to their natural viewing. Reappraisal of positive images was associated with reduced heart rate, cardiac output and mean blood pressure decrease in the viewing period in comparison to their natural viewing. The results indicate that cognitive reappraisal engenders adaptive hemodynamic profiles both during anticipation and at early stages of the central processing of affective events.

**Key words:** emotion regulation, cardiovascular dynamic.

*Pavlov S.V. – candidate of medical sciences, senior research scientist of psychophysiology laboratory,  
e-mail: pavlov@physiol.ru*

*Reva N.V. – candidate of biological sciences, senior research scientist of psychophysiology laboratory,  
e-mail: n.v.reva@physiol.ru*

*Loktev K.V. – researcher, psychophysiology laboratory, e-mail: kvloktev@gmail.com*

*Korenyok V.V. – researcher of psychophysiology laboratory, e-mail: v.v.korenyok@physiol.ru*

*Tumyalis A.V. – researcher, psychophysiology laboratory, e-mail: a.v.tumyalis@physiol.ru*

*Brack I.V. – candidate of biological sciences, researcher of psychophysiology laboratory,  
e-mail: brack@physiol.ru*

*Aftanas L.I. – doctor of medical sciences, academician of RAMS, head of the laboratory of psychophysiology,  
e-mail: l.aftanas@physiol.ru*

## ПРОГНОСТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ ПОЛИМОРФИЗМА ГЕНОВ-РЕГУЛЯТОРОВ ЛИМФАНГИОГЕНЕЗА В ОЦЕНКЕ СОСТОЯНИЯ ЗДОРОВЬЯ ЧЕЛОВЕКА

Владимир Иосифович КОНЕНКОВ, Виктор Федорович ПРОКОФЬЕВ,  
Алла Владимировна ШЕВЧЕНКО

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

Цель исследования – анализ частоты встречаемости генотипов VEGF (vascular endothelial growth factor) в двух полиморфных позициях регуляторной области гена в сочетании с генотипами других ангиогенных цитокинов и металлопротеаз в группах практически здоровых лиц различного возраста. Исследовался однонуклеотидный полиморфизм промоторного региона генов *TNFA* –863 C → A, *TNFA* –308 G → A, *TNFA* –238 G → A, *IL1β* –511 T → C, *IL1β* –31 C → T, *IL-4* –590 C → T, *IL-6* –174 G → C, *IL-10* –1082 G → A и *IL-10* –592 A → C, генов матричных металлопротеаз *MMP2* –1306 C → T, *MMP9* –1562 C → T и факторов роста сосудистого эндотелия *VEGF* –2578 A → C и *VEGF* +936 C → T. При статистическом анализе результатов исследований использовали такие показатели, как частота встречаемости генов, генотипов и их комбинаций, специфичность, отношение шансов с расчетом 95%-го доверительного интервала. Внутри группы обследованных, в которую вошли 219 человек, сопоставили исследуемые признаки в подгруппах лиц молодого возраста (менее 35 лет – 103 человека) и лиц старшего возраста (55 лет и более – 116 человек). Установлено, что среди лиц старшего возраста полностью отсутствует целый ряд комбинированных генетических признаков, включающих генотипы *VEGF* и представленных гомозиготными вариантами полиморфных участков генов цитокинов, с высокой частотой встречающихся в группе молодых лиц. Частота других, более распространенных среди молодых лиц генетических комбинаций, значительно (в несколько раз) снижена. В этой группе комбинированных генетических признаков, частота которых уменьшается с возрастом, наиболее часто выявляются варианты AC и CC в полиморфных позициях гена *VEGF* –2578 и *VEGF* +936, ассоциированные с высокими уровнями продукции фактора роста сосудистого эндотелия. Можно предположить, что само наличие таких комбинаций генотипов в геноме молодого человека является неблагоприятным прогностическим признаком, указывающим на непродолжительный срок жизни данного индивида, что, вероятно, позволяет судить о низком уровне состояния его здоровья и служит основанием для включения его в группу высокого риска развития заболеваний.

**Ключевые слова:** однонуклеотидный полиморфизм промоторного региона гена, гены цитокинов, фактора роста сосудистого эндотелия, лимфангиогенез, генетика продолжительности жизни человека.

Нарушения функционирования лимфатической сосудистой системы, параллельной кровеносной, при заболеваниях различной природы до настоящего времени исследованы явно недостаточно. Столь же недостаточно исследовано функциональное значение межклеточных взаимодействий в тесно ассоциированных с лимфатической сосудистой и капиллярной сетью многочисленных лимфоидных органов и лимфоидных скоплений, непосредственно прилежащих к очагам патологических изменений в тканях. Вместе с тем нарушения нормального тканевого лимфотока лежат в основе всех патологических процессов, инициируя цепь событий, приводящих к локаль-

ному отеку, тканевой гипоксии, индуцирующей продукцию тканевыми макрофагами каскада цитокинов, киназных и протеазных ферментов, рецепторов и ростовых факторов, внутриклеточных транспортеров, процессов фосфорилирования и т.п. Все эти каскадные события на тканевом уровне приводят к активации процессов воспаления, неоангиогенеза и лимфангиогенеза, определяющих в конечном итоге клиническую картину заболевания [1].

Имея конечной целью создание новых медицинских технологий адресной коррекции этих процессов, на первый план выходит исследование двух ключевых моментов: клеточных процес-

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

Прокофьев В.Ф. – к.м.н., ведущий научный сотрудник

Шевченко А.В. – к.б.н., старший научный сотрудник лаборатории клинической иммуногенетики, e-mail: shalla64@mail.ru

сов воспаления и ангиогенеза и их гуморальной регуляции. По первому направлению основное внимание сейчас справедливо уделяется процессам клеточной дифференцировки и передифференцировки клеток-предшественников, а по второму направлению – факторам роста сосудистого эндотелия и их рецепторам на клеточной мембране [2, 5, 31].

Ангиогенез представляет собой образование новых капилляров из ранее существующих путем миграции и пролиферации дифференцированных эндотелиальных клеток. Данный процесс протекает в несколько этапов и включает активацию эндотелиальных клеток, экспрессию в них протеаз, растворение базальной мембраны, миграцию эндотелиоцитов из стенок сосудов через периваскулярную ткань по направлению к ангиогенному стимулу, образование первичных высокопроницаемых сосудистых структур, последующую стабилизацию и «взросление» этих структур за счет привлечения перицитов и гладкомышечных клеток и организации их в сложную трехмерную сосудистую сеть. В процессе ангиогенеза взаимодействуют компоненты клеточного матрикса, растворимые факторы и клетки. Основным стимулом к ангиогенезу при физиологических и патологических состояниях является недостаток кислорода (гипоксия или ишемия), который через индуцируемый гипоксией фактор-1 (HIF-1) индуцирует экспрессию многих ангиогенов, прежде всего фактора роста эндотелия сосудов (VEGF, vascular endothelial growth factor) и его рецепторов (VEGFR1 и VEGFR2). VEGF избирательно стимулирует пролиферацию и миграцию эндотелиальных клеток, их предшественников и моноцитов, увеличивает сосудистую проницаемость, способствует вазодилатации через усиление продукции оксида азота NO. В процессе стабилизации и «взросления» вновь образованной незрелой сосудистой сети участвуют тромбоцитарный фактор роста (PDGF), трансформирующий фактор роста  $\beta$  (TGF- $\beta$ ), фактор роста фибробластов (FGF), ангиопоэтины и другие факторы [4].

Ремоделирование сосудов в физиологических и патологических условиях контролируется балансом между активаторами ангиогенеза и его ингибиторами. Недостаточный адаптивный ангиогенез, обусловленный снижением продукции активаторов либо увеличением синтеза ингибиторов, может способствовать нарастанию тяжести ишемических заболеваний сердечно-сосудистой системы: ИБС, ишемии нижних конечностей [3].

В настоящее время доказано, что новые сосуды в постнатальном периоде могут образовываться не только из ранее существующих сосудов, но и *de novo* из гемопоэтических клеток. Важнейшую

роль в васкулогенезе играют эндотелиальные прогениторные клетки (ЭПК). ЭПК представляют собой гетерогенную популяцию, характеризующуюся экспрессией различных маркеров клеток гематопоэтического (CD14, CD34, CD133) и эндотелиального (VEGFR2, CD31, CD144, фактор Виллебранда) ряда и могут быть идентифицированы в составе мононуклеарных клеток путем сортировки по набору поверхностных антигенов или при культивировании *in vitro*. Вопрос о том, какие маркеры в наибольшей степени выявляют истинные ЭПК, остается дискуссионным [20, 28, 35].

Источниками ЭПК служат костный мозг, мезенхимальные предшественники, тканевые резидентные клетки. При возникновении ишемии или повреждении эндотелия ЭПК могут быть мобилизованы в кровотоки. Стимуляторами рекрутирования ЭПК из костного мозга выступают гранулоцитарный и гранулоцитарно-макрофагальный колониестимулирующие факторы (G-CSF и GM-CSF), VEGF, ангиопоэтин-1, эритропоэтин и другие регуляторы. Поступившие в кровотоки ЭПК мигрируют в зону повреждения, накапливаются в ней и дифференцируются в эндотелиоциты. Сеть эндотелиальных клеток, создаваемая васкулогенезом, в дальнейшем служит каркасом для ангиогенеза. Показано, что под воздействием VEGF-A и VEGF-C мезенхимальные стволовые клетки при культивировании дифференцируются не только в остециты и адипоциты, но и в клетки эндотелия лимфатических сосудов, несущие специфический маркер лимфатического эндотелия LYVE-1 [39].

VEGF – семейство структурно близких между собой белков, которые совместно с рецепторами играют существенную роль в развитии и регуляции деятельности кровеносных и лимфатических сосудов. VEGF подразделяют на VEGF-A, B, C, D, E, плацентарные факторы роста (PlGF 1 и PlGF 2). VEGFR-1, 2, 3 – трансмембранные тирозинкиназные рецепторы, которые связывает лиганд VEGF. VEGFR-1 (Flt-1) и VEGFR-2 (KDR/Flk-1) экспрессируются эндотелиальными клетками, в то время как VEGFR-3 (Flt-4) – клетками лимфатического и сосудистого эндотелия [6]. VEGFR-2, как полагают, преимущественно отвечает за ангиогенез и быстрый рост эндотелиальных клеток [18].

VEGF-A влияет на ангиогенез и выживание незрелых кровеносных сосудов (сосудистая поддержка), связываясь с двумя близкими по строению рецепторами VEGFR-1 и VEGFR-2 и активируя их. Кроме того, VEGFA – не только главный стимулятор ангиогенеза, но и лимфангиогенный фактор. VEGF-B регулирует деградацию внекле-

точного матрикса, клеточную адгезию и миграцию, принимает участие в ангиогенезе, но ответственен не за рост сосудов, а за их «выживание». VEGF-C и VEGF-D участвуют главным образом в лимфангиогенезе [38], специфическим рецептором для них служит белок VEGFR3. VEGF-E – единственный известный лиганд, активирующий VEGFR-2, но не VEGFR-1 или 3. Установлено, что VEGFR-2 и VEGFR-3 принимают участие в регуляции как ангиогенеза, так и лимфангиогенеза.

Экспрессия VEGF стимулируется множеством проангиогенных факторов, включая эпидермальный ростовой фактор, основной фибробластный ростовой фактор, тромбоцитарный ростовой фактор, интерлейкин-1 $\beta$ , и факторами внешней среды, такими как рН, давление и концентрация кислорода. Подобное влияние заключается в опосредованной через VEGF стимуляции важных для ангиогенеза и лимфангиогенеза факторов, включая антиапоптотические белки, молекулы клеточной адгезии и металлопротеиназы. Продукция VEGF в ответ на стандартные стимулы у разных людей варьирует, причем в популяции встречаются стабильные низко- или высокопродуцирующие фенотипы при неизменной структуре синтезируемого белка.

На сегодняшний день с особенностями функционального полиморфизма генов *VEGF* и *VEGFR* связывают развитие, характер и особенности течения многих патологий, так или иначе связанных с ангио- и лимфангиогенезом. Основной интерес направлен на онкопатологию, есть ограниченные данные о генетических особенностях пациентов с кардиопатологиями и диабетическими ретинопатиями, с аутоиммунными патологиями, вторичной и первичной лимфедемой.

Продемонстрировано влияние полиморфизмов С–2578А, G–1154А, T–460С, С+936Т, картированных в регуляторных областях гена *VEGF*, на уровень его экспрессии и содержание медиатора в плазме крови здоровых доноров и больных раком молочной железы, лейомиомой, раком желудка и кишечника; показана их ассоциированность с агрессивностью роста опухоли, рецидивами, метастазированием и выживаемостью [22].

Ассоциированность продолжительности жизни с отдельными генами неоднократно была доказана при анализе различных генетических систем. Так, при сотрудничестве исследователей 11 европейских стран в рамках международного проекта Genetics of Healthy Aging (ГЕНА) при исследовании более 2000 тысяч неродственных европеоидов была доказана достоверная связь продолжительности жизни с генами rs4420638 [13]. Были предприняты попытки оценить зна-

чимость в процессах долголетия человека различных полиморфизмов VEGF и генов цитокинов (*IL1*, *IL6*, *IL10*, *TNFA*, *TGFB* и др.) [15, 17], которые или не дали однозначных результатов, или обладали низкой прогностической значимостью, на наш взгляд, ввиду того, что при анализе были использованы расчеты ассоциированности с отдельными аллелями и генотипами, а не с различными вариантами комплексных генетических признаков.

Целью настоящего исследования послужил анализ частоты встречаемости генотипов *VEGF* в двух полиморфных позициях регуляторной области гена в сочетании с генотипами других ангиогенных цитокинов и металлопротеаз у практически здоровых лиц различного возраста.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании участвовала группа из 219 практически здоровых лиц (по данным устных опросов), длительное время проживающих на территории Сибирского федерального округа, европеоидной внешности, идентифицирующих себя, своих родителей и предков как русских, языком общения которых является русский. Среди обследованных было 67 мужчин и 152 женщины молодого возраста (менее 35 лет – 103 человека) и старшего возраста (55 лет и более – 116 человек). Данные подгруппы были выделены с помощью квантильного подхода из общей группы обследованных, численность которой составляла 531 человек. Для наглядности мы исключили из сравнительного генетического анализа две средние возрастные декады (35–44 и 45–54 лет). Работа проведена с соблюдением принципов добровольности и конфиденциальности, получено разрешение локального Этического комитета.

Исследовался однонуклеотидный полиморфизм (SNP, single nucleotide polymorphism) промоторного региона генов *TNFA* –863 C  $\rightarrow$  A, *TNFA* –308 G  $\rightarrow$  A, *TNFA* –238 G  $\rightarrow$  A, *IL1 $\beta$*  –511 T  $\rightarrow$  C, *IL1 $\beta$*  –31 C  $\rightarrow$  T, *IL-4* –590 C  $\rightarrow$  T, *IL-6* –174 G  $\rightarrow$  C, *IL-10* –1082 G  $\rightarrow$  A и *IL-10* –592 A  $\rightarrow$  C, генов матричных металлопротеаз *MMP2* –1306 C  $\rightarrow$  T, *MMP9* –1562 C  $\rightarrow$  T и факторов роста сосудистого эндотелия *VEGF* –2578 A  $\rightarrow$  C и *VEGF* +936 C  $\rightarrow$  T. Генотипирование осуществляли методом рестриктного анализа продуктов амплификации (RFLP, restriction fragment length polymorphism). Участки промоторного региона генов амплифицировали с использованием пары специфичных праймеров, затем продукты амплификации подвергали гидролизу соответствующими эндонуклеазами рестрикции

(«СибЭнзим», Новосибирск). Электрофорез проводили в 2%-м агарозном геле [7–9, 33, 37].

При статистическом анализе результатов исследований использовали такие показатели, как частота встречаемости генов, генотипов и их комбинаций, специфичность (вероятность отрицательного результата диагностического теста в отсутствие изучаемого признака), отношение шансов (OR, odds ratio – отношение шансов события в одной группе к шансам этого же события в другой группе) с расчетом 95%-го доверительного интервала (CI 95%, 95% confidence interval). Частоту аллелей генов цитокинов вычисляли методом прямого подсчета по формуле:  $f = n/2N$ , где  $n$  – количество раз встречаемости аллеля (у гомозигот он учитывался дважды);  $2N$  – удвоенная численность обследованных. Частоту встречаемости отдельных генотипов и их комбинаций определяли как процентное отношение индивидов, несущих генотип (комбинацию генотипов), к общему числу обследованных в группе по формуле:  $f = n/N$ , где  $n$  – количество раз встречаемости генотипа (комбинации);  $N$  – численность обследованных. Распределение генотипов по исследованным полиморфным локусам проверяли на соответствие равновесию Харди–Вайнберга. Достоверность различий частот распределения изучаемых признаков при сравнении в группах обследованных определяли по двустороннему варианту точного метода Фишера для четырехпольных таблиц.

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

В результате проведенного сравнительного анализа частоты встречаемости всех комбинаций генотипов исследуемых генов в группах «молодых» и «пожилых» лиц нами получены данные (см. таблицу), из которых следует, что среди людей старшего возраста полностью отсутствует целый ряд комбинированных генетических признаков, включающих генотипы *VEGF* и представленных гомозиготными вариантами полиморфных участков генов цитокинов, которые встречаются с различной частотой в группе молодых лиц. Частота других, более распространенных среди молодых лиц генетических комбинаций, значительно (в несколько раз) снижена.

В группе комбинированных генетических признаков, частота которых уменьшается с возрастом, наиболее часто выявляются варианты АС и СС в полиморфных позициях гена *VEGF* –2578 и *VEGF* +936, ассоциированные с высокими уровнями продукции фактора роста сосудистого эндотелия [33, 37]. В одной, из близких к нашей, работе, исследовавшей особенности распределе-

**Таблица**

*Возрастная динамика частоты встречаемости вариантов цитокиновых генетических сетей среди здоровых жителей России*

Сеть полиморфизмов генов цитокинов	Генотип	Молодые	Пожилые	OR	CI 95%
TNF-863:TNF-308:IL10-1082:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GG-AG-CA-CC-TC	44,44	0,00	72,82	3.44–1542.42
TNF-308:TNF-238:IL10-1082:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GG-AG-CA-CC-TC	44,44	0,00	72,82	3.44–1542.42
TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-1082:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GG-GG-AG-CA-CC-TC	44,44	0,00	72,82	3.44–1542.42
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:VEGF2578:MMP9-1562	GG-GC-AG-CA-CC	36,36	0,00	59,40	2.90–1218.45
TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-1082:VEGF2578:MMP9-1562	GG-GG-GC-AG-CA-CC	36,36	0,00	59,40	2.90–1218.45
TNF-863:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GG-CA-CA-CC-TC	25,00	0,00	51,95	2.49–1085.63
TNF-308:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GG-CA-CA-CC-TC	25,00	0,00	51,95	2.49–1085.63
TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GC-CA-CA-CC-TC	25,00	0,00	51,95	2.49–1085.63
TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GG-GG-CA-CA-CC-TC	25,00	0,00	51,95	2.49–1085.63
TNF-863:TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GG-GC-CA-CA-CC-TC	25,00	0,00	51,95	2.49–1085.63
TNF-863:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP9-1562	CC-GG-CA-CA-CC-TC-CC	25,00	0,00	51,95	2.49–1085.63
TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GG-GC-CA-CA-CC-TC	25,00	0,00	51,95	2.49–1085.63
TNF-308:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GG-CA-CA-CC-TC-CC	25,00	0,00	51,95	2.49–1085.63

TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306:MMP9-1562	GG-GC-CA-CA-CC-TC-CC	25,00	0,00	51,95	2,49–1085,63
TNF-863:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	CC-GG-CA-CA-TC	23,08	0,00	51,00	2,46–1058,35
TNF-308:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	GG-GG-CA-CA-TC	23,08	0,00	51,00	2,46–1058,35
TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	GG-GC-CA-CA-TC	23,08	0,00	51,00	2,46–1058,35
TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	CC-GG-GG-CA-CA-TC	23,08	0,00	51,00	2,46–1058,35
TNF-863:TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	CC-GG-GC-CA-CA-TC	23,08	0,00	51,00	2,46–1058,35
TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	GG-GG-GC-CA-CA-TC	23,08	0,00	51,00	2,46–1058,35
TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	CC-GG-GG-GC-CA-CA-TC	23,08	0,00	51,00	2,46–1058,35
TNF-863:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	CC-GG-GC-CA-CA-TC	23,08	0,00	50,33	2,43–1044,63
TNF-308:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	GG-GG-CA-CA-TC-CC	23,08	0,00	50,33	2,43–1044,63
TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306	GG-GC-CA-CA-TC-CC	23,08	0,00	50,33	2,43–1044,63
TNF-863:TNF-308:TNF-238:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306:MMP9-1562	CC-GG-GG-CA-CA-TC-CC	23,08	0,00	50,33	2,43–1044,63
TNF-863:TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306:MMP9-1562	CC-GG-GC-CA-CA-TC-CC	23,08	0,00	50,33	2,43–1044,63
TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-592:VEGF2578:MMP2-1306:MMP9-1562	GG-GG-GC-CA-CA-TC-CC	23,08	0,00	50,33	2,43–1044,63
IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-863:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-863:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	GC-AG-CA-CC-TC-CC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-863:TNF-308:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-863:TNF-238:IL6-174:IL10-1082:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	CC-GC-AG-CA-CC-TC-CC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-863:TNF-238:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-308:TNF-238:IL6-174:IL10-1082:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-863:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:IL10-592:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	50,08	2,31–1083,95
IL10-1082:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	AG-CA-CA-CC-TC	33,33	0,00	47,92	2,21–1037,95
TNF-863:IL10-1082:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	CC-AG-CA-CA-CC-TC	33,33	0,00	47,92	2,21–1037,95
TNF-308:IL6-174:IL10-1082:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-GC-AG-CA-CC-TC	33,33	0,00	47,92	2,21–1037,95
TNF-863:IL10-1082:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-AG-CA-CA-CC-TC	33,33	0,00	47,92	2,21–1037,95
TNF-308:IL10-1082:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-AG-CA-CC-TC-CC	33,33	0,00	47,92	2,21–1037,95
TNF-238:IL10-1082:IL10-592:VEGF2578:VEGF-936:MMP2-1306	GG-AG-CA-CA-CC-TC	33,33	0,00	47,92	2,21–1037,95

Примечание. В столбцах «Молодые» и «Пожилые» представлены частоты встречаемости данного признака в группе в процентах; в таблице приведены значения, уровень достоверности различий которых по двустороннему критерию точного метода Фишера  $p < 0,001$ .

ния 4 полиморфизмов гена *VEGF* у молодых и пожилых итальянцев [17], также выявлена связь различных генотипов с продолжительностью жизни. В частности, относительно полиморфизма *VEGF* –2578 авторами показано наличие статистически значимого изменения с возрастом частот гомозиготных генотипов (AA и CC), тогда как в нашей выборке с возрастом достоверно падает частота гетерозиготных генотипов AC (68,1 % у «молодых» и 50,0 % у «пожилых» лиц,  $p = 0,0129$ ) и нарастает (статистически не значимо) число гомозиготных генотипов AA (соответственно 12,1 и 21,6 %) и CC (соответственно 19,8 и 28,4 %). Во всех случаях значения специфичности по всем вариантам указанных генотипов не превышали 78 %, что свидетельствует об их низкой прогностической ценности в отличие от комбинированных генетических признаков, специфичность которых, по нашим данным, достигает 95–100 %.

В группе прогностически неблагоприятных комбинаций генотипов наиболее распространены гомозиготные генотипы *TT* гена *IL1B* в позиции полиморфизма *T–31C* и генотип *CC* гена *IL10* в позиции полиморфизма *A–592C*. По некоторым данным, оба этих полиморфизма ассоциируются с повышенным синтезом клетками человека самих цитокинов интерлейкина-1 и интерлейкина-10, обладающих соответственно провоспалительной, проангиогенной и противовоспалительной, противоангиогенной активностями [10, 14]. Такой относительный «регуляторный дисбаланс», при котором в геноме человека одновременно присутствуют генотипы, ассоциированные с гиперпродукцией цитокинов с противоположными свойствами, может служить одним из факторов редкого дожития носителей таких комбинаций генотипов *VEGF* до старшего возраста.

Можно с уверенностью предположить, что само наличие таких комбинаций генотипов в геноме молодого человека является неблагоприятным прогностическим признаком, указывающим на непродолжительный срок жизни данного индивида, что, вероятно, позволяет судить о низком уровне его здоровья и служить основанием для включения его в группу высокого риска развития заболеваний. Формирование групп повышенного риска по такого рода генетическим критериям позволит применять программы общеукрепляющих профилактических мероприятий не для всего населения, а лишь для лиц с низким потенциалом здоровья, что может существенно снизить масштаб потребности во всеобщей диспансеризации населения и персонализировать ее направленность. Проведение генетических обследований человека возможно на самых ранних этапах жизни, что позволяет отнести данного индиви-

да в группу для диспансерного наблюдения для углубленного обследования, ранней доклинической диагностики и выполнения направленных профилактических мероприятий. Подобные сведения могут быть занесены в индивидуальную электронную медицинскую карту человека, способствовать выбору рационального образа жизни и профессиональной ориентации.

Открытие роли нарушений ангиогенеза и васкулогенеза в развитии сосудистых осложнений поставило вопрос о возможностях их коррекции с помощью традиционных и новых методов терапии.

Установлено, что регулярные физические нагрузки способны увеличивать количество циркулирующих ЭПК и улучшать их ангиогенную функцию у больных с атеросклерозом нижних конечностей [36]. По предварительным данным, терапия аторвастатином повышает содержание ЭПК в крови больных сахарным диабетом 2-го типа [24]. Комплексное лечение таких больных с включением метформина, статинов, аспирина и антагонистов рецепторов ангиотензина II в наибольшей степени способствует увеличению количества циркулирующих ЭПК [32].

Анти-*VEGF* терапия рассматривается как перспективный метод при неоваскулярной глаукоме [26]. В пилотных исследованиях установлено, что бевацизумаб может уменьшать интенсивность новообразования сосудов сетчатки и радужной оболочки. Как показали гистологические исследования, введение бевацизумаба уменьшает фенестрацию и усиливает апоптоз эндотелия новообразованных сосудов [27].

Предполагают, что средства, блокирующие ангиогенез, смогут найти применение в лечении поражения почек. В экспериментах показана способность ингибиторов ангиогенеза эндостатина, тумстатина, ангиостатина, изокумарина (NM-3) и вазогибина уменьшать альбуминурию и выраженность структурных почечных изменений [30]. В то же время чрезмерное подавление *VEGF* может оказывать неблагоприятное действие на почки. Описаны случаи развития тромботической микроангиопатии в почках у больных с злокачественными опухолями, получающими бевацизумаб. Показано, что экспериментальная «нейтрализация» гена *VEGF* в подоцитах воспроизводит тромботическую микроангиопатию в клубочках [19]. Небольшая и обычно бессимптомная протеинурия возникает на фоне лечения ингибиторами *VEGF* у 21–63 % пациентов с опухолями [23].

Цель терапевтического ангиогенеза – обеспечить ревазуляризацию ишемизированных тканей за счет стимуляции естественных процессов образования и роста сосудов. Ангиогенная

терапия включает в себя применение экзогенных факторов роста, стволовых или прогениторных клеток, а также сочетание этих воздействий. В экспериментальных исследованиях обосновано применение факторов роста (VEGF, ангиопоэтинов), мультипотентных стромальных клеток и ЭПК для ускорения заживления язв у животных с сахарным диабетом и ишемией конечностей [11, 12]. Установлена возможность введения ангиогенных факторов роста (VEGF<sub>165</sub>, FGF-1, HIF-1 $\alpha$ ) с помощью плазмид или аденовирусов (так называемая «генная терапия») для стимуляции новообразования сосудов в зоне ишемии у пациентов с облитерацией периферических артерий [21]. Показана эффективность стимуляции ангиогенеза у больных с ишемией нижних конечностей с помощью местных внутримышечных инъекций аутологичных мононуклеаров костно-мозгового происхождения или мононуклеаров, выделенных из периферической крови после стимуляции G-CSF [29].

Метаанализ 6 рандомизированных контролируемых исследований 2-й фазы, включавших в общей сложности 543 пациента с перемежающейся хромотой, язвой или критической ишемией, показал, что методы генной и клеточной терапии, стимулирующие ангиогенез, улучшают результаты лечения облитерирующих заболеваний нижних конечностей. Клинический эффект (комбинированная конечная точка) включал увеличение дистанции ходьбы, уменьшение болей в покое, заживление трофических язв или сохранение конечности (различия с плацебо: OR = 1,437,  $p$  = 0,033; при критической ишемии: OR = 2,2,  $p$  = 0,046). Побочные эффекты (отек, гипотония, протеинурия) несколько чаще встречались в группах активного лечения (OR = 1,81,  $p$  = 0,045) [16].

Опубликованы первые результаты применения клеточной терапии у больных с критической ишемией нижних конечностей. Показано, что местное внутримышечное введение аутологичных мононуклеарных клеток, выделенных из периферической крови после стимуляции G-CSF, повышает шансы на сохранение конечности. Внутривартериальное введение аутологичных мононуклеарных клеток костно-мозгового происхождения больным с поражением дистальных артерий ног способствовало уменьшению симптомов ишемии и ускорению заживления язв. Клиническая динамика коррелировала с выраженностью неоваскулогенеза [25, 34].

В «Стратегии развития медицинской науки РФ на период до 2025 года» при формировании платформы «профилактическая среда» указано, что «основными результатами научной платформы будет разработка информационных систем

прогнозирования влияния экологических факторов на здоровье человека». Результаты, представленные в настоящем сообщении, показывают, что использование технологий индивидуального анализа генных сетей регуляции ангиогенеза может помочь в создании таких информационных систем прогнозирования, основанных на персонализированных предикторах как общего уровня состояния здоровья и продолжительности срока жизни, так и предрасположенности/резистентности к развитию социально значимых заболеваний.

При хорошо развитой системе раннего генетического прогноза состояния здоровья человека в индивидуальную электронную медицинскую карту могут быть занесены данные о персональном прогнозе общего уровня состояния здоровья человека и его предрасположенности к развитию различных заболеваний, а также о персональной эффективности различных схем профилактических мероприятий, эффективности различных схем терапии развившихся болезней и предполагаемом характере их клинического течения.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Коненков В.И., Бородин Ю.И., Любарский М.С. Лимфология. Новосибирск: Манускрипт, 2012. 1001 с.
2. Коненков В.И., Покушалов Е.А., Повещенко О.В. 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.
3. Коненков В.И., Шевченко А.В., Прокофьев В.Ф., Воевода М.И. Полиморфизм генов белков – регуляторов воспаления, при атеросклерозе, осложненном развитием острого инфаркта миокарда // Атеросклероз. 2011. 7. (1). 5–18.
4. Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Механизмы и факторы ангиогенеза // Успехи физиол. наук. 2010. 41. (2). 68–89.
5. Повещенко О.В., Повещенко А.Ф., Коненков В.И. Физиологические и цитологические основы клеточной регуляции ангиогенеза // Успехи физиол. наук. 2012. 43. (3). 48–61.
6. Фильченков А.А. Лимфангиогенез и метастазирование опухолей // Онкология. 2009. 11. (2). 94–102.
7. Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов IL-1, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10 и TNF- $\alpha$  европеоидного населения Западной Сибири // Иммунология. 2010. (4). 176–181.
8. Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И. и др. Анализ полиморфизма генов матриксных металлопротеиназ-2 и 9 у пациентов с ишеми-

ческой болезнью сердца // *Терапевт. арх.* 2010. 82. (1). 31–34.

9. Шевченко А.В., Коненков В.И., Голованова О.В. и др. Полиморфизм гена *VEGFA* (C–2578A, C+936T) у пациенток с раком молочной железы // *Мед. иммунол.* 2012. 14. (1–2). 87–94.

10. Ackerman H., Usen S., Mott R. Haplotypic analysis of the TNF locus by association efficiency and entropy // *Genome Biol.* 2003. 4. 24–27.

11. Amin A.H., Abd Elmageed Z.Y., Nair D. et al. Modified multipotent stromal cells with epidermal growth factor restore vasculogenesis and blood flow in ischemic hind-limb of type II diabetic mice // *Lab. Invest.* 2010. 90. (7). 985–996.

12. Barcelos L.S., Duplaa C., Kränkel N. et al. Human CD133+ progenitor cells promote the healing of diabetic ischemic ulcers by paracrine stimulation of angiogenesis and activation of Wnt signaling // *Circ. Res.* 2009. 104. (9). 1095–1102.

13. Beekman M., Blanche H., Perola M. et al. GENA consortium. Genome-wide linkage analysis for human longevity: Genetics of Healthy Aging Study // *Aging Cell.* 2013. 12. (2). 184–193.

14. Benjamini Y., Hochberg Y. Controlling the false discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing // *J. R. Stat. Soc. Series B. Stat. Methodol.* 1995. 57. 289–300.

15. Capri M., Salvioli S., Sevini F. et al. Understanding and modulating aging // *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2006. 5. (1067). 252–263.

16. De Haro J., Acin F., Lopez-Quintana A. et al. Meta-analysis of randomized, controlled clinical trials in angiogenesis: gene and cell therapy in peripheral arterial disease // *Heart Vessels.* 2009. 24. (5). 321–328.

17. Del Bo R., Ghezzi S., Scarlato M. et al. Role of VEGF gene variability in longevity: a lesson from the Italian population // *Neurobiol. Aging.* 2008. 29. (12). 1917–1922.

18. Dvorac H.F. Vascular permeability factor // *J. Clin. Oncol.* 2002. 20. 6. 1358–1366.

19. Eremina V., Jefferson J.A., Kowalewska J. et al. VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy // *N. Engl. J. Med.* 2008. 358. (11). 1129–1136.

20. Goligorsky M.S., Kuo M.C., Patschan D., Verhaar M.C. Review article: endothelial progenitor cells in renal disease // *Nephrology (Carlton).* 2009. 14. (3). 291–297.

21. Gupta R., Tongers J., Losordo D.W. Human studies of angiogenic gene therapy // *Circ. Res.* 2009. 105. (8). 724–736.

22. Hsie Y., Chang C., Tsai F. T allele for VEGF gene polymorphism at 5-untranslated region is associated with higher susceptibility of leiomyoma // *Biochem. Genet.* 2008. 46. (5–6). 356–361.

23. Izzedine H., Massard C., Spano J.P. et al. VEGF signalling inhibition-induced proteinuria: Mechanisms, significance and management // *Eur. J. Cancer.* 2010. 46. (2). 439–448.

24. Jaumdally R.J., Goon P.K., Varma C. et al. Effects of atorvastatin on circulating CD34+/CD133+/CD45– progenitor cells and indices of angiogenesis (vascular endothelial growth factor and the angiopoietins 1 and 2) in atherosclerotic vascular disease and diabetes mellitus // *J. Intern. Med.* 2010. 267. (4). 385–393.

25. Kawamura A., Horie T., Tsuda I. et al. Clinical study of therapeutic angiogenesis by autologous peripheral blood stem cell (PBSC) transplantation in 92 patients with critically ischemic limbs // *J. Artif. Organs.* 2006. 9. (4). 226–233.

26. Kimoto K., Kubota T. Anti-VEGF agents for ocular angiogenesis and vascular permeability // *J. Ophthalmol.* 2012. 2012. 852183.

27. Kohno R., Hata Y., Mochizuki Y. et al. Plasma levels of vascular endothelial growth factor and pigment epithelium-derived factor before and after intravitreal injection of bevacizumab // *Br. J. Ophthalmol.* 2010. 94. (9). 1215–1218.

28. Li Calzi S., Neu M.B., Shaw L.C., Grant M.B. Endothelial progenitor dysfunction in the pathogenesis of diabetic retinopathy: treatment concept to correct diabetes-associated deficits // *EPMA J.* 2010. (1). 88–100.

29. Moazzami K., Majdzadeh R., Nedjat S. Local intramuscular transplantation of autologous mononuclear cells for critical lower limb ischaemia // *Cochrane Database Syst. Rev.* 2011. 12. CD008347.

30. Nasu T., Maeshima Y., Kinomura M. et al. Vasohibin-1, a negative feedback regulator of angiogenesis, ameliorates renal alterations in a mouse model of diabetic nephropathy // *Diabetes.* 2009. 58. (10). 2365–2375.

31. Poveshchenko O.V., Poveshchenko A.F., Konenkov V.I. Endothelial progenitor cells and neovasculogenesis // *Biol. Bull. Rev.* 2012. 2. (4). 333–339.

32. Reinhard H., Jacobsen P.K., Lajer M. Multifactorial treatment increases endothelial progenitor cells in patients with type 2 diabetes // *Diabetologia.* 2010. 53. (10). 2129–2133.

33. Renner W., Kotschan S., Hoffman C. et al. A common 936 C/T mutation in the gene for vascular endothelial growth factor is associated with vascular endothelial growth factor plasma level // *J. Vasc. Med. Biol.* 2000. 12. 443–448.

34. Ruiz-Salmeron R., de la Cuesta-Diaz A., Constantino-Bermejo M. et al. Angiographic demonstration of neoangiogenesis after intra-arterial infusion of autologous bone marrow mononuclear cells in diabetic patients with critical limb ischemia // *Cell. Transplant.* 2011. 20. (10). 1629–1639.

35. Schatteman G.C., Dunnwald M., Jiao C. Biology of bone marrow-derived endothelial cell precursors // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol.* 2007. 292. (1). 1–18.

36. Schlager O., Giurgea A., Schuhfried O. et al. Exercise training increases endothelial progenitor

cells and decreases asymmetric dimethylarginine in peripheral arterial disease: a randomized controlled trial // *Atherosclerosis*. 2011. 217. (1). 240–248.

37. *Shahbazi M., Fryer A.A., Pravika V. et al.* Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection // *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002. 13. 260–264.

38. *Takahashi M., Yoshimoto T., Kubo H.* Molecular mechanism of lymphoangiogenesis // *Int. J. Hemat.* 2004. 80. (1). 29–34

39. *Wei L., Liu Y., Chen G.* Differentiation of lymphatic endothelial cells from bone marrow mesenchymal stem cells with VEGF // *Lymphology*. 2012. 45. 177–187.

## PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF LYMPHANGIOGENESIS GENE POLYMORPHISM IN LEVEL OF PERSON HEALTH VALUATION

Vladimir Iosifovich KONENKOV, Viktor Fedorovich PROKOF'EV,  
Alla Vladimirovna Shevchenko

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

Analysis of occurrence frequency of genotypes of *VEGF* (vascular endothelial growth factor) in two polymorphic gene regulatory region positions in combination with other genotypes of those angiogenic cytokines and metalloproteinases in groups of healthy people of different ages has been carried out. The SNP promoter of genes *TNFA* –863 C → A, *TNFA* –308 G → A, *TNFA* –238 G → A, *IL1β* –511 T → C, *IL1β* –31 C → T, *IL-4* –590 C → T, *IL-6* –174 G → C, *IL-10* –1082 G → A and *IL-10* –592 A → C, genes of matrix metalloproteinases *MMP2* –1306 C → T, *MMP9* –1562 C → T, and gene of VEGF-vascular endothelial growth factor *VEGF* –2578 A → C and *VEGF* +936 C → T have been investigated. The statistical analysis of the studies results included such indicators as the rate of occurrence of genes, genotypes and their combinations, specificity, odds ratio (or) with 95% confidence intervals (CI). The group surveyed ranked 219 people; the investigated signs were compared in the subgroup of young people (less than 35 years – 103) and senior citizens (55 years and over – 116 persons). It has been found that among older people the whole range of combined genetic traits, including *VEGF* and homozygous genotypes of polymorphic variants of genes of cytokines is fully absent, with the high frequency in the group of young people. The frequency of other genetic combinations, which are more frequent among young people, significantly reduced (by several times). This group combined genetic traits, which frequency decreases with age, most often detected in AC and CC options polymorphic gene *VEGF* –2578 positions and *VEGF* +936, associated with high levels of production growth factor of vascular endothelial function. It can be assumed that the presence of such combinations of genotypes in the young man's genome is an adverse prognostic sign, pointing to the short lifespan of a given individual that probably gives an indication of the low level of health state and his inclusion in the group of high risk diseases.

**Key words:** single nucleotide polymorphism of promoter gene region, genes of cytokines, growth factors, vascular endothelial function, lymphangiogenesis, genetics of human longevity.

*Konenkov V.I.* – doctor of medical sciences, academician of RAMS, director, e-mail: [lymphology@soramn.ru](mailto:lymphology@soramn.ru)

*Prokof'ev V.F.* – candidate of medical sciences, leading researcher

*Shevchenko A.V.* – candidate of biologic sciences, senior researcher of laboratory for clinical immunogenetics

цитокинов в механизмах формирования эндометриозных очагов [2, 3, 16]. В связи с этим целью настоящего исследования явился анализ функционального полиморфизма генов интерлейкинов  $1\beta$  (*IL1B*) и *IL6* при эндометриозе в сочетании с бесплодием.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 236 пациенток репродуктивного возраста от 25 до 40 лет (средний возраст  $30,22 \pm 0,28$  года), которые были госпитализированы в гинекологическую клинику ГБОУ ВПО Сибирский государственный медицинский университет Минздрава России и в гинекологическое отделение ФГБУ НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии СО РАМН в 2010–2012 гг. для выполнения лечебно-диагностической и оперативной лапароскопии и гистероскопии. Показанием к оперативному вмешательству явилось бесплодие. Основную группу составили 145 пациенток с бесплодием и эндометриозом. Диагноз эндометриоза был поставлен в результате осмотра брюшины и органов малого таза на наличие эндометриозных очагов в ходе эндоскопических методов исследования, с последующим гистологическим подтверждением. Контрольная группа была сформирована из 91 пациентки с бесплодием, которым была выполнена диагностическая лапароскопия и исключен генитальный эндометриоз, однако при проведении хромогидротубации установлено нарушение проходимости маточных труб. Лапароскопию и гистероскопию выполняли по стандартной методике с использованием аппаратуры фирмы «Karl Storz» (Германия).

У всех женщин было получено добровольное информированное согласие на забор и использование крови для проведения исследований. Кровь для молекулярно-генетических методов исследования получали из кубитальной вены в стандартных условиях утром в день операции, стабилизированные образцы хранили при  $-70^\circ\text{C}$  до момента исследования. Выделение ДНК из периферической крови проводили сорбентным методом согласно инструкции, прилагаемой к коммерческому набору «ДНК-сорб-В» («ИнтерЛабСервис», Россия). Исследование полиморфных участков генов цитокинов проводили с использованием аллель-специфической ПЦР. Были изучены два полиморфных варианта: С511Т гена *IL1B* и G–174C гена *IL6*, локализованные в промоторных участках генов и отвечающие за уровень экспрессии соответствующих цитокинов. Амплификацию осуществляли согласно инструкции, прилагаемой к коммерческому набору «Ампли-

Сенс-200-1» («ИнтерЛабСервис», Россия), в пробирках типа «Эппендорф», используя структуру праймеров и параметры температурных циклов, описанных в литературе, на амплификаторе «Терцик МС2» («ДНК-технология», Россия). После проведения ПЦР 8 мкл амплификата разделяли в 2%-м агарозном геле, содержащем 0,5 мг/мл этидия бромида, при напряжении 150 В в течение нескольких минут для последующей визуализации в ультрафиолетовом свете, подтверждающей наличие продукта амплификации. В качестве маркера размера ДНК использовали плазмиду pUC19, расщепленную рестриктазой *MspI* («Сибэнзим», Россия).

Для анализа ассоциации маркеров исследуемых генов с эндометриозом и бесплодием сравнивали частоты аллелей и генотипов в группах женщин, используя критерий  $\chi^2$  Пирсона с поправкой Йетса на непрерывность или точный критерий Фишера, статистически значимыми считали различия при  $p < 0,05$ . Об ассоциации разных генотипов и аллелей с заболеванием судили по величине отношения шансов (odds ratio, OR) с расчетом для него 95%-го доверительного интервала (CI).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Бесплодие при эндометриозе обусловлено нарушениями в иммунной системе, которые могут опосредоваться несколькими путями. В перитонеальной жидкости у женщин с эндометриозом и бесплодием значительно повышен уровень ингибитора миграции макрофагов, что способствует росту гетеротопий. Сами гетеротопии секретируют специфические вещества, стимулирующие макрофагально-макроцитарную систему, в результате чего происходит изменение уровня интерлейкинов, фактора некроза опухолей, факторов роста [2, 4, 8].

Провоспалительные цитокины при эндометриозе продуцируются и действуют на иммунокомпетентные клетки через свои рецепторы на ранней стадии воспалительного ответа, участвуют в запуске специфического иммунного ответа и в эффекторной его фазе. К ним относят в частности *IL-1\beta*, *IL-6* [5, 9].

Ген *IL1B* располагается в регионе 2q13-q21 2-й хромосомы, содержит 22 экзона, 20 из которых альтернативные (т.е. имеют структурные варианты) и 9 интронов, в том числе 8 альтернативных. Ген имеет нетранслируемые области на 3'- и 5'-концах. Выявлен точечный маркер высокопродуцирующего варианта гена *IL1B* – полиморфизм С–511Т (замена нуклеотида цитозина на тимин в регуляторной области гена). При

варианте –511Т продукция *IL-1β* повышена, что приводит к активации местных воспалительных реакций [8].

При изучении частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма С511Т гена *IL1B* было установлено, что среди женщин, страдающих бесплодием без эндометриоза, генотип СС встречался в 69,2 %, генотип СТ – в 30,8 % случаев. При этом редкий аллель Т полиморфизма С511Т гена *IL1B* наблюдали лишь в 15,4 %, а аллель С – в 84,6 % случаев. Исследование распределения генотипов полиморфизма С511Т гена *IL1B* у инфертильных пациенток, страдающих эндометриозом, позволило установить, что гетерозиготный генотип встречался в 35,9 % случаев: 48,3 % больных этой группы оказались гомозиготами по аллелю С, а генотип ТТ был обнаружен у 15,9 % обследованных (табл. 1).

Следует также отметить, что у женщин с эндометриоз-ассоциированным бесплодием распределение генотипов ( $\chi^2 = 19,74; p < 0,05$ ) и аллелей ( $\chi^2 = 19,36; p < 0,05$ ) значимо отличалось от такового у пациенток только с бесплодием без эндометриоза: генотип ТТ и аллель Т полиморфизма С511Т гена *IL1B* встречались значимо чаще, чем в контрольной группе. Также была выявлена положительная ассоциация эндометриоз-ассоциированного бесплодия с аллелем Т (OR = 2,81) и с генотипом ТТ (OR = 35,11) полиморфизма

С511Т гена *IL1B*. Показано также, что протективным эффектом обладает аллель С (OR = 0,36) (см. табл. 1).

Ген *IL6* располагается в регионе 7p15-21 7-й хромосомы. Наиболее часто исследуемый полиморфизм G–174C (замена нуклеотида гуанина на цитозин в регуляторной области гена) локализован в промоторной области гена, он приводит к функциональным изменениям, которые влияют на транскрипцию гена и, соответственно, уровень *IL-6* в плазме. При варианте –174C продукция *IL-6* понижена, что сопровождается нарушением элиминации инфекционных агентов и подавлением резорбции костной ткани. Показано, что аллель –174G ассоциирован с более высоким уровнем *IL-6* в плазме [5, 18].

При изучении частоты встречаемости генотипов и аллелей полиморфизма G-174C гена *IL6* среди женщин с бесплодием без эндометриоза зарегистрировано преобладание генотипа GG (72,5 %), в то время как генотип GC и гомозиготный генотип по аллелю С встречались в 25,3 и 2,2 % случаев соответственно. Результаты генотипирования аллельных вариантов гена *IL6* у больных с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом, показали преобладание гомозиготного генотипа GG (47,6 %) над гетерозиготным GC (35,2 %) и гомозиготным CC (17,2 %) генотипами (табл. 2).

Таблица 1

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма С511Т гена *IL1B* (абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма С511Т гена <i>IL1B</i>	Характеристика обследованных лиц		$\chi^2, p$	OR (95% CI)
	Женщины с бесплодием, n = 91	Женщины с бесплодием и эндометриозом, n = 145		
СС	63 (69,20)	70 (48,30)	19,74 $p < 0,05$	0,41 (0,24–0,72)
СТ	28 (30,80)	52 (35,90)		1,26 (0,72–2,20)
ТТ	0 (0)	23 (15,90)		35,11 (2,10–585,59)
С	154 (84,60)	192 (66,20)	19,36 $p < 0,05$	0,36 (0,22–0,57)
Т	28 (15,40)	98 (33,80)		2,81 (1,75–4,49)

Таблица 2

Распределение генотипов и аллелей полиморфизма G–174C гена *IL6* (абс., %) среди обследованных женщин

Генотипы и аллели полиморфизма G–174C гена <i>IL6</i>	Характеристика обследованных лиц		$\chi^2, p$	OR (95% CI)
	Женщины с бесплодием, n = 91	Женщины с бесплодием и эндометриозом, n = 145		
GG	66 (72,50)	69 (47,60)	18,89 $p < 0,001$	0,34 (0,20–0,60)
GC	23 (25,30)	51 (35,20)		1,6 (0,90–2,87)
CC	2 (2,20)	25 (17,20)		9,27 (2,14–40,17)
G	155 (85,20)	189 (65,20)	22,62 $p < 0,001$	0,33 (0,20–0,52)
C	27 (14,80)	101 (34,80)		3,07 (1,91–4,93)

При сопоставлении данных, полученных в результате генетического анализа женщин контрольной группы и группы пациенток, страдающих эндометриоз-ассоциированным бесплодием, было зарегистрировано значимое увеличение частоты генотипа *CC* и аллеля *C* полиморфизма *G-174C* гена *IL6* у женщин с бесплодием, ассоциированным с эндометриозом ( $\chi^2 = 18,89$ ;  $p < 0,001$ ;  $\chi^2 = 22,62$ ;  $p < 0,001$  соответственно). В ходе проведенного исследования было установлено, что фактором риска ассоциации бесплодия с эндометриозом являлись аллель *C* ( $OR = 3,07$ ) и генотип *CC* ( $OR = 9,27$ ), а защитным эффектом обладал генотип *GG* локуса *G-174C* гена *IL6* ( $OR = 0,34$ ) (см. табл. 2).

Основной функцией иммунной системы организма является поддержание постоянства антигенной структуры, что подразумевает защиту как от чужеродных, так и от генетически измененных своих антигенов, в частности от эндометриоидных гетеротопий [14]. Взаимодействие участников иммунного ответа происходит путем обмена универсальными цитокиновыми сигналами. Нарушения в системе цитокинов необратимо влекут за собой невозможность кооперации и координации иммунной системы, что ведет к пролиферации и инвазии ткани, морфологически и функционально подобной эндометрии, за пределами слизистой оболочки полости матки [4, 12, 14]. Неоспоримо, что особенности реагирования организма заложены в нуклеотидной последовательности молекул ДНК, находящиеся в ядре клетки. Но нельзя забывать о том, что регуляция генома клетки – процесс очень сложный и в настоящее время недостаточно изученный.

В заключение следует подчеркнуть, что изучение ассоциаций аллельных вариантов генов цитокинов с заболеваниями связаны с попытками установить иммуногенетические маркеры заболеваний. Подобные исследования перспективны в попытке установить причинно-следственные связи цитокиновых генов с заболеваниями, но из-за трудности выбора возможных претендентов из большого числа генов-кандидатов и из-за незначительного влияния любого отдельного гена на восприимчивость к заболеванию требуют продолжения. Зарегистрированные нами изменения соотношения в распределении аллельных вариантов промоторных участков генов цитокинов у больных генитальным эндометриозом и бесплодием могут обуславливать функциональные нарушения, которые приводят к количественным изменениям протекания защитных реакций, что сказывается на развитии эндометриоза и ассоциированного с ним бесплодия.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адамян Л.В., Кулаков В.И., Андреева Е.Н. Эндометриозы. М., 2006. 416 с.
2. Герасимов А.М. Причины бесплодия при наружном эндометриозе // Вестн. акушерства и гинекологии. 2008. (1). 31–35.
3. Ермошенко Б.Г., Крутова В.А., Надточий А.В. Восстановление репродуктивной функции у пациенток с эндокринным бесплодием // Кубанский науч. мед. вестн. 2009. (3). 46–50.
4. Ищенко А.И., Кудрина Е.А. Эндометриоз: диагностика и лечение. М., 2008. 176 с.
5. Кетлинский С.А., Симбирцев А.С. Цитокины. СПб., 2008. 552 с.
6. Крутова В.А., Галустян С.А., Белкина Н.В. Комплексное лечение женщин, страдающих бесплодием, ассоциированным с генитальным эндометриозом // Рос. вестн. акушера-гинеколога. 2008. (2). 59–63.
7. Кулаков В.И., Прилепская В.Н. Практическая гинекология. М., 2001. 720 с.
8. Симбирцев А.С., Громова А.Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных молекул воспаления // Иммунология. 2005. (1). 67–72.
9. Симбирцев А.С., Громова А.Ю. Функциональный полиморфизм генов регуляторных цитокинов // Цитокины и воспаление. 2005. 4. (1). 3–12.
10. Шевченко А.В., Голованова О.В., Коненков В.И. Особенности полиморфизма промоторных регионов генов цитокинов *IL1*, *IL4*, *IL5*, *IL6*, *IL10* и *TNFA* у европеоидного населения Западной Сибири // Иммунология. 2010. (4). 176–181.
11. Alaina B.J.-M., Jennifer W.B., Keith A.F. Infertility // Am. Fam. Physician. 2007. 75. 849–856.
12. Allaire C. Endometriosis and infertility: a review // J. Reprod. Med. 2006. 51. (3). 164–168.
13. Fanta M., Koliba P., Hrušková H. Endometriosis // Ceska Gynekol. 2012. 77. 314–319.
14. Harada T., Iwabe T., Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis // Fertil. Steril. 2001. 76. (1). 1–10.
15. Missmer S.A., Hankinson S.E., Spiegelman D. et al. Incidence of laparoscopically confirmed endometriosis by demographic, anthropometric, and lifestyle factors // Am. J. Epidemiol. 2004. 160. 784–796.
16. Iwabe T., Harada T., Terakawa N. Role of cytokines in endometriosis-associated infertility // Gynec. Obstet. Invest. 2002. 53. (1). 19–25.
17. Macer M.L., Taylor H.S. Endometriosis and infertility: A review of the pathogenesis and treatment of endometriosis-associated infertility // Obstet. Gynecol. Clin. North Am. 2012. 39. 535–549.
18. Fishman D., Faulds G., Jeffery R. et al. The effect of novel polymorphisms in the interleukin 6 (*IL6*) gene on *IL6* transcription and plasma *IL6* levels, and an association with systemic onset juvenile chronic arthritis // J. Clin. Invest. 1998. 102. 1369–1376.

## **IL1B AND IL6 GENE POLYMORPHISM IN ENDOMETRIOSIS-RELATED INFERTILITY**

**Tatyana Aleksandrovna AGARKOVA<sup>1</sup>, Konstantin Sergeevich KUBLINSKIY<sup>2</sup>,  
Irina Olegovna NASLEDNIKOVA<sup>2</sup>, Irina Dmitrievna EVTUSHENKO<sup>2</sup>,  
Lyubov' Aglyamovna AGARKOVA<sup>1</sup>, Vyacheslav Viktorovich NOVITSKIY<sup>2</sup>,  
Yekaterina Borisovna IL'YADI<sup>2</sup>, Ol'ga Ivanovna URAZOVA<sup>2</sup>,  
Ol'ga Vladimirovna VORONKOVA<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Institute of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of SB RAS  
634063, Tomsk, Sergey Lazo str., 5*

<sup>2</sup> *Siberian State Medical University of Minzdrav of Russia  
634050, Tomsk, Moscovskiy tract, 2*

---

Clinical, molecular and genetic examination of 145 patients with the genital endometriosis, suffering infertility has been conducted. It is registered that distribution of allelic variants of cytokine genes among patients with endometriosis associated infertility is characterized by prevalence of genotypes of TT of a polymorphic site of C511T of a gene of *IL1B* and the CC polymorphism of G-174C of a gene of *IL6*. The positive association of endometriosis connected with infertility with allele in T and a genotype of a TT of polymorphism of C511T of a gene of *IL1*, and also with allele C and a genotype of the CC polymorphism of G-174C of a gene of *IL6* is revealed.

---

**Key words:** endometriosis, infertility, interleukin-1 $\beta$ , interleukin-6, cytokine gene polymorphism.

*Agarkova T.A. – practicing doctor obstetrician-gynecologist, e-mail: agarkina@mail.ru*

*Kublinskiy K.S. – candidate of medical sciences, clinical gynaecologist, e-mail: kublinskiy@sibmail.com*

*Naslednikova I.O. – doctor of medical sciences, professor of the chair for pathophysiology,  
e-mail: ira\_naslednikova@mail.ru*

*Evtushenko I.D. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for obstetrics and gynaecology,  
e-mail: . evtushenko\_1d@mail.ru*

*Agarkova L.A. – doctor of medical sciences, professor, director, e-mail: general@rd4.tomsk.ru*

*Novitskiy V.V. – rector, academician of RAMS, doctor of medical sciences, professor, head of the chair  
for pathophysiology, e-mail: ira\_naslednikova@mail.ru*

*Il'yadi Ye.B. – postgraduate student of the chair for pathophysiology, e-mail: ira\_naslednikova@mail.ru*

*Urazova O.I. – doctor of medical sciences, professor of the chair for pathophysiology,  
e-mail: ira\_naslednikova@mail.ru*

*Voronkova O.V. – doctor of medical sciences, professor of the chair for pathophysiology,  
e-mail: ira\_naslednikova@mail.ru*

## АЛГОРИТМ ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ ГЕМОДИНАМИЧЕСКИХ КРОВОИЗЛИЯНИЙ ПРИ ЭМБОЛИЗАЦИИ ЦЕРЕБРАЛЬНЫХ АРТЕРИОВЕНОЗНЫХ МАЛЬФОРМАЦИЙ

Алексей Леонидович КРИВОШАПКИН<sup>1,4</sup>, Вячеслав Александрович ПАНАРИН<sup>1</sup>, Кирилл Юрьевич ОРЛОВ<sup>1,4</sup>, Вадим Вячеславович БЕРЕСТОВ<sup>1</sup>, Тимур Салимович ШАЯХМЕТОВ<sup>1</sup>, Антон Викторович ГОРБАТЫХ<sup>1</sup>, Дмитрий Сергеевич КИСЛИЦИН<sup>1</sup>, Александр Павлович ЧУПАХИН<sup>2,3</sup>, Александр Александрович ЧЕРЕВКО<sup>2,3</sup>, Александр Канчерович ХЕ<sup>2,3</sup>, Глеб Сергеевич СЕРГЕЕВ<sup>4</sup>, Дмитрий Викторович ЧЕБЫКИН<sup>4</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ Новосибирский НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина Минздрава России

630055, г. Новосибирск, ул. Речкуновская, 15

<sup>2</sup> ФГБУН Институт гидродинамики им. М.А. Лаврентьева СО РАН

630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 15

<sup>3</sup> ФГБОУ ВПО Новосибирский национальный исследовательский государственный университет

630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

<sup>4</sup> ГБОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России

630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

В статье рассматриваются гемодинамические механизмы развития периперационного кровоизлияния при эмболизации церебральных артериовенозных мальформаций (АВМ). Вводится понятие удельной нагрузки – количества энергии, выделяющейся при прохождении крови через единицу объема АВМ в единицу времени. На математической модели показано резкое возрастание удельной нагрузки при эмболизации 60–70 % объема АВМ, что объясняет феномен разрыва субтотально эмболизированных АВМ. Путем инвазивных измерений давления и скорости кровотока в приносящих и дренирующих сосудах мальформации прибором ComboMap (Volcano, США) и последующих построениях графиков удельной нагрузки у реальных пациентов показано качественное и количественное соответствие клинических и модельных данных. Предложен алгоритм эмболизации с учетом особенностей ангиоархитектоники и полученных новых представлений о гемодинамике АВМ. Двумя специалистами (1 и 2) проведен ретроспективный анализ обезличенных цифровых видеозаписей эндovasкулярных операций 124 последовательных пациентов с АВМ классов А и В по Spetzler-Ponce. Получены две пары статистически однородных групп: пролеченных в соответствии (а) и не в соответствии (б) с алгоритмом. Частота кровоизлияний в группах 1а и 2а составила соответственно 5,1 и 3,9 % (5 из 99 и 4 из 102 пациентов), в группах 1б и 2б – 40 и 50 % (10 из 25 и 11 из 22). Достоверных различий в мнениях специалистов не выявлено. Как в первой, так и во второй паре групп получено достоверное снижение частоты кровоизлияний при соблюдении алгоритма.

**Ключевые слова:** артериовенозная мальформация, эмболизация, кровоизлияние, математическая модель, фистула, удельная нагрузка.

*Кривошапкин А.Л.* – д.м.н., проф., член-кор. РАН, руководитель центра ангионеврологии и нейрохирургии, зав. кафедрой нейрохирургии, e-mail: alkr01@yandex.ru

*Панарин В.А.* – врач-нейрохирург, e-mail: p0203@mail.ru

*Орлов К.Ю.* – к.м.н., старший научный сотрудник, зав. отделением нейрохирургии, руководитель научной группы эндovasкулярной нейрохирургии, доцент кафедры нейрохирургии, e-mail: orlov72@mail.ru

*Берестов В.В.* – младший научный сотрудник группы эндovasкулярной нейрохирургии, e-mail: 3021@mail.ru

*Шаяхметов Т.С.* – младший научный сотрудник группы эндovasкулярной нейрохирургии, e-mail: ts-shayakhmetov@yandex.ru

*Горбатов А.В.* – врач-нейрохирург, e-mail: antonosjn@mail.ru

*Кислицин Д.С.* – врач-нейрохирург, e-mail: kislitsinmd@gmail.com

*Чупахин А.П.* – доктор физико-математических наук, зав. лабораторией, проф., зав. кафедрой

*Черевко А.А.* – кандидат физико-математических наук, научный сотрудник, доцент

*Хе А.К.* – кандидат физико-математических наук, научный сотрудник, старший преподаватель

*Сергеев Г.С.* – ординатор кафедры нейрохирургии, e-mail: dr.gs sergeev@gmail.com

*Чебыкин Д.В.* – к.м.н., доцент кафедры общественного здоровья и здравоохранения

Артериовенозные мальформации (АВМ) головного мозга остаются серьезной медицинской и социальной проблемой. Более чем у половины пациентов в течение жизни происходит кровоизлияние, 10–30 % из них погибают после первого кровоизлияния и от 10 до 20 % выживших становятся инвалидами. Для АВМ задней черепной ямки показатель летальности после кровоизлияния достигает 50 %. Последующие кровоизлияния имеют еще более неблагоприятный прогноз [4, 6, 7, 18, 24].

Риск разрушительного внутричерепного кровоизлияния диктует агрессивную лечебную тактику в отношении церебральных АВМ. Лечение АВМ требует мультимодального подхода, включающего микрохирургический, эндоваскулярный и радиохирургический методы [5, 11, 22]. До недавнего времени эмболизация рассматривалась как вспомогательный метод лечения перед удалением или облучением АВМ. Ситуация существенно изменилась с появлением в последнее десятилетие неадгезивного эмболизата Onyx (Micro Therapeutics, Inc., Irvine, США). Благодаря своим физико-химическим свойствам этот материал хорошо распределяется в узле АВМ [3]. Применение новой технологии позволило добиться более чем 50 % радикальности эндоваскулярного лечения [12, 15, 21]. В то же время нерешенной проблемой остаются геморрагические осложнения, возникающие в процессе эмболизации или в ближайшем послеоперационном периоде. Частота таких перипроцедуральных кровоизлияний при использовании Onyx, по разным данным, варьирует от 2 до 16,7 % [15].

Для объяснения патофизиологических механизмов развития перипроцедуральных кровоизлияний были выдвинуты различные гипотезы: нарушение венозного оттока из АВМ, повышенные давления в питающих артериях в результате эмболизации, феномен прорыва нормального перфузионного давления, гиперемия нормальной мозговой ткани или перераспределение мозгового кровотока в соседние регионы, вторичный венозный тромбоз, вызванный стагнацией в дренирующих венах вследствие существенной облитерации АВМ, воспалительные реакции или некроз сосудистой стенки, вызванные эмболическим материалом, ишемическое размягчение окружающей узел ткани с формированием вторичного кровоизлияния, возрастание нагрузки на «слабые места», такие как интранидальные аневризмы [20]. Как видим, ведущая роль в возникновении перипроцедуральных кровоизлияний отводится изменениям локальной гемодинамики в сосудах мальформации и окружающих узел АВМ «здоровых» сосудах мозга.

При ретроспективном анализе собственных результатов лечения многие авторы выделяют ряд предикторов возникновения перипроцедурального кровоизлияния. Из особенностей ангиоархитектоники АВМ были отмечены следующие: наличие синдрома обкрадывания, многоканальное кровоснабжение, компактное строение узла, долевая локализация АВМ, локализация в функционально значимой зоне, наличие фистулы, наличие варикоза дренирующей вены, интранидальных аневризм. С другой стороны, анализировались детали процедуры эмболизации и индуцированные эмболизацией ангиографические изменения. На развитие перипроцедурального кровоизлияния могут влиять количество вводимого эмболизата и степень одномоментного выключения узла АВМ. Было показано, что введение более 1 мл клеевой композиции или 6 мл Onyx, одномоментное выключение более 60 % объема АВМ сопряжены с большим риском развития данного осложнения. Некоторые ангиографические признаки могут помочь предсказать высокую вероятность постэмболизационного кровоизлияния: окклюзия или замедление кровотока в одной из основных дренирующих вен, стагнация контраста в узле мальформации, субтотальная окклюзия небольшой АВМ, окклюзия прямой фистулы внутри узла с перенаправлением потока, миграция эмболизата в вены [8, 9, 14, 16, 17, 19, 20, 23].

Решение данной проблемы видится в предоперационном моделировании возможных изменений локальной гемодинамики в результате выключения того или иного объема, того или иного участка мальформации. Однако исключительная сложность пространственной геометрии артериовенозной мальформации, различные механические свойства формирующих ее сосудов, активность их стенок, учет влияния форменных элементов крови, наличие физиологических механизмов регуляции мозгового кровообращения, отсутствие полных экспериментальных данных о кровотоке объясняют отсутствие в настоящее время адекватной гемодинамической модели АВМ [1].

Цель исследования – разработка алгоритма эмболизации церебральных артериовенозных мальформаций, направленного на снижение частоты перипроцедуральных кровоизлияний.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В настоящем исследовании анализируются результаты лечения 124 пациентов с супратенториальными АВМ классов А и В по Spetzler-Ponce, госпитализированных в НИИ патологии кровообращения им. академика Е.Н. Мешалкина

с ноября 2009 г. по ноябрь 2013 г. Средний возраст пациентов составил  $35,44 \pm 1,16$  года. Мальформации задней черепной ямки и АВМ высокой градации (класс С) отличаются не только локализацией, сосудистой архитектурой, но и особой гемодинамикой. Вследствие этого они имеют иные риски как естественного течения, так и оперативного вмешательства, и будут рассмотрены нами в последующих публикациях.

Результатом настоящей работы явился алгоритм эмболизации АВМ, который приводится в разделе «Результаты и их обсуждение». Для проверки состоятельности разработанного алгоритма обезличенные цифровые видеозаписи эндоваскулярных операций 124 пациентов были проанализированы двумя экспертами. Пациентам были присвоены идентификационные номера. Специалистам (в дальнейшем 1 и 2) было предложено ответить «да» или «нет» на следующие вопросы.

1. Соответствует ли данная АВМ критериям отбора?

2. При наличии прямой фистулы эмболизация начата с прямой фистулы? (при отсутствии фистулы ответ «Да»).

3. При эмболизации фистулы одноэтапно включена только фистула без рацемозной части? (при отсутствии фистулы ответ «Да»).

4. В случае, если тотальная эмболизация не достигнута, степень деваскуляризации составила менее 60 %?

При ответе «Да» на все вопросы пациента относили в группу «а» (лечение соответствует алгоритму), при хотя бы одном отрицательном ответе – в группу «б» (расхождение с алгоритмом).

Таким образом, было сформировано две пары групп: группа 1а – 99 пациентов, группа 1б – 25 пациентов, группа 2а – 102 пациента, группа 2б – 22 пациента. Созданные группы проверялись на однородность по ряду факторов: полу, возрасту, локализации, типу течения, наличию фистулы, характеру дренажа. С помощью критерия Фишера были оценены расхождения между специалистами по распределению пациентов и кровоизлияний в группах 1.1–2.1 и 1.2–2.2. Статистически значимым считалось значение  $p < 0,05$ .

**Периоперационное сопровождение.** Первичная верификация диагноза проводилась на основании данных магнитно-резонансной томографии (МРТ) или мультиспиральной компьютерной томографии. Ряду пациентов для определения первичного и остаточного объемов АВМ в до- и послеоперационном периодах выполнялась МРТ головного мозга с внутривенным контрастированием методом TOF на аппарате 1.5T Signa HD (General Electric, США). Также всем пациентам до и после операции проводилось транскраниаль-

ное дуплексное сканирование с функциональными пробами для оценки ауторегуляторных резервов. Пациентам с симптоматической эпилепсией выполнялась запись ЭЭГ.

Процедура эмболизации проводилась под общей анестезией, в условиях управляемой гипотензии, с поддержанием систолического давления в диапазоне 80–100 мм рт. ст.

Эндоваскулярные вмешательства выполнялись на установках Infinix (Toshiba, Япония). Для суперселективной катетеризации афферентов АВМ в большинстве случаев использовались микрокатетеры с отделяемым дистальным кончиком Apollo 1,5F (Covidien, США) и Sonic 1,2 и 1,5F (Balt Extrusion, Франция). До появления микрокатетеров с отделяемым кончиком использовался микрокатетер Marathon 1,5F (Covidien, США), который также применялся для катетеризации афферентов из бассейна наружной сонной артерии.

В качестве основного эмболизата использовался Onyx 18 (Covidien, США) по стандартной методике. Цианакрилаты (Hystoacryl, B. Brown, Германия) и n-BCA (Codman, J&J, США) использовались главным образом для закрытия прямых фистул, а также в случае перфорации сосуда.

В послеоперационном периоде поддерживалась системная нормотензия, всем пациентам назначались стероиды, антиконвульсанты по показаниям.

**Интраоперационные измерения давления и скорости в сосудах АВМ.** Девяти пациентам в ходе операции были проведены инвазивные измерения давления и скорости кровотока в афферентах и дренирующей вене АВМ с помощью прибора ComboMap (Volcano, США). Данный прибор позволяет проводить синхронное измерение давления и скорости кровотока в сосуде благодаря комбинированному внутрисосудистому датчику ComboWire, состоящему из датчика давления и ультразвукового доплеровского датчика скорости (частота 12 МГц). Датчик имеет диаметр 0,36 мм, монтирован на низкопрофильной гибкой системе доставки, что дает возможность корректно и безопасно производить измерения в сосудах диаметром от 1,5 мм.

Безопасность и высокая информативность внутрисосудистых измерений в клинике показана при исследовании коронарного русла, имеется сообщение об использовании данного прибора в интракраниальных сосудах для исследования гемодинамики аневризм [6, 10, 13].

Для проведения измерений отбирались первичные (ранее не леченые) пациенты с полусферным АВМ классов А и В по Spetzler-Ponce, с единственной дренирующей веной.

Пяти пациентам измерения проводились только в афферентных артериях, четверым – в артериях и дренирующей вене. Датчик ComboWire заводился в микрокатетер и устанавливался в относительно прямолинейный отрезок афферента АВМ на максимально возможном приближении к узлу. После снятия данных со всех афферентов выполнялась эмболизация, при этом датчик ComboWire устанавливался в эмболизируемый афферент, графики давления и скорости выводились на экран прибора в режиме реального времени. По окончании процедуры эмболизации повторно снимались данные в тех же точках со всех афферентов. В процессе эмболизации проводились этапные ангиографии; эти моменты фиксировались в приборной записи скорости и давления. В дальнейшем при обработке информации анализировался выключенный объем АВМ совместно с соответствующими показателями скорости и давления. Все данные, полученные с помощью прибора ComboMap, через аналого-цифровой преобразователь записывались на жесткий диск компьютера. Была создана специальная программа, с помощью которой полученные цифровые массивы обрабатывались и очищались от шумов. После выделения значимых фрагментов данных проводился их математический компьютерный анализ.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В целях понимания причин развития периперационных геморрагических катастроф и на этой основе разработки принципов предотвращения таких осложнений мы предприняли математическое моделирование процесса внутрисосудистой облитерации АВМ.

**Математическая модель АВМ.** Рассмотрим течение крови через сосуд. Обозначим в некотором сечении сосуда давление как  $p$ , среднюю по сечению скорость течения крови как  $v$ , а площадь выбранного сечения сосуда как  $S$ .

Введем в рассмотрение следующие гидродинамические величины:

– расход  $Q = vS$  – объем крови, проходящий через сечение сосуда в единицу времени;

– полное давление  $P = p + \alpha \rho v^2/2$  – энергия (сумма потенциальной и кинетической), несомая одной единицей объема крови;

– поток энергии  $E = QP$  – полная энергия, проносимая кровью через сечение сосуда в единицу времени.

Здесь  $\rho$  – плотность крови,  $\alpha$  – коэффициент Кориолиса, связанный с неоднородным распределением скорости потока по сечению сосуда. Для установившегося течения крови коэффициент Кориолиса принимается равным двум.

При течении крови через АВМ происходит потеря энергии потока вследствие ее рассеивания на внутренних структурных элементах. Количество энергии, рассеиваемое на всей АВМ в единицу времени, вычисляется по формуле  $W = E_1 - E_2$ . Здесь  $E_1$  – количество энергии, приносимое в АВМ через все афференты, а  $E_2$  – количество энергии, уходящее из АВМ с оттоком по дренирующей вене. Будем называть величину  $W$  нагрузкой на АВМ.

Введем основное для нас понятие «удельной нагрузки» на единицу объема АВМ:  $w = W/V$ , где  $V$  – объем мальформации. Величина удельной нагрузки показывает, сколько энергии рассеивается в единице объема АВМ в единицу времени, т.е. это локальная характеристика нагрузки. Чем больше удельная нагрузка, тем более вероятно разрушение АВМ выделяющейся энергией кровотока.

Построим простую гидравлическую модель мальформации, качественно описывающую возрастание удельной нагрузки при эмболизации. Будем моделировать АВМ пакетом параллельных трубок (рис. 1 слева). Для учета перераспределения потока крови при эмболизации включим эту модель АВМ в систему трубок, приведенную на рис. 1 справа. На нем трубка, идущая из узла 3 в узел 1, моделирует идущие параллельно АВМ здоровые сосуды. Будем считать, что сопротивление трубок, обозначенных на рисунках штриховыми линиями, пренебрежимо мало.

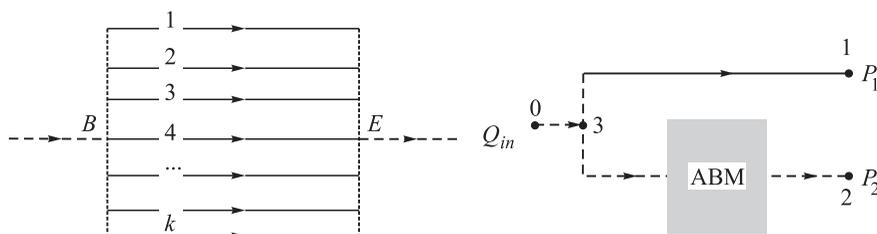


Рис. 1. Гидравлическая модель АВМ: слева – трубчатая модель АВМ, справа – АВМ, включенная в систему нормальных сосудов

Сделаем следующие предположения:

- все трубки в пакете являются одинаковыми;
- будем считать течение в трубках стационарным течением Пуазейля, соответствующим осредненному по времени реальному течению;
- эмболизацию будем моделировать, уменьшая количество трубок в пакете;
- расход  $Q_{in}$  на входе в сосудистую систему и давления  $P_1, P_2$  на выходе из нее считаются постоянными в процессе эмболизации.

Введем обозначения для величин, описывающих пакет трубок:  $k$  – количество трубок в пакете,  $l$  – длина трубки,  $d$  – диаметр трубки,  $Q$  – общий расход через пакет трубок. Поскольку все трубки считаются одинаковыми, то мощность, рассеиваемая всем пакетом трубок, отнесенная к объему этого пакета трубок, равна удельной нагрузке на пакет трубок. Она вычисляется по

формуле  $w = \frac{512 \mu}{\pi^2} \frac{Q^2}{d^6 k^2}$ , где  $\mu$  – коэффициент вязкости крови. Удельная нагрузка, выраженная

через объем пакета  $V = \pi k \frac{d^2}{4} l$  имеет вид

$$w = \frac{32 \mu l^2 Q^2}{d^2 V^2}$$

. В процессе эмболизации  $V$  обозначает неэмболизированный объем. Из последней формулы для удельной нагрузки видно, что для ее определения остается найти расход через пакет трубок  $Q$ . Все остальные переменные не зависят от окружения пакета трубок.

Запишем формулу потока  $Q$  через АВМ (см. рис. 2 справа):

$$Q = \frac{(\pi d_{31}^4 (p_1 - p_2) + 128 \mu l_{31} Q_{in}) d^2 V}{32 \mu (\pi l d_{31}^4 + 4 l_{31} d^2 V)}$$

где  $l_{31}, d_{31}$  – длина и диаметр обходной трубки,  $Q_{in}$  – расход на входе (0). Подставляя это выражение в формулу для удельной нагрузки, окончательно получим:

$$w = \frac{(\pi d_{31}^4 (p_1 - p_2) + 128 \mu l_{31} Q_{in})^2 d^2 l^2}{32 \mu (\pi l^2 d_{31}^4 + 4 l_{31} d^2 V)^2}$$

Типичное поведение удельной нагрузки на построенной гидравлической модели иллюстрируется рис. 2.

На примере интраоперационных измерений у четырех пациентов продемонстрируем характерные изменения скорости кровотока, давления, общей и удельной нагрузок в процессе эмболизации (рис. 3). Для построения графиков нагрузок, помимо значений скорости и давления в приносящих и отводящих сосудах, необходимо знать исходный объем мальформации и его уменьшение

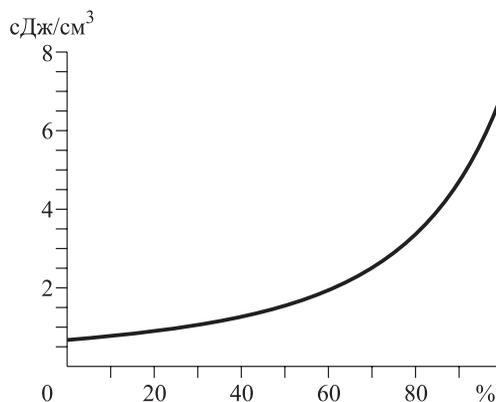


Рис. 2. Типичная кривая роста удельной нагрузки (сДж/см<sup>3</sup>) для гидравлической модели АВМ в процессе эмболизации

в процессе эмболизации. Исходный объем АВМ рассчитывался по результатам постобработки МРТ изображений пациентов, выполненных методом TOF с контрастированием, а степень интраоперационной деваскуляризации узла АВМ – с помощью разработанного нами программного обеспечения [2]. Из сравнения графиков общей и удельной нагрузок можно сделать важный вывод: по мере эмболизации общая нагрузка на АВМ падает в связи с уменьшением расхода через АВМ. В то же время уменьшается объем АВМ, входящий в знаменатель формулы для удельной нагрузки. Измерения показывают, что объем  $V$  АВМ убывает быстрее, чем нагрузка  $W$ . В результате величина удельной нагрузки повышается, причем резкое возрастание удельной нагрузки начинается при достижении 60–70 % эмболизации АВМ. Видно качественное совпадение с модельным графиком (см. рис. 2). Это может объяснить наблюдаемую в клинике тенденцию к разрыву субтотально эмболизированных АВМ.

На основании литературных данных [8, 9, 14, 16, 17, 19, 20, 23], анализа собственных результатов и проведенных модельных расчетов мы разработали алгоритм эндоваскулярного лечения АВМ.

1. Лечение АВМ следует начинать с исключения фистульного компонента [1].

2. В случаях, когда исключение высокопоточной фистулы приводит к выраженной ангиографической перестройке, следует, независимо от размеров АВМ, ограничиться на данном этапе исключением фистулы.

3. Одноэтапная эмболизация допустима при АВМ класса А по Spetzler-Ponce, а также небольших АВМ глубинной локализации класса В. Таким образом, решающим в разделении эмболизации на этапы является объем АВМ и наличие/отсутствие прямой фистулы.

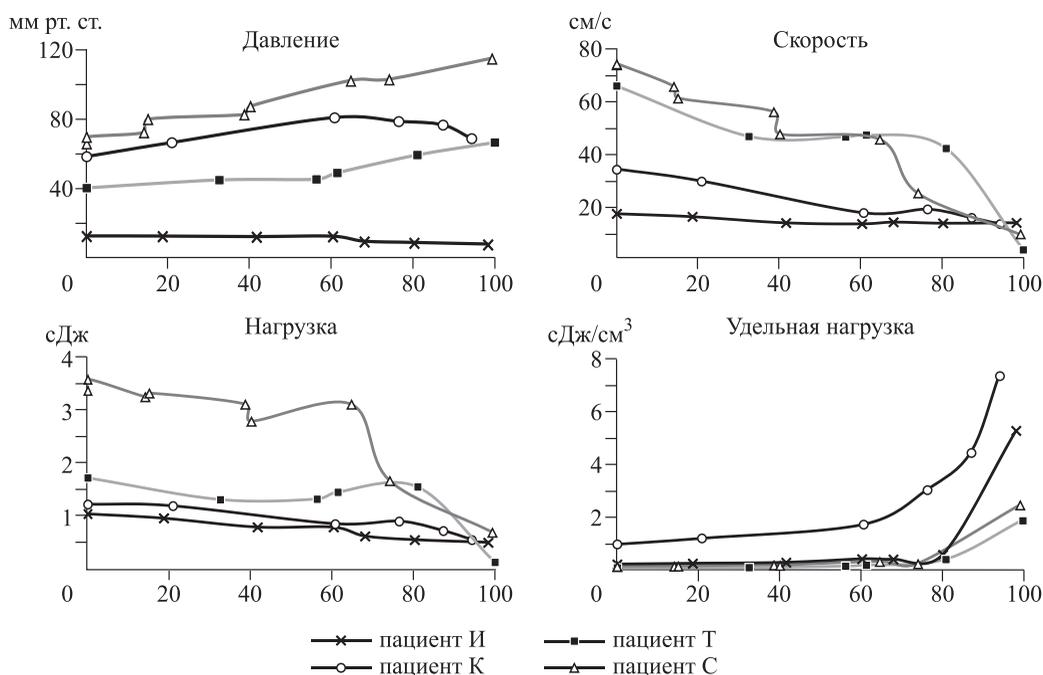


Рис. 3. Изменение давления, скорости, нагрузки и удельной нагрузки в зависимости от степени эмболизации АВМ

Таблица

Результаты лечения пациентов с супратенториальными АВМ

Признак	Класс А	Класс В	Всего
Количество пациентов	45	79	124
Количество эмболизационных сессий	59	157	216
Количество тотальных эмболизаций	27 (60 %)	19 (24 %)	46 (37,1 %)
Количество эмболизационных сессий среди тотально эмболизированных	36	29	65
Среднее количество сессий/пациента среди тотально эмболизированных	1,3	1,53	1,4
Количество законченных случаев (мультиимодальный подход)	37 (82,2 %)	42 (53 %)	79 (63,7 %)
Из них микрохирургическое удаление: планово	2	8	10
экстренно	3	5	8
Экстренные вмешательства без удаления АВМ (НВД, удаление гематомы, декомпрессивная трепанация)	1	5	6
Радиохирургия*	3	2	5
Геморрагические осложнения (гемодинамические, без учета манипуляционных)	5	10	15
% геморрагических осложнений/пациента	11,1 %	3,3 %	12,1 %
% геморрагических осложнений/процедуру	8,5 %	2,9 %	6,9 %
Инвалидизация/летальность в результате периперационного кровоизлияния	2 (4,4 %)	5 (6,3 %)	7 (5,6 %)
Летальность	1 (2,2 %)	0	1 (0,8 %)

Примечание. \* – нет отдаленных результатов.

4. При АВМ средних и крупных размеров лечение должно быть этапным, причем за одну сессию не следует превышать выключения 60 % объема АВМ.

5. Приоритетными в выключении, помимо фистульных компонентов, являются компартменты АВМ, содержащие интранидальные аневризмы как потенциальные источники геморрагии.

6. При достижении субтотального тромбирования АВМ необходимо стремиться довести эмболизацию до конца; при невозможности добиться полного выключения АВМ эндоваскулярным методом следует в ближайшее время прибегнуть к микрохирургическому удалению или радиохирургическому лечению. Последнее менее предпочтительно из-за отсроченного эффекта и должно рассматриваться по остаточному принципу.

Результаты лечения 124 пациентов приведены в таблице. Полученные результаты сопоставимы с данными, опубликованными в мировой литературе [15].

Как было сказано выше, для проверки рабочей гипотезы по результатам опроса двух экспертов было сформировано две пары групп. Частота кровоизлияний в группах, где тактика эмболизации соответствовала алгоритму, составила 5,1 и 3,9 % (соответственно 5 из 99 и 4 из 102 пациентов), в группах несоответствия алгоритму – 40 и 50 % (10 из 25 и 11 из 22). Статистический анализ результатов показал отсутствие значимых различий между оценками специалистов в количественном распределении пациентов по группам ( $F = 0,75$ ;  $p > 0,05$ ). Качественно распределение различалось по 5 пациентам (отнесение одного пациента в разные группы по результатам опросников). Как в первой, так и во второй паре групп получено достоверное снижение частоты кровоизлияний при соблюдении алгоритма ( $F_1 = 4,08$ ,  $p < 0,01$ ;  $F_2 = 4,994$ ,  $p < 0,01$  соответственно).

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Введено понятие удельной нагрузки – количества энергии, выделяющейся при прохождении крови через единицу объема АВМ в единицу времени. На созданной математической гидравлической модели АВМ показано резкое увеличение удельной нагрузки при достижении 60 % выключения сосудистой сети.

2. На серии интраоперационных измерений продемонстрировано стереотипное поведение удельной нагрузки, качественно и количественно соответствующее модельному.

3. Математически и экспериментально обоснован критический объем одноэтапного выключения АВМ, равный 60 %, что соответствует

клиническим наблюдениям. На модели показан приоритет выключения прямых фистул.

4. Предложена последовательность и этапность проведения эндоваскулярного выключения АВМ с учетом особенностей ангиоархитектоники и полученных представлений об интраоперационных изменениях локальной гемодинамики АВМ.

5. У пациентов, оперированных в соответствии с разработанным алгоритмом, выявлено статистически достоверное снижение количества периперационных кровоизлияний.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 12-01-31112, № 13-01-00270), Президиума СО РАН (грант ИП №44), ОЭММПУ РАН (грант № 2.13.4).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Панарин В.А., Орлов К.Ю., Кривошапкин А.Л. и др. Использование гидродинамических расчетов в выборе сценария эмболизации церебральной артериовенозной мальформации с фистульным компонентом // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2012. (3). 39–43.

2. Сергеев Г.С., Орлов К.Ю., Кривошапкин А.Л. и др. Программное обеспечение для оценки степени деваскуляризации артериовенозных мальформаций // Патология кровообращения и кардиохирургия. 2013. (1). 25–28.

3. Ayad M., Eskioğlu E., Mericle R.A. Onyx: a unique neuroembolic agent // Expert Rev. Med. Devices. 2006. 3. (6). 705–715.

4. Brown R.D. Jr., Wiebers D.O., Forbes G. et al. The natural history of unruptured intracranial arteriovenous malformations // J. Neurosurg. 1988. 68. (3). 352–357.

5. Deruty R., Pelissou-Guyotat I., Amat D. et al. Multidisciplinary treatment of cerebral arteriovenous malformations // Neurol. Res. 1995. 17. (3). 169–177.

6. Ferns S.P., Schneiders J.J., Siebes M. et al. Intracranial blood-flow velocity and pressure measurements using an intra-arterial dual-sensor guidewire // AJNR Am. J. Neuroradiol. 2010. 31. (2). 324–326.

7. Graf C.J., Perret G.E., Torner J.C. Bleeding from cerebral arteriovenous malformations as part of their natural history // J. Neurosurg. 1983. 58. (3). 331–337.

8. Haw C.S., ter Brugge K., Willinsky R. et al. Complications of embolization of arteriovenous malformations of the brain // J. Neurosurg. 2006. 104. 226–232.

9. Heidenreich J.O., Hartlieb S., Stendel R. et al. Bleeding complications after endovascular therapy of cerebral arteriovenous malformations // AJNR Am. J. Neuroradiol. 2006. 27. 313–316.

10. Hoole S.P., Heck P.M., White P.A. et al. Stunning and cumulative left ventricular dysfunction occurs late after coronary balloon occlusion in humans insights from simultaneous coronary and left ventricular hemodynamic assessment // JACC Cardiovasc. Interv. 2010. 3. (4). 412–418.
11. Jafar J.J., Davis A.J., Berenstein A. et al. The effect of embolization with N-butyl cyanoacrylate prior to surgical resection of cerebral arteriovenous malformations // J. Neurosurg. 1993. 78. (1). 60–69.
12. Katsaridis V., Papagiannaki C., Aimar E. Curative embolization of cerebral arteriovenous malformations (AVMs) with Onyx in 101 patients // Neuroradiology. 2008. 50. (7). 589–597.
13. Kolli K.K., Helmy T.A., Peelukhana S.V. et al. Functional diagnosis of coronary stenoses using pressure drop coefficient: A pilot study in humans // Catheter Cardiovasc. Interv. 2013. doi: 10.1002/ccd.25085.
14. Ledezma C.J., Hoh B.L., Carter B.S. et al. Complications of cerebral arteriovenous malformation embolization: Multivariate analysis of predictive factors // J. Neurosurg. 2006. 58. 602–611.
15. Liu L., Jiang C., He H. et al. Periprocedural bleeding complications of brain AVM embolization with Onyx // Interv. Neuroradiol. 2010. 16. (1). 47–57.
16. Maimon S., Strauss I., Frolov V. et al. Brain arteriovenous malformation treatment using a combination of Onyx and a new detachable tip microcatheter, SONIC: short-term results // AJNR Am. J. Neuroradiol. 2010. 31. (5). 947–954;
17. Massoud T.F., Hademenos G.J., Young W.L. et al. Can induction of systemic hypotension help prevent nidus rupture complicating cerebral arteriovenous malformations embolization? Analysis underlying mechanisms achieved using a theoretical model // Am. J. Neuroradiol. 2000. 21. 1255–1267.
18. Ondra S.L., Troupp H., George E.D. et al. The natural history of symptomatic arteriovenous malformations of the brain: a 24-year follow-up assessment // J. Neurosurg. 1990. 73. (3). 387–391.
19. Perez-Higueras A., Lopez R.R., Tapia D.Q. Endovascular treatment of cerebral AVM: our experience with Onyx // Interv. Neuroradiol. 2005. 11. 141–157.
20. Picard L., Da Costa E., Anxionnat R. et al. Acute spontaneous hemorrhage after embolization of brain arteriovenous malformation with N-butyl-cyanoacrylate // J. Neuroradiol. 2001. 28. 147–165.
21. Saatci I., Geyik S., Yavuz K., Cekirge H.S. Endovascular treatment of brain arteriovenous malformations with prolonged intranidal Onyx injection technique: long-term results in 350 consecutive patients with completed endovascular treatment course // J. Neurosurg. 2011. 115. (1). 78–88.
22. Spetzler R.F., Martin N.A. A proposed grading system for arteriovenous malformations // J. Neurosurg. 1986. 65. (4). 476–483.
23. Strauss I., Frolov V., Buchbut D. et al. Critical appraisal of endovascular treatment of brain arteriovenous malformation using Onyx in a series of 92 consecutive patients // Acta Neurochir. (Wien). 2013. 155. (4). 611–617.
24. Wilkins R.H. Natural history of intracranial vascular malformations: a review // Neurosurgery 1985. 16. (3). 421–430.

## **HEMODYNAMIC HEMORRHAGE PREVENTION ALGORITHM DURING CEREBRAL ARTERIOVENOUS MALFORMATIONS EMBOLIZATION**

**Aleksei Leonidovich KRIVOSHAPKIN<sup>1,4</sup>, Vyacheslav Aleksandrovich PANARIN<sup>1</sup>, Kirill Yurevich ORLOV<sup>1,4</sup>, Vadim Vyacheslavovich BERESTOV<sup>1</sup>, Timur Salimovich SHAYAKHMETOV<sup>1</sup>, Anton Viktorovich GORBATYKH<sup>1</sup>, Dmitry Sergeevich KISLITSIN<sup>1</sup>, Aleksandr Pavlovich CHUPAKHIN<sup>2,3</sup>, Aleksandr Aleksandrovich CHEREVKO<sup>2,3</sup>, Aleksandr Kancherovich KHE<sup>2,3</sup>, Gleb Sergeevich SERGEEV<sup>4</sup>, Dmitry Viktorovich CHEBYKIN<sup>4</sup>**

<sup>1</sup> *Novosibirsk State Research Institute of Circulation Pathology  
630055, Novosibirsk, Rechkunovskaya str., 15*

<sup>2</sup> *Lavrentyev Institute of Hydrodynamics  
630090, Novosibirsk, Acad. Lavrentyev av., 15*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State University  
630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2*

<sup>4</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasny av., 52*

The hemodynamic mechanisms causing periprocedural bleeding during embolization of cerebral arteriovenous malformations (AVMs) have been under consideration. The new definition of unit load has been introduced as quantity of energy produced when blood flows through the unit of AVM volume in the unit of time. Mathematical model shows dramatic increase of unit load when 60–70 % of AVM is embolized, which explains the phenomenon of rupture of subtotally obliterated AVMs. Quantitative and qualitative concordance of the model with clinical data was demonstrated. It was achieved by invasive measurement of blood pressure and flow velocity in feeding and draining vessels of AVM using ComboMap (Volcano, USA) device with subsequent plotting of the unit load in life patients. Algorithm with emphasis on angioarchitectonical peculiarities and new understanding of AVM hemodynamics has been proposed. Retrospective analysis of anonymous digital videos of endovascular procedures of 124 consecutive patients with Spetzler-Ponce A and B class AVMs was performed by two interventional neuroradiologists (referred to as 1 and 2). Two pairs of statistically homogenous groups were formed: the first one with patients who were treated in accordance with the algorithm (group a), and the second with those who were not (group b). Hemorrhage rate in group 1a was 5 of 99 (5.1 %) and in group 2a it was 4 of 102 patients (3.9 %), while in group 1b and 2b it consisted 10 of 25 (40 %) and 11 of 22 patients (50 %) respectively. There was no statistically significant difference between the opinions of specialists. In both pairs of groups the statistically significant decrease of hemorrhage rate was achieved by the introduction of algorithm ( $F_1 = 4,08; p < 0,01, F_2 = 4,994; p < 0,01$ ).

**Key words:** arteriovenous malformation, embolization, hemorrhage, mathematical model, fistula, unit load.

**Krivoshapkin A.L.** – doctor of medical sciences, professor, corresponding member of the RAMN, head of neurosurgical center, head of neurosurgical chair, e-mail: alkr01@yandex.ru

**Panarin V.A.** – neurosurgeon, e-mail: p0203@mail.ru

**Orlov K.Yu.** – candidate of medical sciences, senior researcher, head of neurosurgery department, head of endovascular neurosurgery research group, assistant professor, e-mail: orlov72@mail.ru

**Berestov V.V.** – junior researcher in the group of endovascular neurosurgery, e-mail: 3021@mail.ru

**Shayakhmetov T.S.** – junior researcher of the group of endovascular neurosurgery, e-mail: ts-shayakhmetov@yandex.ru

**Gorbatykh A.V.** – neurosurgeon, e-mail: antonosjn@mail.ru

**Kislitsin D.S.** – neurosurgeon, e-mail: kislitsinmd@gmail.com

**Chupakhin A.P.** – doctor of physical and mathematical sciences, head of the laboratory, professor, head of the chair

**Cherevko A.A.** – candidate of physical and mathematical sciences, researcher, assistant professor

**Khe A.K.** – candidate of physical and mathematical sciences, researcher, assistant professor

**Sergeev G.S.** – resident of the neurosurgery chair, e-mail: dr.gssergeev@gmail.com

**Chebykin D.V.** – candidate of medical sciences, assistant professor of the chair for public health and healthcare

## ЧАСТОТА ЗАБОЛЕВАНИЙ ВНУТРЕННИХ ОРГАНОВ ПРИ БРОНХООБСТРУКТИВНОМ СИНДРОМЕ ПО ДАННЫМ СКРИНИНГА ГОРОДСКОЙ СИБИРСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ (ПРОЕКТ НАРИЕЕ)

Наталья Алексеевна КОВАЛЬКОВА<sup>1</sup>, Надежда Ивановна ЛОГВИНЕНКО<sup>1,2</sup>,  
Михаил Иванович ВОЕВОДА<sup>1</sup>, Софья Константиновна МАЛЮТИНА<sup>1,2</sup>

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

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

Изучена частота заболеваний внутренних органов по данным скрининга открытой популяции г. Новосибирска при бронхообструктивном синдроме. В работе использованы материалы популяционного одномоментного исследования, полученные в рамках международного проекта <НАРИЕЕ> в 2002–2005 гг. («Детерминанты сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе: многоцентровое когортное исследование»). Изучена частота диагностированных заболеваний (по данным анкеты-опросника) независимо от факта госпитализации. Обнаружено, что при бронхообструктивном синдроме более высока, чем в общей популяции, частота встречаемости не только бронхиальной астмы и хронических заболеваний дыхательных путей, но и артериальной гипертензии, мозгового инсульта, стенокардии напряжения / ИБС, острого сердечного приступа / острого инфаркта миокарда. Также чаще, чем в общей популяции, при бронхообструктивном синдроме регистрировались аллергические заболевания.

**Ключевые слова:** бронхообструктивный синдром, одномоментное популяционное исследование, частота заболеваний внутренних органов.

Бронхообструктивный синдром (БОС) – это состояние, ощущаемое больным как одышка. Помимо субъективных признаков, БОС оценивается по результатам спирометрического исследования: при снижении объема форсированного выдоха за 1-ю секунду (ОФВ1) менее 80 % от должной величины и отношения ОФВ1/ФЖЕЛ (форсированной жизненной емкости легких) менее 70 % констатируется бронхиальная обструкция [6]. БОС может быть проявлением многих заболеваний, но наиболее частыми причинами являются хроническая обструктивная болезнь легких и бронхиальная астма [1].

В настоящее время хроническую обструктивную болезнь легких (ХОБЛ) рассматривают как заболевание дыхательных путей и легких с системными последствиями. [8]. К основным системным проявлениям ХОБЛ относят снижение питательного статуса, дисфункцию скелетных мышц, остеопороз, анемию и сердечно-сосудистые осложнения [7].

Среди лидирующих причин смерти у больных ХОБЛ признаны ишемическая болезнь сердца (ИБС) и сердечная недостаточность [10]. По данным крупномасштабных исследований, риск смерти от сердечно-сосудистой патологии у больных ХОБЛ повышен в 2–3 раза и частота сердечно-сосудистых смертей составляет приблизительно 50 % от общего количества смертельных случаев [11]. Предполагается, что усиление локального воспаления в бронхах, легочной паренхиме, сосудах оказывает системное воздействие и способствует прогрессированию ХОБЛ, развитию атеросклероза и сердечной патологии у данных пациентов [12].

Установлено, что частота артериальной гипертензии (АГ) при ХОБЛ колеблется в довольно широком диапазоне – от 6,8 до 76,3 %, в среднем составляя 34,3 % [8]. Высокая частота АГ регистрируется и при бронхиальной астме. В литературе имеются указания на то, что АГ встречается

Ковалькова Н.А. – аспирант, e-mail: [terap2000@yandex.ru](mailto:terap2000@yandex.ru)

Логвиненко Н.И. – д.м.н., проф., e-mail: [nadejda-logvinenko@yandex.ru](mailto:nadejda-logvinenko@yandex.ru)

Воевода М.И. – д.м.н., проф., член-кор. РАМН, директор, e-mail: [mvoevoda@ya.ru](mailto:mvoevoda@ya.ru)

Малютина С.К. – д.м.н., проф., главный научный сотрудник, e-mail: [smalyutina@hotmail.com](mailto:smalyutina@hotmail.com)

у 65,1 % больных бронхиальной астмой, что значительно чаще, чем в популяции [4].

Согласно данным исследования, проведенного сотрудниками Саратовского государственного университета, среди лиц с хроническим бронхитом и бронхиальной астмой АГ регистрируется в 34 % случаев [4], при этом чаще она встречается у пациентов с тяжелой обструкцией по сравнению с теми, кто не имеет этих нарушений или у кого они умеренные [5].

На патогенетические взаимоотношения ХОБЛ и АГ существуют различные точки зрения: оба заболевания развиваются независимо друг от друга под влиянием факторов риска; ХОБЛ является причиной развития АГ [2].

Таким образом, учитывая значимость сопутствующей патологии, разнородные данные о ее распространенности при хронических заболеваниях легких, изучение частоты диагностированной патологии при БОС является актуальным вопросом.

Цель исследования – изучить частоту заболеваний внутренних органов при БОС по данным скрининга открытой популяции г. Новосибирска.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использованы материалы популяционного одномоментного исследования, полученные в рамках проекта международной программы НАРПЕЕ в 2002–2005 гг. («Детерминанты сердечно-сосудистых заболеваний в Восточной Европе: когортное исследование», руководители – проф. С.К. Малютина, акад. РАМН Ю.П. Никитин). Результаты исследования показали высокую распространенность терапевтических заболеваний в городской популяции и у мужчин, и у женщин в возрасте 45–69 лет [4].

Выборки были сформированы на основе избирательных списков с помощью таблицы случайных чисел. Объем выборки определялся протоколом программы и составил 9397 человек. Исследование одобрено Этическим комитетом ФГБУ НИИ терапии СО РАМН, протокол № 1 от 06.02.2002. У 73,2 % (6875) лиц из всех обследованных проведено исследование функции внешнего дыхания путем трехкратного измерения ОФВ<sub>1</sub>, ФЖЕЛ, среди них мужчин было 3226 (46,9 %, средний возраст 57,75 ± 6,82), женщин – 3649 (53,1 %, средний возраст 57,64 ± 6,96).

Спирометрию проводили на аппарате Micro Plus (MicroMedical, Великобритания). Результаты спирометрии фиксировали и обрабатывали компьютерной диагностической программой Spida 4. Проведен индивидуальный расчет индексов ОФВ<sub>1</sub>, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ без определения теста на

обратимость бронхообструкции с целью выявления лиц с ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ < 70 % и ОФВ<sub>1</sub> < 80 %. Калькуляцию индексов (ОФВ<sub>1</sub>/должный ОФВ<sub>1</sub>, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ) проводили с использованием сравнительных уравнений должных значений, полученных в ходе третьего национального исследования США (Third National Health and Nutrition Examination Survey – NHANES III) [11].

БОС регистрировали при следующих показателях: 1 – ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ < 70 % (при ОФВ<sub>1</sub> ≥ 80 % и ОФВ<sub>1</sub> < 80 %); 2 – ОФВ<sub>1</sub> < 80 %, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ ≥ 70 %.

Наличие заболеваний внутренних органов оценивали на основании персональной анкеты-опросника «Здоровье и образ жизни» в соответствии с требованиями протокола НАРПЕЕ. Согласно протоколу программы, при заполнении анкеты учитывали следующие ранее диагностированные заболевания: острый сердечный приступ / острый инфаркт миокарда, стенокардия напряжения / ИБС, мозговой инсульт, хронические заболевания дыхательных путей, рак, язва желудка, желчекаменная болезнь, почечно-каменная болезнь, бронхиальная астма, различные виды аллергии, включая атопическую экзему, сенную лихорадку и другие, болезни позвоночника и суставов, артериальная гипертензия. Для анализа выделены 2 группы: 1 – наличие заболевания (независимо от факта госпитализации), 2 – отсутствие заболевания.

Фактический материал обрабатывали с использованием методов описательной статистики (частоты, проценты и процентильное распределение). Сравнение частот в группах проводили с помощью критерия  $\chi^2$  (Пирсона). Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез принимали равным 0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В общей выборке БОС был выявлен у 19,48 % из 6875 обследованных (среди лиц 45–54 лет – у 14,80 %, 55–64 лет – у 20,85 %, 65–69 лет – у 25,49 %). У мужчин БОС выявлялся в 23,47 % случаев (757 от 3226 обследованных), у женщин (582 от 3649 обследованных) – в 15,95 % ( $p < 0,001$ ).

Результаты исследования частоты ранее диагностированных заболеваний внутренних органов при БОС представлены в табл. 1. Самой распространенной патологией, как во всей популяции, так и при БОС, были заболевания опорно-двигательного аппарата. Достоверно чаще при БОС, чем во всей популяции, регистрировались хронические заболевания дыхательных путей, аллергические заболевания, артериальная гипер-

Таблица 1

Частота заболеваний внутренних органов у лиц с БОС в популяционной выборке мужчин и женщин 45–69 лет г. Новосибирска

Заболевание	Во всей популяции (n = 6875)		При БОС (n = 1339)		p
	n	%	n	%	
Болезни позвоночника и суставов	4550	66,2	870	65,0	0,4
Артериальная гипертензия	3655	53,2	758	56,6	0,02
Хронические заболевания дыхательных путей	1589	23,1	505	37,7	0,0001
Аллергические заболевания	1362	19,8	297	22,2	0,048
Стенокардия напряжения/ИБС	1082	15,7	254	19,0	0,003
Язва желудка	970	14,1	212	15,8	0,1
Желчекаменная болезнь	696	10,1	137	10,2	0,9
Почечно-каменная болезнь	630	9,2	115	8,6	0,5
Острый сердечный приступ/острый инфаркт миокарда	493	7,2	136	10,2	0,0002
Мозговой инсульт	321	4,7	83	6,2	0,02
Рак	191	2,8	50	3,7	0,058

Примечание. p – достоверность различия частоты заболевания во всей популяции и при БОС.

Таблица 2

Частота заболеваний легких у лиц с БОС в популяционной выборке мужчин и женщин 45–69 лет г. Новосибирска

Наличие БОС	Пол	Выборка, n	Бронхиальная астма		Хронические заболевания дыхательных путей	
			n	%	n	%
БОС (+)	Мужчины	757	52	6,9	256	33,8
	Женщины	582	61	10,5*	249	42,8***
	Оба пола	1339	113	8,4	505	37,7
БОС (–)	Мужчины	2469	23	0,9	368	14,9
	Женщины	3067	67	2,2***	716	23,3***
	Оба пола	5536	90	1,6	1084	19,6
Вся популяция	Мужчины	3226	75	2,3	624	19,3
	Женщины	3649	128	3,5**	965	26,4***
	Оба пола	6875	203	3,0	1589	23,1

Примечание. БОС (+) – наличие БОС, БОС (–) – отсутствие БОС; отличие от величины соответствующего показателя у мужчин из соответствующей группы статистически значимо: \* – при  $p < 0,05$ ; \*\* – при  $p < 0,01$ ; \*\*\* – при  $p < 0,001$ .

тензия, стенокардия напряжения/ИБС, острый сердечный приступ/острый инфаркт миокарда, мозговой инсульт. Не выявлено достоверных различий в частоте язвенной болезни желудка в общей популяции и при БОС, желчекаменной болезни, почечно-каменной болезни, раке.

Отдельно проанализирована частота ранее диагностированных заболеваний легких ввиду их значимости в структуре БОС (табл. 2). Как у мужчин, так и у женщин достоверно чаще, чем во всей популяции, независимо от наличия БОС среди ранее диагностированной легочной патологии регистрировались хронические заболевания дыхательных путей, бронхиальная астма.

Таким образом, полученные нами результаты не противоречат мировым данным и литературы о большей распространенности сердечно-сосудистой патологии и хронических заболеваниях легких при БОС, чем во всей популяции. Помимо более высокой частоты при БОС диагностированной бронхиальной астмы и хронических заболеваний дыхательных путей, что является закономерным, чаще, чем во всей популяции, зарегистрированы артериальная гипертензия, мозговой инсульт, стенокардия напряжения/ИБС, острый сердечный приступ/острый инфаркт миокарда. Чаще, чем во всей популяции, при БОС также регистрировались аллергические заболевания.

Полученные данные подчеркивают важность устранения факторов риска, общих для сердечно-сосудистых заболеваний и заболеваний бронхолегочной системы и комплексной профилактики этих заболеваний.

#### БЛАГОДАРНОСТИ

Проект НАPIEE финансировался грантами Wellcome Trust (064947/Z/01/Z; 081081/Z/06/Z), National Institute of Aging (1R01 AG23522-01).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Бабак С.Л., Голубев Л.А., Горбунова М.В.* Бронхообструктивный синдром в практике терапевта // Трудный пациент. 2010. (11). 36–41.
2. *Задионченко В.С., Адашева Т.В., Шилова Е.В.* Клинико-функциональные особенности артериальной гипертензии у больных хроническими обструктивными болезнями легких // Рус. мед. журн. 2003. 11. 535–538.
3. *Никитин Ю.П., Малютин С.К., Денисова Д.В., Симонова Г.И.* Терапевтические заболевания в сибирской популяции // Четвертый Национальный конгресс терапевтов. М., 2009. 181–182.
4. *Рощина А.А.* Артериальная гипертензия у больных бронхиальной астмой: автореф. дис. ... канд. мед. наук. Саратов, 2011.
5. *Чазова И.Е.* Артериальная гипертензия и ХОБЛ // Consilium medicum. 2006. 5. (8). 30–33.
6. *Шмелев Е.И.* Бронхиальная обструкция при хронической обструктивной болезни легких. Стратегические вопросы терапии // Справочник поликлинического врача. 2006. 1. (4). 43–49.
7. *Agusti A.G.N., Noguera A., Sauleda J.* Systemic effects of chronic obstructive pulmonary disease // Eur. Respir. J. 2003. 21. 347–360.
8. Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease (GOLD). Global strategy for diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease. NHLBI/WHO workshop report. Updated 2011. [www.goldcopd.org/](http://www.goldcopd.org/).
9. *Hankinson J.L., Odencrantz J.R., Fedan K.B.* Spirometric reference values from a sample of the general U.S. population // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 1999. 159. 179–187.
10. *Hansell A.L., Walk J.A., Soriano J.B.* What do chronic obstructive pulmonary disease patients die from? A multiple cause coding analysis // Eur. Respir. J. 2003. 22. 809–814.
11. *Huiart L., Ernst P., Suissa S.* Cardiovascular morbidity and mortality in COPD // Chest. 2005. 128. 2640–2646.
12. *Sin D.D., Man S.F.* Why are patients with chronic obstructive pulmonary disease at increased risk of cardiovascular diseases? The potential role of systemic inflammation in chronic obstructive pulmonary disease // Circulation. 2003. 107. 1514–1519.

## **THE FREQUENCY OF INTERNAL DISEASES AT AIRFLOW OBSTRUCTION ACCORDING TO SCREENING OF SIBERIAN URBAN POPULATION (HAPIEE STUDY)**

**Natalya Alekseevna KOVALKOVA<sup>1</sup>, Nadezhda Ivanovna LOGVINENKO<sup>1,2</sup>, Mikhail Ivanovich VOEVODA<sup>1</sup>, Soph'a Konstantinovna MALYUTINA<sup>1,2</sup>**

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

<sup>2</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, 2Novosibirsk, Krasny av., 52*

---

The frequency of internal diseases according to screening the Novosibirsk open population at airflow obstruction has been studied. The population-based cross-sectional study materials obtained through of the international project <HAPIEE> in 2002–2005 have been used. («The determinants of cardiovascular disease in Eastern Europe: a multicentre cohort study»). The frequency of diagnosed diseases (according to questionnaire) regardless the fact of hospitalization has been investigated. It has been revealed that the frequency of asthma and chronic airway diseases, arterial hypertension, stroke, angina/oronary artery disease, acute heart attack/acute myocardial infarction was recorded higher than in the general population. Allergic diseases have been registered more often at airflow obstruction than in the general population.

---

**Key words:** airflow obstruction, cross-sectional population-based study, the frequency of internal diseases.

*Kovalkova N.A. – postgraduate student, e-mail: terap2000@yandex.ru*

*Logvinenko N.I. – doctor of medical sciences, professor, e-mail: nadejda-logvinenko@yandex.ru*

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

*Malyutina S.K. – doctor of medical sciences, professor, chief researcher, e-mail: smalyutina@hotmail.com*

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ МОЛЕКУЛЯРНЫХ МАРКЕРОВ ЛИМФАТИЧЕСКИХ СОСУДОВ LYVE-1 И ПОДОПЛАНИН ПРИ РАКЕ НИЖНЕЙ ГУБЫ И МЕЛАНОМЕ КОЖИ

Наталья Петровна БГАТОВА<sup>1</sup>, Ирина Сергеевна КУЛИКОВА<sup>1</sup>,  
Алексей Игоревич ЛОМАКИН<sup>2</sup>, Надежда Борисовна ИСАКОВА<sup>2</sup>,  
Виктор Борисович ПРОХОЖЕВ<sup>2</sup>, Игорь Викторович КАЧЕСОВ<sup>2</sup>,  
Сергей Александрович ФУРСОВ<sup>2</sup>, Юрий Иванович БОРОДИН<sup>1</sup>,  
Юрий Эммануилович НАРОВ<sup>3</sup>, Андрей Юрьевич ЛЕТЯГИН<sup>1</sup>,  
Владимир Евгеньевич ВОЙЦИЦКИЙ<sup>2</sup>, Владимир Иосифович КОНЕНКОВ<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> Новосибирский областной онкологический диспансер ГБУЗ НСО  
630108, г. Новосибирск, ул. Плехотного, 2

<sup>3</sup> ГОУ ВПО Новосибирский государственный медицинский университет Минздрава России  
630091, г. Новосибирск, Красный пр., 52

Проведено иммуногистохимическое исследование лимфатического русла двух видов опухолей, различающихся по агрессивности злокачественного роста и метастатическому потенциалу – рака нижней губы и меланомы кожи. Использовали антитела к маркерам эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и подоплатин. В обоих случаях обнаружено большее содержание подоплатин-позитивных лимфатических сосудов, чем LYVE-1+ позитивных. Более значительное, чем при раке нижней губы, преобладание экспрессирующих подоплатин сосудов по периферии опухолевого роста по сравнению с пограничными к опухолевому узлу участками при меланоме кожи, вероятно, свидетельствует о новообразовании лимфатических сосудов. Отмеченные отличия в развитии лимфатической сети в опухолевой ткани у пациентов с меланомой кожи могут быть связаны с прогрессированием заболевания, что требует дальнейших исследований.

**Ключевые слова:** рак нижней губы, меланома кожи, LYVE-1+ сосуды, подоплатин+ сосуды.

Для иммуногистохимического (ИГХ) анализа опухолей и их метастазов используется широкий спектр тканеспецифичных и цитоспецифичных маркеров, маркеров пролиферации, опухолеассоциированных антигенов, онкофетальных антигенов, гормонов, ферментов и др. [4]. Задачей молекулярного обследования онкологических

больных является не только накопление информации и пополнение баз данных для будущих ретроспективных обобщений, но и выявление прогностического значения молекулярных маркеров и их влияния на выбор терапевтической программы [1]. В последнее время важную роль в прогрессии опухолевого роста и метастазирова-

*Бгатова Н.П.* – д.б.н., проф., зав. лабораторией, e-mail: n\_bgatova@ngs.ru

*Куликова И.С.* – заочный аспирант, e-mail: kis1975@rambler.ru

*Ломакин А.И.* – заочный аспирант, e-mail lomakin@rocketmail.com

*Исакова Н.Б.* – врач-патологоанатом, e-mail nadin-isakova@mail.ru

*Прохожев В.Б.* – врач-патологоанатом

*Качесов И.В.* – зав. патолого-анатомическим отделением, главный патологоанатом

*Фурсов С.А.* – д.м.н., проф. кафедры онкологии, хирург высшей категории, зав. хирургическим отделением, e-mail fursov.serega2011@yandex.ru

*Бородин Ю.И.* – д.м.н., проф., академик РАМН, e-mail lymph@soramn.ru

*Наров Ю.Э.* – д.м.н., проф., заведующий кафедрой онкологии

*Летягин А.Ю.* – д.м.н., проф., зам. директора по научной работе, e-mail letyagin-andrey@yandex.ru

*Войцицкий В.Е.* – д.м.н., проф. кафедры онкологии, зам. главного врача по лечебной части, главный онколог

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

ния уделяют опухолевому лимфангиогенезу [20]. В качестве молекулярных маркеров опухолевого лимфангиогенеза наиболее часто используют LYVE-1, подоплатин и Prox-1 [2, 11]. Данные молекулярные маркеры позволяют выявлять эндотелиальные клетки существующих и новообразованных лимфатических сосудов. Имеются сведения о наличии взаимосвязи между плотностью лимфатических сосудов в опухоли и выживаемостью пациентов [18]. В настоящее время доказано, что степень развития опухолевого лимфангиогенеза может служить прогностическим критерием риска метастазирования в лимфатический узел [13]. Для повышения вероятности обнаружения инвазии опухолевых клеток важно выявление лимфатических эндотелиальных маркеров. В частности, было установлено, что экспрессия подоплатина ассоциируется с высоким риском метастазирования плоскоклеточного рака кожи [17].

Известно, что опухоли обладают неодинаковой скоростью злокачественного роста и метастазирования. В связи с этим представляет интерес вопрос о существовании особенностей лимфатического русла опухолей, различающихся по агрессивности злокачественного роста и метастатическому потенциалу. К опухолям с низкой степенью метастазирования можно отнести рак губы, который составляет около 3 % всех злокачественных новообразований. Однако в последнее время частота данного заболевания значительно возросла [9]. В большинстве случаев опухоль имеет строение плоскоклеточного ороговевающего рака со сравнительно медленным ростом и малой инфильтрацией тканей. Более быстрым инфильтративным ростом и ранним метастазированием в регионарные лимфатические узлы – подбородочные, подчелюстные, в район яремной вены – характеризуется неороговевающий плоскоклеточный рак. При I стадии метастазы наблюдаются в 5–8 %, при II – в 15–20 %, при III – в 35 %, при IV – в 70 % случаев [5]. Известно, что рак губы диагностируется чаще всего на III–IV стадиях, поэтому актуальна ранняя диагностика злокачественного роста, что позволяет избежать травмирующих оперативных вмешательств и возможного метастазирования [10]. Одно из наиболее агрессивно протекающих злокачественных новообразований человека, обладающих высоким метастатическим потенциалом, представляет собой меланома кожи [3]. Ранняя диагностика и своевременное удаление первичной меланомы кожи являются основными составляющими успешной терапии данного заболевания.

Целью исследования было иммуногистохимическое выявление экспрессии молекулярных

маркеров лимфатических сосудов LYVE-1 и подоплатин при раке нижней губы и меланоме кожи, различающихся по агрессивности злокачественного роста и метастатическому потенциалу.

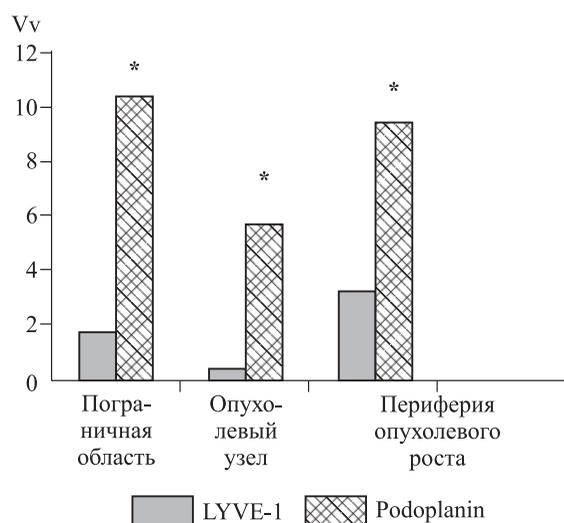
#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование были включены 2 группы пациентов. Первая группа была представлена 15 больными с плоскоклеточным неороговевающим раком нижней губы первой стадии (T1N0M0). Мужчины составили 66 % (10 человек), средний возраст  $68,1 \pm 2,7$  года, женщины – 33 % (5 человек), средний возраст –  $72,8 \pm 1,39$  года. Вторая группа была представлена 22 пациентами с меланомой кожи 2-й стадии с III и IV уровнем инвазии по Кларку без признаков метастазирования в регионарные лимфатические узлы (T3N0M0, T4N0M0). Мужчины составили 45 % (10 человек), средний возраст  $57,8 \pm 4,16$  года, женщины – 55 % (12 человек), средний возраст –  $61,1 \pm 3,42$  года.

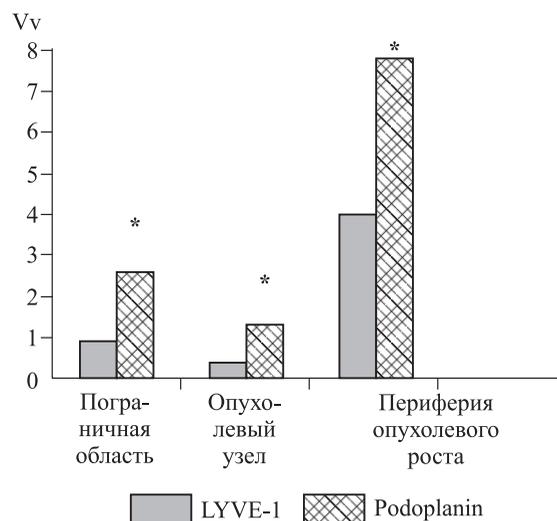
В диагностических целях до лечения биоптаты нижней губы и образцы кожи из первичного очага поражения фиксировали в 10%-м растворе нейтрального формалина, обрабатывали по стандартной гистологической методике и заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилином и эозином и с использованием антител. Все этапы иммуногистохимической реакции (депарафинизация, демаскировка, инкубация с первичными антителами и т.д.) проводили в автоматическом режиме на аппарате BENCHMARK/XT (Ventana, США). Использовали моноклональные антитела к LYVE-1 (DCS ImmunoLine, Германия) и подоплатин (Monosan, Нидерланды). Полученные препараты плоскоклеточного неороговевающего рака нижней губы и меланомы кожи изучали в световом микроскопе «Leica DM» (Германия), фотографировали с помощью компьютерной программы «Avigilon» (Канада). Микрофотографии морфометрировали с помощью компьютерной программы ImageJ (США). Оценивали объемную плотность LYVE-1-позитивных (LYVE-1+) и подоплатин-позитивных (подоплатин+) лимфатических сосудов и численную плотность LYVE-1+ клеток с использованием закрытой тестовой системы из 315 точек. Цифровые данные обрабатывали с использованием общепринятых методов статистики, вычисляя среднюю арифметическую величину ( $M$ ), ошибку репрезентативности средней величины ( $m$ ) и уровень значимости различий средних величин ( $p$ ) на основании  $t$ -критерия Стьюдента для уровня достоверности 95 % ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе биопсийного материала из области красной каймы у пациентов с плоскоклеточным неороговевающим раком нижней губы выявляли различные зоны в зависимости от локализации – зону воспалительного инфильтрата и опухолевой трансформации, периферию опухолевого роста, пограничные области без опухолевого роста и воспалительной инфильтрации. ИГХ окрашивание биоптатов нижней губы из очага поражения с использованием антител к маркерам эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и подоплатин выявило различия в их экспрессии. Было обнаружено, что объемная плотность LYVE-1+ лимфатических сосудов, расположенных на границе с опухолевой трансформацией в области красной каймы губы, в 3 раза меньше, чем объемная плотность подоплатин+ лимфатических сосудов той же локализации. В опухолевом узле практически не отмечали LYVE-1+ лимфатических сосудов, а по периферии опухолевого роста их объемная плотность была на 80 % больше, чем на границе с очагом поражения. Объемная плотность подоплатин + лимфатических сосудов в опухолевом узле была более значительно выражена, чем LYVE-1+ лимфатических сосудов, но 2 раза меньше, чем объемная плотность подоплатин+ лимфатических сосудов, расположенных по периферии опухолевого роста и в пограничной области без воспалительного инфильтрата и опухолевых клеток (рис. 1).



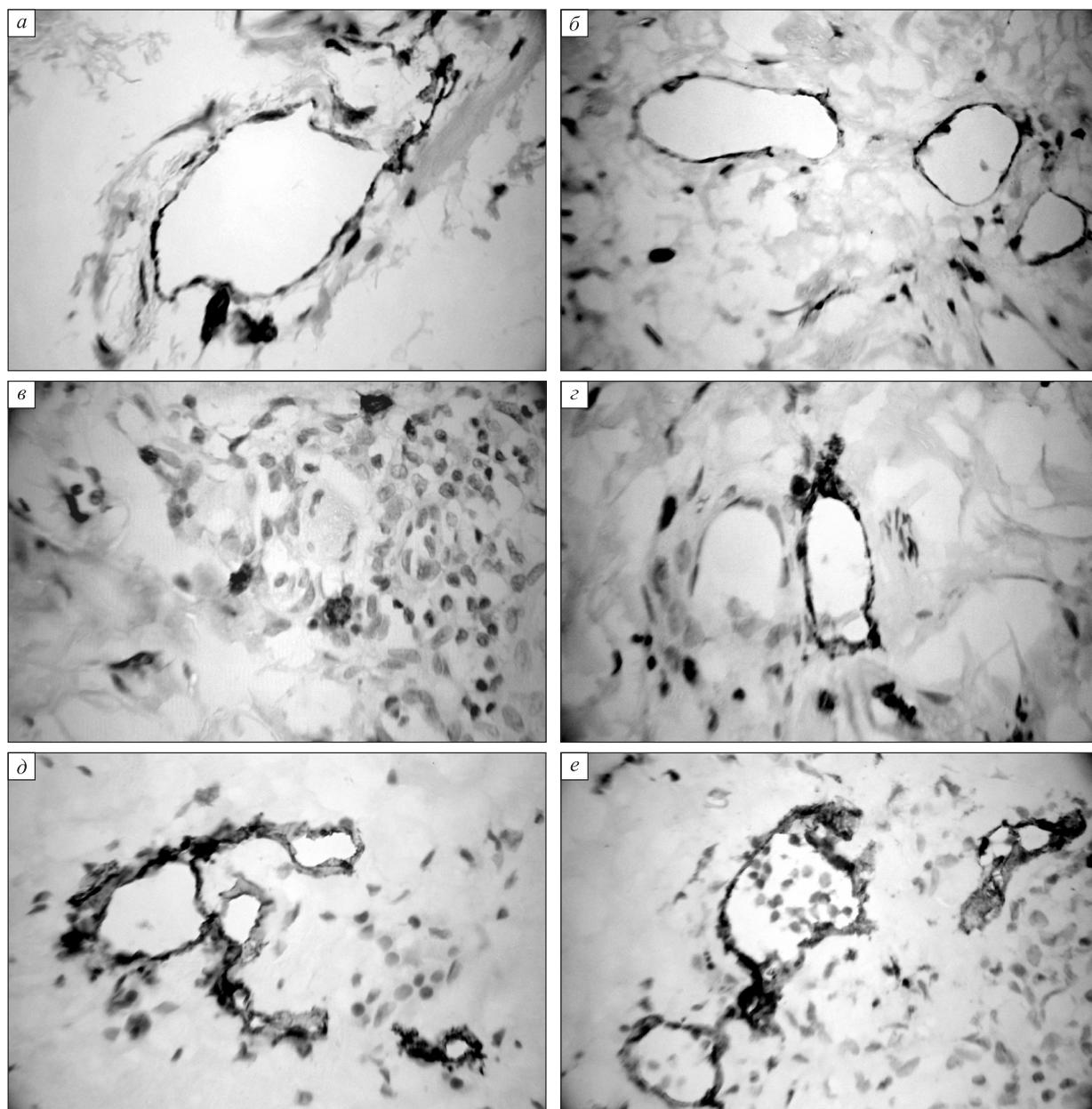
**Рис. 1.** Объемная плотность (Vv, %) LYVE-1+ и podoplanin+ лимфатических сосудов при плоскоклеточном неороговевающем раке нижней губы. Здесь и на рис. 2 \* – отличие от величины соответствующего показателя LYVE-1+ сосудов статистически значимо при  $p < 0,05$



**Рис. 2.** Объемная плотность (Vv, %) LYVE-1+ и podoplanin+ лимфатических сосудов при меланоме кожи

ИГХ окрашивание выявило, что при меланоме кожи величины объемной плотности LYVE-1+ и подоплатин+ лимфатических сосудов были больше в участках, расположенных на периферии опухолевого роста. При этом в большем количестве, по сравнению LYVE-1+ сосудами, выявлялись подоплатин+ лимфатические сосуды (рис. 2). И если величины объемной плотности внутриопухолевых LYVE-1+ и подоплатин+ лимфатических сосудов достоверно не различались, то значения объемных плотностей, особенно подоплатин + сосудов, значительно варьировали среди пациентов с меланомой кожи. LYVE-1+ лимфатические сосуды составляли от 1,7 до 5,4 %, а подоплатин + лимфатические сосуды – от 4,3 до 11,4 % объема периферии опухолевого узла. Возможно, что отмеченные различия в развитии лимфатической сети у пациентов с меланомой кожи могут быть связаны с прогрессированием заболевания.

При ИГХ окрашивании биоптатов нижней губы при плоскоклеточном неороговевающем раке губы и образцов с меланомой кожи с использованием антител к маркерам эндотелиоцитов лимфатических сосудов выявляли LYVE-1+ клетки, которые не были связаны с эндотелием сосудов, а располагались группами или поодиночке вблизи просветов сосудов. При этом не наблюдали подоплатин + клеток. В препаратах рака нижней губы LYVE-1+ клетки отмечали в соединительнотканых сосочках, расположенных в пограничных областях с очагом поражения, по периферии воспалительных инфильтратов и опухолевой трансформации. При этом численная плотность LYVE-1+ клеток, расположенных по периферии опухолевого роста, была в 2 раза больше, чем



**Рис. 3.** Иммуногистохимическое выявление LYVE-1+ клеток и сосудов и подоплиин + лимфатических сосудов при плоскоклеточном неороговевающем раке нижней губы и меланоме кожи. а, б – LYVE-1+ клетки и сосуды при плоскоклеточном неороговевающем раке нижней губы; в, г – LYVE-1+ клетки и сосуды при меланоме кожи; д – подоплиин + лимфатические сосуды при плоскоклеточном неороговевающем раке нижней губы; е – подоплиин + лимфатические сосуды при меланоме кожи. в. 10 × 40

LYVE-1+ клеток, локализованных в пограничной области без опухолевого роста и воспалительной инфильтрации. В образцах с меланомой кожи LYVE-1+ клетки также отмечали по периферии опухолевого роста (рис. 3, а–г).

По мнению F. Schroedl и соавт. [16], LYVE-1+ клетки могут быть оценены как предшественники лимфангиогенеза. При ИГХ выявлении лимфатических сосудов в оболочках глаза было обнаружено большое число LYVE-1+ клеток. Фенотипирование данных клеток показало, что они имеют

костно-мозговое происхождение и окрашиваются на маркеры макрофагов. Авторы полагают, что популяции LYVE-1+ макрофагов являются гемопоэтическими предшественниками эндотелиоцитов лимфатических сосудов при их формировании *de novo* в условиях патологии [19]. Другими авторами было показано, что LYVE-1+ клетки представляют собой CD68+ макрофаги и могут быть вовлечены в метаболизм гиалуроновой кислоты и способствовать формированию временных лимфатических каналов при воспалительных процес-

сах [16]. При анализе структуры лимфатических сосудов, выявляемых с помощью окрашивания на подоплантин, как при раке нижней губы, так и при меланоме кожи, было обнаружено, что геометрия лимфатических сосудов (размерности, очертания) была более сложной в зоне опухолевого роста и по его периферии по сравнению с сосудами, расположенными в пограничных областях очага поражения (см. рис. 3, *д*, *е*). Усложнение структурной организации лимфатической сети в очаге поражения было отмечено и другими авторами, исследовавшими сосудистую сеть слизистой оболочки полости рта при развитии карциномы и сделавшими заключение, что данный факт может иметь дополнительное прогностическое значение для выявления опухолевого роста [8].

Анализ количества и локализации LYVE-1+ и подоплантин+ лимфатических сосудов при плоскоклеточном неороговевающем раке нижней губы и меланоме кожи выявил, что при обоих типах опухолевого роста экспрессия молекулярного маркера эндотелия лимфатических сосудов LYVE-1 выражена в меньшей степени, чем подоплантин. При этом для центральных участков опухолевого роста была характерна более низкая экспрессия обоих исследованных маркеров эндотелиоцитов лимфатических сосудов (см. рис. 1, 2). В обеих опухолях отмечено большее количество как LYVE-1+, так и подоплантин+ лимфатических сосудов, локализованных по периферии опухолевого роста (см. рис. 1, 2). Однако при раке нижней губы объемные плотности LYVE-1+ и подоплантин+ лимфатических сосудов, локализованных на границе с очагом поражения и по периферии опухолевого роста, достоверно не различались, что, по-видимому, связано с исходным достаточно значительным содержанием лимфатических сосудов в области красной каймы губы. В то же время при меланоме кожи объемные плотности LYVE-1+ и подоплантин+ лимфатических сосудов, локализованных по периферии опухолевого роста, были в 3 раза больше, чем сосудов пограничной с опухолевым узлом области (см. рис. 2). Данный факт может быть следствием новообразования лимфатических сосудов по периферии опухолевого роста при меланоме кожи.

Если в течение первого десятилетия после обнаружения молекулярных маркеров лимфатических сосудов шло накопление данных по локализации лимфатических сосудов при различных патологиях и их соотношением с процессами опухолевого роста, то в настоящее время установлено, что не при всех патологиях наблюдается экспрессия того или иного маркера эндотелия лимфатического сосуда. Причем некоторые маркеры выявляются не только в клетках эндотелия сосудов,

но и экспрессируются другими, не связанными со стенкой сосуда клетками [11]. Согласно современным представлениям, различия в экспрессии наиболее используемых молекулярных маркеров эндотелиоцитов лимфатических сосудов (LYVE-1, Prox-1, подоплантин) могут быть связаны с периодами развития организма, со структурой и функцией органа, условиями функционирования – в норме или при патологии. В частности, известно, что в течение эмбрионального развития первым маркером лимфатических сосудов является LYVE-1 [12], впоследствии основным регулятором дифференцировки лимфатических эндотелиальных клеток становится Prox-1 [6], затем они начинают экспрессировать подоплантин, который играет существенную роль в развитии лимфатической системы [12, 14]. Накапливаются данные о том, что в условиях патологии (при воспалении, опухолевом росте) выявляются преимущественно подоплантин+ лимфатические сосуды [7, 15].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

ИГХ окрашивание биологических образцов при плоскоклеточном неороговевающем раке нижней губы и меланоме кожи с использованием антител к маркерам эндотелиоцитов лимфатических сосудов LYVE-1 и подоплантин выявило сходства и различия в экспрессии данных маркеров. В обоих типах опухолей обнаружено большее содержание подоплантин+, чем LYVE-1+ лимфатических сосудов. Более значительное, чем при раке нижней губы, преобладание подоплантин+ сосудов по периферии опухолевого роста по сравнению с пограничными к опухолевому узлу участками при меланоме кожи, вероятно, свидетельствует о новообразовании лимфатических сосудов в данном случае. Усложнение структурной организации подоплантин+ лимфатических сосудов может иметь дополнительное прогностическое значение для выявления опухолевого роста. Отмеченные различия в развитии лимфатической сети среди пациентов с меланомой кожи могут быть связаны с прогрессированием заболевания, что требует дальнейших исследований.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Богданов А.Н., Игнатъев С.Б., Камилова Т.А. Прогностические маркеры диффузных В-крупноклеточных лимфом // *Вопр. онкол.* 2008. 54. (2). 133–141.
2. Коненков В.И., Бородин Ю.И., Бгатова Н.П. Молекулярные маркеры лимфатических и кровеносных сосудов при развитии опухоли и мишени

блокирования метастазов // *Вопр. онкол.* 2011. 57. (3). 295–301.

3. Никитина Р.Г., Мардынская В.П., Морозова Т.Г., Дрожжина В.В. Способ повышения эффективности лечения меланомы // *Бюл. экспер. биол. мед.* 2009. 148. (8). 209–212.

4. Петров С.В., Цыплаков Д.Э., Кулагин Р.Н. и др. Семнадцатилетний опыт повседневной молекулярной диагностики рака. Возможности и ограничения иммуногистохимического анализа в клинической онкологии // *Бюл. СО РАМН.* 2011. 31. (2). 75–80.

5. Федяев И.М., Байриков И.М., Белова Л.П., Шувалова Т.В. Злокачественные опухоли челюстно-лицевой области. М., 2000. 160 с.

6. Hong Y.K., Harvey N., Noh Y. HProx1 is a master control gene in the program specifying lymphatic endothelial cell fate // *Dev. Dyn.* 2002. 3. 351–357.

7. Keichel S., Barcena de Arellano M.-L., Reichelt U. et al. Lymphangiogenesis in deep infiltrating endometriosis // *Hum. Reprod.* 2011. 26. (10). 2713–2720.

8. Margaritescu C., Raica M., Pirici D. et al. Podoplanin expression in tumor-free resection margins of oral squamous cell carcinomas: an immunohistochemical and fractal analysis study // *Histol. Histopathol.* 2010. 25. (6). 701–711.

9. Marocchio L.S., Lima J., Sperandio F.F. et al. Oral squamous cell carcinoma: an analysis of 1,564 cases showing advances in early detection // *J. Oral Sci.* 2010. 52. (2). 267–273.

10. Moretti A., Vitullo F., Augurio A. et al. Surgical management of lip cancer // *Acta Otorhinolaryngol. Ital.* 2011. 31. (1). 5–10.

11. Noda Y., Amano I., Hata M. et al. Immunohistochemical examination on the distribution of cells expressed lymphatic endothelial marker podoplanin and LYVE-1 in the mouse tongue tissue // *Acta Histochem. Cytochem.* 2010. 43. (2). 61–68.

12. Oliver G. Lymphatic vasculature development // *Nat. Rev. Immunol.* 2004. 1. 35–45.

13. Renyi-Vamos F., Tovari J., Fillinger J. et al. Lymphangiogenesis correlates with lymph node metastasis, prognosis, and angiogenic phenotype in human non-small cell lung cancer // *Clin. Cancer Res.* 2005. 15. (20). 7344–7353.

14. Schacht V., Ramirez M.I., Hong Y.K. et al. T1alpha/podoplanin deficiency disrupts normal lymphatic vasculature formation and causes lymphedema // *EMBO J.* 2003. 14. 3546–3556.

15. Schoppmann S.F., Fenzl A., Nagy K. et al. VEGF-C expressing tumor-associated macrophages in lymph node positive breast cancer: impact on lymphangiogenesis and survival // *Surgery.* 2006. 6. 839–846.

16. Schroedel F., Brehmer A., Neuhuber W.L. et al. The normal human choroid is endowed with a significant number of lymphatic vessel endothelial hyaluronate receptor 1 (LYVE-1)-positive macrophages // *IOVS.* 2008. 49. (12). 5222–5229.

17. Toll A., Gimeno-Beltrán J., Ferrandiz-Pulido C. et al. D2-40 immunohistochemical overexpression in cutaneous squamous cell carcinomas: a marker of metastatic risk // *J. Am. Acad. Dermatol.* 2012. 67. (6). 1310–1318.

18. Van der Schaft D.W., Pauwels P., Hulsmans S. et al. Absence of lymphangiogenesis in ductal breast cancer at the primary tumor site // *Cancer Lett.* 2007. 254. (1). 128–136.

19. Xu H., Chen M., Reid D.M., Forrester J.V. LYVE-1-positive macrophages are present in normal murine eyes // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2007. 48. 2162–2171.

20. Zeng Y., Opeskin K., Goad J., Williams T.D. Tumor-induced activation of lymphatic endothelial cells via vascular endothelial growth factor receptor-2 is critical for prostate cancer lymphatic metastasis // *Cancer Res.* 2006. 66. (1). 9566–9575.

## **COMPARATIVE ANALYSIS OF EXPRESSION OF MOLECULAR MARKERS OF LYMPHATIC VESSELS LYVE-1 AND PODOPLANIN AT THE LOWER LIP CANCER AND SKIN MELANOMA**

**Natalya Petrovna BGATOVA<sup>1</sup>, Irina Sergeevna KULIKOVA<sup>1</sup>,  
Aleksey Igorevich LOMAKIN<sup>2</sup>, Nadezhda Borisovna ISAKOVA<sup>2</sup>,  
Viktor Borisovich PROKHOZHEV<sup>2</sup>, Igor Viktorovich KACHESOV<sup>2</sup>,  
Sergey Aleksandrovich FURSOV<sup>2</sup>, Yuri Ivanovich BORODIN<sup>1</sup>,  
Yuri Emmanuilovich NAROV<sup>3</sup>, Andrey Yuryevich LETYAGIN<sup>1</sup>,  
Vladimir Evgenyevich VOYTSITSKIY<sup>2</sup>, Vladimir Iosifovich KONENKOV<sup>1</sup>**

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

<sup>2</sup> *Novosibirsk Regional Oncological Clinics  
630108, Novosibirsk, Plakhotnyi str., 2*

<sup>3</sup> *Novosibirsk State Medical University of Minzdrav of Russia  
630091, Novosibirsk, Krasnyi av., 52*

---

Immunohistochemical research of lymphatic vasculature of 2 type tumors differing in malignant growth aggression and metastatic potential – squamous cell carcinomas of lower lip and melanoma of skin has been carried out. The antibodies to markers of lymphatic vessels endotheliocytes LYVE and podoplanin were used. In both cases the bigger contents of podoplanin positive lymphatic vessels in comparison with LYVE-1+ vessels were revealed. The more considerable, than at the lower lip cancer, prevalence of expressing podoplanin vessels in the circumferential direction of tumor growth in comparison with boundary sites of tumor at melanoma of skin probably testifies to the lymphatic vessels new formation. Noted distinctions from lymphatic network development among patients with melanoma of skin can be connected with the disease progressing that demands further researches.

---

**Key words:** squamous cell carcinomas of lower lip, melanoma of skin, LYVE-1+ vessels, podoplanin+ vessels.

*Bgatova N.P. – doctor of biological sciences, professor, head of the laboratory, e-mail: n\_bgatova@ngs.ru*

*Kulikova I.S. – correspondence postgraduate student, e-mail kis1975@rambler.ru*

*Lomakin A.I. – correspondence postgraduate student, e-mail lomakin@rocketmail.com*

*Isakova N.B. – pathologist, e-mail nadin-isakova@mail.ru*

*Prokhozhev V.B. – pathologist*

*Kachesov I.V. – head of pathoanatomical department, chief pathologist*

*Fursov S.A. – doctor of medical sciences, professor of the chair of oncology, surgeon of the highest category, head of surgical department, e-mail fursov.serega2011@yandex.ru*

*Borodin Yu.I. – doctor of medical sciences, professor, academician of RAMS, e-mail lymph@soramn.ru*

*Narov Yu.E. – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for oncology*

*Letyagin A.Yu. – doctor of medical sciences, professor, deputy director on scientific work, e-mail letyagin-andrey@yandex.ru*

*Voytsitskiy B.E. – doctor of medical sciences, professor of the chair of oncology, deputy chief physician on medical department, chief oncologist*

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

## ВЛИЯНИЕ РЕГИОНАРНОЙ ЛИМФОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ НА ТЕЧЕНИЕ ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА ПРИ РАКЕ ЛЕГКОГО

Артем Александрович ЗЕЙДЛИЦ<sup>1</sup>, Михаил Семенович ЛЮБАРСКИЙ<sup>2</sup>,  
Юрий Эммануилович НАРОВ<sup>1</sup>, Виталий Валерьевич МОРОЗОВ<sup>3</sup>

<sup>1</sup> ГБУЗ НСО Новосибирский областной онкологический диспансер  
630108, г. Новосибирск, ул. Плехотного, 2

<sup>2</sup> ФГБУ НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

<sup>3</sup> ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН  
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8

Первое место в структуре смертности населения России от злокачественных новообразований занимают опухоли трахеи, бронхов, легких. Учитывая влияние некоторых интерлейкинов на возникновение, развитие и течение онкологических заболеваний, было выполнено исследование изменения содержания ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферона- $\gamma$  и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови 96 пациентов до и после оперативного вмешательства по поводу рака легкого. Изучено влияние различных видов регионарной лимфотропной терапии на течение воспалительного процесса в послеоперационном периоде. Выявлено быстрое купирование проявлений воспалительного процесса в условиях лимфотропной коррекции, что выразилось в снижении содержания цитокинов ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови пациентов к 7 суткам послеоперационного периода. В результате использования различных способов введения комплексной лекарственной смеси в лимфатический регион легких была уменьшена частота послеоперационных осложнений.

**Ключевые слова:** рак легкого, воспалительный процесс, интерлейкины, лимфотропная терапия, послеоперационные осложнения.

В структуре смертности населения России от злокачественных новообразований наибольший удельный вес составляют опухоли трахеи, бронхов, легких (17,9 %). В Новосибирске и Новосибирской области стабильно регистрируется высокий уровень заболеваемости раком легкого [6]. Единственным методом лечения на ранних стадиях данного заболевания является хирургический, при более распространенных формах добавляется химиотерапия и/или лучевое воздействие, значительно влияющие на утяжеление течения эндотоксикоза при онкологической патологии [2]. Обязательный компонент хирургического лечения – удаление в едином блоке с легким или его частью жировой клетчатки корня легкого и средостения на стороне поражения с лимфатическим аппаратом. Это определяет массивность вмешательства и высокую вероятность развития синдрома системного воспалительного ответа. Кроме того, существенно поражаются

функции регионарной лимфатической системы, в том числе дренажная и детоксикационная [3]. Операционный стресс накладывает определенный отпечаток на состояние реактивности организма пациента. На сегодняшний день доказано существенное влияние интерлейкинов на возникновение, развитие и течение многих онкологических заболеваний, во многих трудах отмечается связь изменений цитокинового профиля с изменениями в иммунобиохимическом гомеостазе организма [1]. Трансформация общей реактивности организма проявляется снижением противоопухолевого клеточного иммунитета, угнетением антимикробной резистентности, что отражается на статистике послеоперационных осложнений [9]. В НИИ клинической и экспериментальной лимфологии СО РАМН разработаны новые лимфотропные технологии [4], которые используются в онкологической практике [5, 7] и в торакальной хирургии [8]. Это создает базу для новых реше-

*Зейдлиц А.А. – аспирант, врач-онколог*

*Любарский М.С. – д.м.н., проф., член-кор. РАМН, зам. директора*

*Наров Ю.Э. – д.м.н., проф., консультант*

*Морозов В.В. – д.м.н., проф., старший научный сотрудник ИХБФМ СО РАН*

ний в хирургии легких с целью профилактики послеоперационных осложнений путем влияния на течение системной воспалительной реакции.

С целью изучения особенностей воспалительного процесса у пациентов, оперированных по поводу рака легкого, ведения ближайшего послеоперационного периода при использовании различных методик лимфотропной коррекции определяли концентрацию ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8, интерферона- $\gamma$  (ИНФ- $\gamma$ ) и циркулирующих иммунных комплексов в сыворотке крови пациентов до оперативного вмешательства по поводу рака легкого и на 7-е сутки послеоперационного периода при использовании различных видов лимфотропной терапии, а также провели сравнительную оценку динамики деструктивно-воспалительной реакции в ближайшем послеоперационном периоде в зависимости от способа ведения больных.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проведено проспективное клиническое исследование типа «случай – контроль» в параллельных группах. Критериями включения в исследование были наличие диагноза рака легкого, наличие показаний к оперативному радикальному лечению рака легкого, возраст от 45 до 70 лет, отсутствие декомпенсированных состояний по любым органам и системам, информированное согласие пациента на участие в исследовании. Под наблюдением находилось 96 пациентов, направленных на госпитализацию онкологом поликлиники по месту жительства в Новосибирский областной онкологический диспансер. У 83 пациентов (86,5 %) образование в легких выявлено по результатам флюорографии при проведении профилактического медицинского осмотра, 13 пациентов (13,5 %) направлены к онкологу специалистами других профилей.

Возраст пациентов составлял от 52 до 63 лет. Все пациенты, включенные в исследование, были мужчинами. Центральный рак левого легкого выявлен у 21 больного, рак правого легкого обнаружен в 18 случаях. Периферическая форма рака правого легкого диагностирована у 27, левого – у 30 пациентов. Стадия заболевания IA (T1N0M0) выявлена в 22 %, IB (T2N0M0) – в 42 %, IIA (T1N1M0) – в 24 %, IIB (T2N1M0) – в 12 % случаев.

У всех пациентов выявлена сопутствующая пульмонологическая патология – хроническая обструктивная болезнь легких и хронический обструктивный бронхит в 37 (38,5 %) и 59 (61,5 %) случаях соответственно. Несколько реже встречалась патология сердечно-сосудистой системы и

желудочно-кишечного тракта. Заболевания сосудов нижних конечностей в виде облитерирующего атеросклероза и варикозной болезни нижних конечностей обнаружены у 16 (16,7 %) и 9 (9,4 %) пациентов соответственно.

Всем пациентам выполнено оперативное радикальное лечение рака легкого. В двух случаях (2,1 % наблюдений) осуществлена билобэктомия, эти больные были распределены в основных группах, пульмонэктомия выполнена у 29 пациентов (30,2 %), в остальных случаях (65 больных, или 67,7 %) произведены лобэктомии (в зависимости от локализации патологического очага). Распределение видов операций в группах исследования было равномерным. Верификацию диагноза осуществляли на основании гистологического исследования операционного материала. По данным патоморфологического заключения, у пациентов группы исследования чаще всего встречался плоскоклеточный неороговевающий тип рака – 71 случай (74 %), а ороговевающая форма была выявлена лишь у трех пациентов (3,1 %).

Включенные в исследование пациенты были разделены на 3 группы. В первую основную группу («МЛИ») были включены 30 пациентов, которым выполняли межкостистые лимфотропные инъекции (в асептических условиях на уровне Th2 – Th3, Th3 – Th4, Th4 – Th5 вводили приготовленную *ex tempore* комплексную лекарственную смесь, состоящую из 32 ЕД лидазы, 4 мг дексаметазона, 100 мг 10 % лидокаина, до 5–7 мл 40 % глюкозы с добавлением разовой дозы 1000 мг цефтриаксона, на глубину 1–2 см, распределяя объем вводимой смеси равномерно в точках введения). Курс включал 5 ежедневных инъекций, при этом первые две инъекции выполнялись до оперативного лечения, курс продолжался без перерыва и в послеоперационном периоде, в течение которого кроме лимфотропной терапии проводилось лечение по стандартной схеме.

Во вторую основную группу («СЛИ») были отнесены 34 человека, им выполняли субкостифоидальные инъекции (в клетчатку переднего средостения через точку Марфана) на глубину 2–3 см в асептических условиях вводили приготовленную *ex tempore* комплексную лекарственную смесь, состоящую из 32 ЕД лидазы, 4 мг дексаметазона, 100 мг 10 % раствора лидокаина, до 5–7 мл 40 % раствора глюкозы с добавлением 1000 мг цефтриаксона. Инъекции начинали за 2 дня до оперативного лечения, выполнялись ежедневно, в том числе и в день операции, курс лимфотропного лечения составлял 5 дней. Пациентам этой группы также назначали стандартную послеоперационную схему.

Третья группа («контроль») была сформирована из 32 человек, которым проводилась традиционная схема лечения.

Для оценки выраженности синдрома эндотоксикоза определяли лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) по формуле Кальф-Калифа:  $ЛИИ = (4МЛ + 3Ю + 2П + С) \times (ПЛ + 1) / (М + Л) \times (\mathcal{E} + 1)$ , где МЛ – относительное содержание (%) миелоцитов, ПЛ – плазматических клеток, Ю – юных, П – палочкоядерных, С – сегментоядерных, М – моноцитов, Л – лимфоцитов, Э – эозинофилов. ЛИИ считали нормальным при значениях  $< 1$ . Также рассчитывали гематологический показатель интоксикации (ГПИ) по формуле Васильева – Комар:  $ГПИ = ЛИИ \times K_{л} \times K_{соэ}$ , где  $K_{л}$  – поправочный коэффициент на лейкоцитоз,  $K_{соэ}$  – поправочный коэффициент на СОЭ. За норму принят ГПИ  $0,69 \pm 0,09$ . Содержание молекул средней массы в плазме крови определяли по методу Габриэлян на спектрофотометре СФ-46 при длине волны 254 и 280 нм, фибриногена – при помощи хронометрического метода по Clauss на коагулометре CGL 2110 (Беларусь) с использованием диагностического набора «Ольвекс Диагностикум Тех-Фибриноген-тест» (г. Санкт-Петербург). Концентрацию ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ИНФ- $\gamma$  в сыворотке крови измеряли с использованием коммерческих тест-систем производства ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) по инструкции производителя, результаты иммуноферментного анализа регистрировали на вертикальном фотометре «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм. Содержание циркулирующих иммунных комплексов определяли методом жидкостной преципитации в 4%-м полиэтиленгликоле (ПЭГ-6000), величину оптической плотности читали против контроля при длине волны 450 нм на вертикальном спектрофотометре Multiscan MMS-340 (США).

В качестве нормативных значений изучаемых показателей были использованы данные, полученные при обследовании 20 «практически здоровых» лиц. Гендерно-возрастные характеристики испытуемых соответствовали критериям включения, испытуемые не предъявляли субъективных жалоб, в анамнезе у них не отмечалось наличия онкологических, аутоиммунных заболеваний, а также острых инфекционно-воспалительных заболеваний и их обострений за 3 мес. до проведения обследования.

При выполнении статистического анализа полученных данных проблему множественных сравнений преодолевали с помощью дисперсионного анализа Краскела–Уоллиса. Значимость различий вариационных рядов в несвязанных выборках оценивали с помощью критерия Ман-

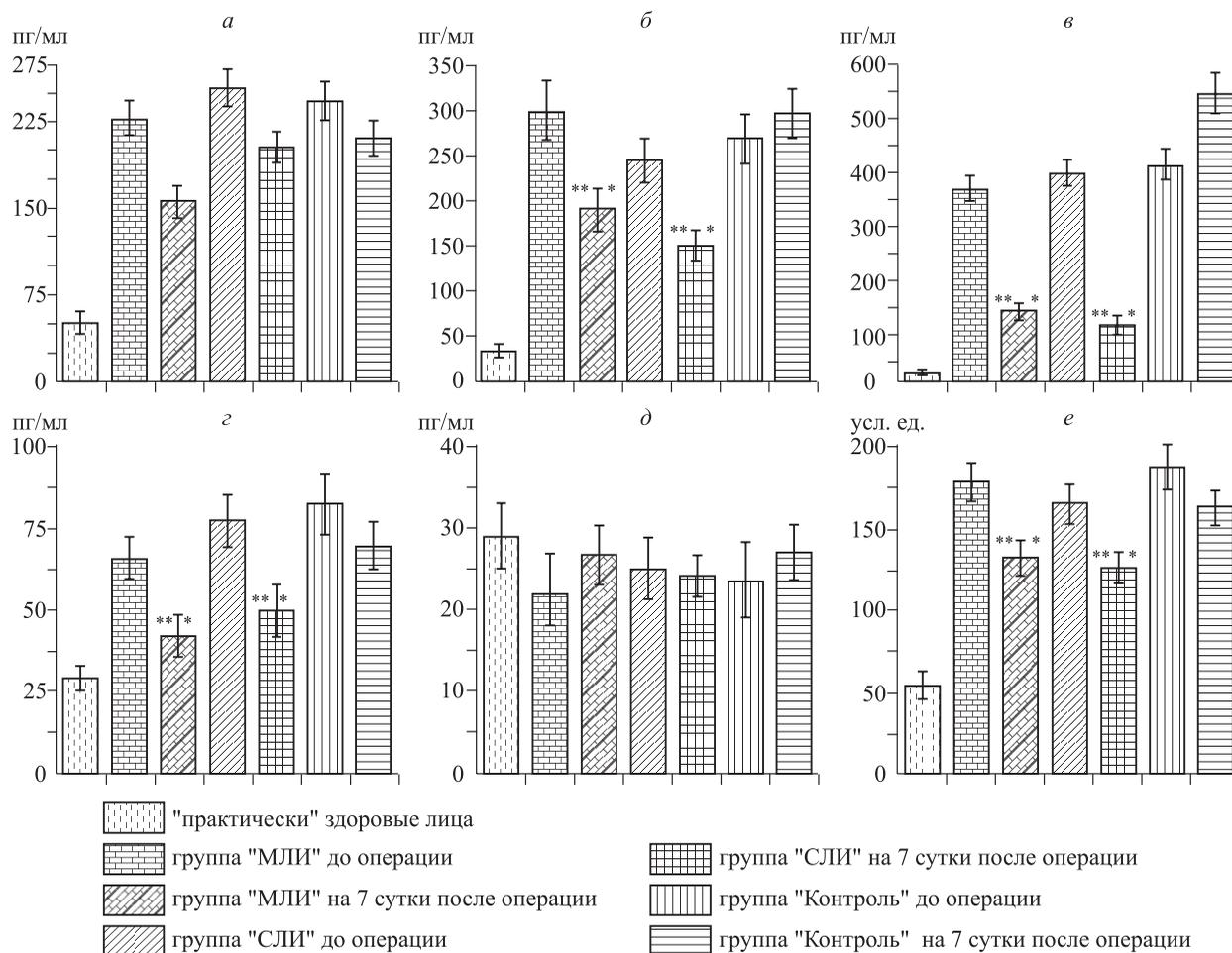
на–Уитни, в связанных попарно выборках – с помощью критерия Вилкоксона. Данные в таблицах представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего. Достоверным считали различие между сравниваемыми рядами с уровнем достоверной вероятности 95 % ( $p < 0,05$ ).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Концентрации ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и ЦИК в сыворотке крови пациентов основных и контрольной групп до операции по поводу рака легкого были достоверно выше, чем у «практически» здоровых лиц, по содержанию интерферона- $\gamma$  (ИНФ- $\gamma$ ) различий не выявлено (см. рисунок). При оценке динамики данных показателей на фоне проводимого лечения выяснилось, что использование межкостистых и субкисфоидалных лимфотропных инъекций приводит к снижению активности воспалительного процесса уже к 7 суткам послеоперационного периода. Это проявляется достоверным снижением содержания основного провоспалительного цитокина ИЛ-1 $\beta$  (см. рисунок, а), провоспалительных цитокинов ИЛ-6 (см. рисунок, б) и ИЛ-8 (см. рисунок, в) в сыворотке крови пациентов 1 и 2 основных групп относительно исходных данных до оперативного вмешательства, в отличие от динамики этих цитокинов в контрольной группе. Выявленное достоверное снижение в сыворотке крови пациентов основных групп относительно исходных данных до оперативного вмешательства, концентраций индуктора гуморального звена иммунной системы ИЛ-4 (см. рисунок, г) и интегрального показателя активации гуморального звена иммунной системы ЦИК (см. рисунок, д) свидетельствует об уменьшении антигенной нагрузки к 7 суткам послеоперационного периода в отличие от пациентов контрольной группы. При этом использование предлагаемых схем лечения не влияет на концентрацию ИНФ- $\gamma$  (см. рисунок, е).

Применение в периоперационном периоде лимфотропной антибактериальной терапии приводит к быстрому купированию проявлений эндотоксикоза в ближайшем послеоперационном периоде, что подтверждается более быстрым и выраженным снижением гематологического показателя интоксикации (в 4 раза), лейкоцитарного индекса интоксикации (в 4,6 раза), уровня фибриногена (в 1,33 раза) и концентрации молекул средней массы (при длине волны 254 нм в 1,5 раза, при длине волны 280 нм в 1,2 раза).

Полученные данные, несомненно, свидетельствуют о положительном влиянии субкисфоидалных и межкостистых способов введения лекар-



**Рис.** Содержание ИЛ-1β (а), ИЛ-6 (б), ИЛ-8 (в), ИЛ-4 (г), ИНФ-γ (д), ЦИК (е) в группах исследования. Обозначены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) отличия от величин соответствующих показателей: \* – до операции, \*\* – на 7-е сутки после операции пациентов группы «СЛИ»

ственной смеси на выраженность эндотоксикоза в послеоперационном периоде. Они способствуют быстрому регрессу лабораторных показателей эндотоксикоза вне зависимости от способа введения, тем самым создавая благоприятные условия для быстрой реабилитации в послеоперационном периоде и обеспечивая надежную профилактику послеоперационных осложнений за счет стимуляции детоксикационной функции и восстановления барьерной функции лимфатической системы в регионе легких. Имеются некоторые отличия в использовании разных способов введения – при субкисфоиальном введении комплексной лимфотропной лекарственной смеси достигается более быстрая регрессия показателей СОЭ, лейкоцитоза, лейкоцитарного индекса интоксикации, концентрации молекул средней массы на 3–7-е сутки послеоперационного периода. Это может объясняться максимально приближенным введением антибактериального препарата к месту выполнения операции, эффективным насыщением

региона локализации патологического процесса, соответственно более высокой эффективностью антибактериальной терапии.

Особенностью течения послеоперационного периода при использовании межкостистого введения комплексной лекарственной смеси явилось уменьшение сроков отказа от наркотических анальгетиков и практически полное купирование болевого синдрома к седьмым суткам. Так, в группе «МЛИ» уже на  $3,1 \pm 0,2$  суток адекватное обезболивание достигалось введением ненаркотических анальгетиков, в группе «СЛИ» – на  $3,6 \pm 0,2$  суток ( $p > 0,05$ ), в то время как в контрольной группе – только к  $4,7 \pm 0,3$  суток (отличия от величины соответствующих показателей основных групп статистически значимы,  $p < 0,05$ ). Это может быть объяснено влиянием местного анестетика, входящего в состав комплексной лекарственной смеси, на уровне спинно-мозговых корешков, иннервирующих зону оперативного вмешательства.

Таблица

Сроки госпитализации, количество и характер послеоперационных осложнений в группах исследования

Показатель	МЛИ (n = 30)	СЛИ (n = 34)	Контроль (n = 32)
Сроки снятия швов, сут	7,6 ± 0,9	6,8 ± 1,2	11,9 ± 2,2 <sup>1,2</sup>
Сроки госпитализации	9,5 ± 1,1	9,1 ± 0,9	13,8 ± 1,5 <sup>1,2</sup>
Осложнения:			
Пневмония, n (%)	1 (3 %)	0	2 (6 %) <sup>2</sup>
Плеврит, n (%)	0	0	1 (3 %)
Всего, n (%)	1 (3 %)	0	3 (9 %) <sup>2</sup>

Примечание. Обозначены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) отличия от величин соответствующих показателей: 1 – пациентов группы «МЛИ», 2 – пациентов группы «СЛИ».

Данные изменения в течение послеоперационного периода логично отразились в уменьшении сроков снятия швов и, соответственно, сроков госпитализации (см. таблицу). При оценке частоты возникновения и структуры послеоперационных осложнений выяснилось, что в группе, где были использованы субсифоидальные лимфотропные инъекции, осложнений не было (см. таблицу), при использовании межостистых лимфотропных инъекций лишь в одном случае диагностирована пневмония, в то время как общее число случаев с послеоперационными гнойно-воспалительными осложнениями в контрольной группе составило 9 %. Величина последнего показателя не превышала среднестатистическую в регионе и по России, однако была наихудшим результатом среди групп исследования. Летальных случаев ни в одной группе исследования зарегистрировано не было.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования выявлены особенности течения воспалительного процесса после операций по поводу рака легкого в условиях лимфотропной коррекции, получены новые данные об изменении цитокинового профиля при раке легкого, доказано положительное влияние различных способов регионарной лимфотропной терапии на течение воспалительного процесса, эндотоксикоза и структуру послеоперационных осложнений в послеоперационном периоде. Сделаны следующие выводы.

Увеличение содержания в сыворотке крови больных раком легкого ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-4, ИЛ-6, ИЛ-8 и циркулирующих иммунных комплексов относительно величин изучаемых показателей у «практически» здоровых лиц (соответственно в 1,5, в 1,5, в 1,6, в 2,5 и в 3,3 раза) свидетельствует о высокой активности воспалительного процесса и иммунного реагирования.

Использование регионарной пролонгированной антибактериальной терапии у пациентов, оперированных по поводу рака легкого, приводит к снижению содержания ИЛ-1 $\beta$  в 1,5 раза, ИЛ-4 в 1,5 раза, ИЛ-6 в 1,6 раза, ИЛ-8 в 2,5 раза, ЦИК в 1,3 раза при использовании межостистого введения антибиотика и к уменьшению концентрации ИЛ-1 $\beta$  в 1,3 раза, ИЛ-4 в 1,5 раза, ИЛ-6 в 1,6 раза, ИЛ-8 в 3,5 раза, ЦИК в 1,3 раза при субсифоидальной лимфотропной терапии концентрация на 7-е сутки послеоперационного периода, что свидетельствует о снижении активности воспалительного процесса и иммунного реагирования.

Применение регионарной лимфотропной антибактериальной терапии в периоперационном периоде за счет купирования эндотоксикоза и воспалительной реакции (наиболее быстрое при субсифоидальном введении лекарственной смеси) улучшает результаты лечения, что подтверждается снижением частоты послеоперационных осложнений (с 9 до 0 %), уменьшением сроков послеоперационного лечения (с 13,8 до 9,1 суток), более ранним началом полихимиотерапии (на 9-е сутки) в сравнении со стандартным протоколом. При межостистом введении комплексной лекарственной смеси достигается более быстрое и эффективное купирование болевого синдрома в ближайшем послеоперационном периоде по сравнению с субсифоидальным введением препаратов и при стандартном протоколе ведения пациентов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бережная Н.М. Роль клеток системы иммунитета в микроокружении опухоли // Онкология. 2009. (1). 6–17.
2. Келина Н.Ю., Васильков В.Г., Безручко Н.В. Методология доказательной биохимической оценки развития эндотоксикоза // Вестн. интенс. терапии. 2002. (4). 13–17.

3. Лимфология / Ред. В.И. Коненков, Ю.И. Бородин, М.С. Любарский. Новосибирск: Манускрипт, 2011. 1104 с.
4. Любарский М.С., Смагин А.А., Морозов В.В. и др. Новые методы регионарной лимфотропной терапии в клинической практике // Бюл. СО РАМН. 2007. (2). 65–72.
5. Наров Ю.Э. Лимфотропные и сорбционные технологии в коррекции эндотоксикоза при раке толстой кишки и молочной железы: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Новосибирск, 2004.
6. Состояние онкологической помощи населению России в 2011 году / Ред. В.И. Чиссов, В.В. Старинский, Г.В. Петрова. М.: ФГБУ «МНИОИ им. П.А. Герцена» Минздрава России, 2012. 240 с.
7. Фурсов С.А. Сорбционные и лимфотропные технологии в профилактике и лечении инфекционных осложнений и коррекции эндотоксикоза в послеоперационном периоде при колоректальном раке: автореф. дис. ... докт. мед. наук. Новосибирск, 2006.
8. Чикинев Ю.В., Антонов А.Р., Любарский М.С. Роль непрямой лимфотропной терапии в улучшении питательного статуса больных рубцовыми сужениями пищевода // Вестн. новых мед. технологий. 2004. (2). 15–16.
9. Menon A.G., Janssen-van Rhijn C.M., Moreau H. Immune system and prognosis in colorectal cancer: a detailed immunohistochemical analysis // Lab. Invest. 2004. 84. (4). 493–501.

## IMPACT OF THE REGIONAL LYMPHOTROPIC THERAPY ON INFLAMMATION AT LUNG CANCER

**Artom Aleksandrovich ZEYDLITS<sup>1</sup>, Mikhail Semonovich LUBARSKY<sup>2</sup>, Yuriy Emmanuilovich NAROV<sup>1</sup>, Vitaliy Valer'yevich MOROZOV<sup>3</sup>**

<sup>1</sup> *Novosibirsk Regional Cancer Center  
630108, Novosibirsk, Plakhotnyy str., 2*

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

<sup>3</sup> *Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SB RAS  
630090, Novosibirsk, Akademik Lavrentiev av., 8*

Tumor of trachea, bronchi and lungs takes the first place in the structure of mortality from malignant neoplasms in Russia. Taking into consideration the influence of certain interleukins on cancer occurrence, development and course, the investigation of changes in the content of interleukins IL-1 $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IFN- $\gamma$  and circulating immune complexes in blood serum of 96 patients has been carried out before and after surgery for lung cancer. The effect of different types of regional lymphotropic therapy on the course of the inflammatory process in the postoperative period has been researched. The rapid relief of symptoms of inflammation in lymphotropic correction has been revealed. It leads to the reduction of IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-8, IL-4 and circulating immune complexes in serum of patients by 7 day of postoperative period. The rate of postoperative complications has been reduced as the result of the use of different methods of administration of complex drug mixture in lung lymph region.

**Key words:** lung cancer, inflammation, interleukins, lymphotropic therapy, post-operative complications.

*Zeydlits A.A. – postgraduate student, oncologist*

*Lubarsky M.S. – doctor of medical sciences, professor, corresponding member of RAMS, deputy director*

*Narov Yu.E. – doctor of medical sciences, professor, consultant*

*Morozov V.V. – doctor of medical sciences, professor, senior researcher, e-mail: doctor.morozov @ mail.ru*

## МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПЛАЦЕНТЫ III ТРИМЕСТРА БЕРЕМЕННОСТИ ПРИ НОСИТЕЛЬСТВЕ ХРОНИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Оксана Николаевна НОВИКОВА<sup>1</sup>, Лилия Рамильевна МУСТАФИНА<sup>2,3</sup>,  
Галина Александровна УШАКОВА<sup>1</sup>, Сергей Валентинович ЛОГВИНОВ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО Кемеровская государственная медицинская академия Минздрава России  
650029, г. Кемерово, ул. Ворошилова, 22а

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

<sup>3</sup> ФГБУ НИИ акушерства, гинекологии и перинатологии СО РАМН  
634063, г. Томск, ул. Сергея Лазо, 5

Цель исследования – изучить морфофункциональные особенности плаценты при носительстве хронических инфекций. Выполнено обследование 308 пациенток: I группа включала беременных с носительством хронических трансплацентарных инфекций ( $n = 177$ ), полученные от них плаценты ( $n = 54$ ) и новорожденных от этих матерей ( $n = 177$ ); II группа – беременных с неинфицированным плодным яйцом ( $n = 131$ ), плаценты ( $n = 42$ ) и новорожденных от этих матерей ( $n = 131$ ). Все плаценты подвергались гистологическому и морфоколичественному исследованию с последующей статистической обработкой результатов. Проведенное исследование позволило установить очаговые воспалительные изменения в базальной пластинке и/или межворсинчатом пространстве, а также морфологические признаки повышенной функциональной напряженности в плацентах, полученных от рожениц с носительством трансплацентарных инфекций, что с началом родовой деятельности может приводить к срыву компенсаторных возможностей с ухудшением состояния плода в процессе родов.

**Ключевые слова:** беременность, плацента, трансплацентарные инфекции, компенсаторно-приспособительные реакции.

На сегодняшний день ни у кого не вызывает сомнений большое значение внутриутробных инфекций, некоторые из которых уже достаточно хорошо изучены, нередко вызывают летальные исходы в перинатальном периоде, другие же характеризуются не столь ярким, но длительным течением, приводящим к разнообразной соматической и неврологической патологии в неонатальном периоде и требуют дополнительных исследований [7, 8].

В настоящее время проблема морфологической диагностики инфекций остается актуальной в связи с увеличением частоты инфицирования беременных женщин [1, 4, 9, 12]. Следует отметить также, что не всякое поражение последа сопровождается развитием внутриутробной инфекции и поражением плода. Поэтому весьма важным является изучение компенсаторных

возможностей и защитных функций последа, способствующих рождению жизнеспособного и здорового ребенка, а также влияния степени активности инфекционного агента в организме матери, времени инфицирования и особенностей течения инфекционного процесса во время беременности.

В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение морфофункциональных особенностей плаценты при носительстве хронических инфекций.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Для изучения морфофункциональной характеристики плаценты у матерей с носительством хронических инфекций и их новорожденных проведено ретроспективное исследование «случай –

*Новикова О.Н.* – к.м.н., доцент кафедры акушерства и гинекологии № 1, e-mail: oxana777\_07@mail.ru

*Мустафина Л.Р.* – к.м.н., научный сотрудник, старший преподаватель кафедры гистологии, эмбриологии и цитологии, e-mail: mustafinalr@rambler.ru

*Ушакова Г.А.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой акушерства и гинекологии № 1, e-mail: oxana777\_07@mail.ru

*Логвинов С.В.* – д.м.н., проф., зав. кафедрой гистологии, эмбриологии и цитологии, e-mail: S\_Logvinov@mail.ru

контроль», в которое включено 308 беременных женщин, родоразрешенных в МБУЗ Городская клиническая больница № 3 им. М.А. Подгорбунского, родильный дом № 1 (г. Кемерово), за период 2009–2011 гг. и 308 новорожденных от этих матерей. Проведен анализ особенностей анамнеза, течения беременности и родов у матерей, клиническое обследование беременных за 2–7 дней до предстоящих родов, а также клиническое обследование новорожденных. Все пациентки были разделены на 2 группы: I группа (основная) включала беременных с хроническими трансплацентарными инфекциями ( $n = 177$ ), полученные от рожениц плаценты ( $n = 54$ ) и новорожденных от этих матерей ( $n = 177$ ), II группа (сравнения) включала беременных с неинфицированным плодным яйцом ( $n = 131$ ), полученные от рожениц плаценты ( $n = 42$ ) и новорожденных от этих матерей ( $n = 131$ ).

Критерии включения в I группу: наличие клинически и лабораторно подтвержденных у матери во время беременности и у новорожденного трансплацентарных инфекций (герпесвирусной 1-го и 2-го типа (ВПГ-1, ВПГ-2), цитомегаловирусной (ЦМВ), токсоплазменной и хламидийной), отсутствие лечения беременных по поводу указанных инфекций, морфологически подтвержденный диагноз гематогенного поражения последа. Критерии включения во II группу: отсутствие каких-либо клинических проявлений инфицирования у матери и новорожденного, отсутствие воспалительных изменений в последе при морфологическом исследовании.

Критерии исключения из исследования: наличие у матери тяжелой соматической патологии, преэклампсия во время настоящей беременности, изосерологическая несовместимость крови матери и плода по группе или резус-фактору, наличие в организме матери очагов хронической инфекции (гестационного пиелонефрита, бронхита, пневмонии, инфекций кожи и т. д.), курение, отсутствие информированного согласия на участие в исследовании.

Лабораторную диагностику инфекций у беременных проводили с помощью цитологического, бактериоскопического, бактериологического методов, иммуноферментного анализа (ИФА) сыворотки крови, полимеразной цепной реакции (ПЦР) отделяемого из экзоцервикса и начального отдела цервикального канала; у новорожденных – при помощи бактериоскопического, бактериологического методов, ИФА сыворотки пуповинной крови, ПЦР мочи, сыворотки крови, спинно-мозговой жидкости.

Диагностику хламидиоза осуществляли методом ПЦР в соскобах цервикального канала

беременных женщин, у новорожденных (по показаниям) выполняли исследование ликвора (набор «ХламАм», фирма ООО НПФ «Гентех», г. Москва), а также ИФА противохламидийных антител классов IgG и IgM в крови женщин и новорожденных детей (фирма «Vector-Best», г. Новосибирск).

Диагностику герпетической и цитомегаловирусной инфекции проводили с помощью ПЦР сыворотки крови (фирмы «ДНК-технология», г. Москва), ИФА сыворотки крови беременной и новорожденного для определения титра антигерпетических и антицитомегаловирусных антител классов IgM, IgG (иммуноферментные тест-системы «Вектор – ВПГ-IgG/ IgM-стрип», фирма «Vector-Best», г. Новосибирск; «ДС-ИФА – анти-ЦМВ-G», «ДС-ИФА – анти-ЦМВ-G-авидность», «ДС-ИФА – анти-ЦМВ-M», фирма «Vector-Best», г. Новосибирск).

Диагноз носительства ВПГ и ЦМВ инфекций устанавливали на основании наличия/отсутствия анамнестических данных об эпизодах герпетической инфекции до и во время беременности, стабильном титре IgG в парных сыворотках, высоком индексе авидности 51–100 %.

Диагноз носительства хламидийной инфекции устанавливали при наличии анамнестических данных об эпизодах урогенитального хламидиоза до беременности, стабильно низком титре IgA и IgG в парных сыворотках, отрицательной ПЦР отделяемого цервикального канала.

Интактность плодного яйца у пациенток группы сравнения подтверждали отрицательными результатами ПЦР гомогената плаценты, а также отсутствием манифестных форм инфекции у новорожденного при клиническом осмотре и отрицательными результатами лабораторного обследования.

Возраст обследованных женщин находился в пределах от 16 до 43 лет и составлял в основной группе  $27,38 \pm 5,39$  года, в группе сравнения –  $26,38 \pm 5,12$  года ( $p = 0,101$ ).

Плаценты, полученные после срочных родов, подвергали гистологическому исследованию, для чего забирали фрагменты из центральной, парацентральной и краевой зон, участков без макроскопически видимых патологических изменений. Объекты фиксировали в 10 % растворе нейтрального формалина и по общепринятой методике заливали в парафин. После приготовления срезов толщиной 4–6 мкм проводили окрашивание гематоксилином и эозином.

Количественную оценку структурных компонентов плаценты производили при помощи окулярной сетки Автандилова. Для этого в десяти независимых полях зрения определяли удельный

объем стромы (%) и сосудов ворсин хориона, хориального эпителия, синцитиальных почек, межворсинчатого пространства, фибриноида и кальцинатов. Подсчет и просмотр микропрепаратов осуществляли на микроскопе «AxioStar plus» (Carl Zeiss, Германия).

Статистическую обработку результатов выполняли с использованием лицензионного пакета программ StatSoft Statistica 6.1 (лицензия № ВХХR006ВО92218FAN11) методами описательной статистики. Результаты представляли в виде среднего значения ( $M$ ) и ошибки среднего ( $m$ ), а также медианы ( $Me$ ) и межквартильных интервалов ( $Q_1 - Q_3$ ). Для оценки различий использовали непараметрический критерий Манна–Уитни. Различия между показателями в разных группах считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Средние сроки беременности в I и II группах не различались и составляли соответственно  $39,33 \pm 0,15$  и  $39,53 \pm 0,17$  недель ( $p < 0,001$ ).

При анализе этиологических факторов трансплацентарных инфекций в основной группе выяснилось, что в 100 % случаев наблюдались ассоциации микроорганизмов и вирусов. При этом ВПГ-1 и ВПГ-2 выявлялись у 160 (90,4 %) беременных, ЦМВ – у 156 (88,14 %), токсоплазменная инфекция – у 12 (6,78 %), хламидийная – у 14 (7,91 %).

Согласно полученным данным, клиническое течение настоящей беременности у пациенток с носительством трансплацентарных инфекций незначительно отличалось от такового у неинфицированных женщин (табл. 1). Тем не менее обращали на себя внимание более частые случаи нарушения плацентации, патологии амниона, истмико-цервикальной недостаточности и дородового излития околоплодных вод у пациенток основной группы, что закономерно приводило к появлению осложнений текущей беременности,

а также к увеличению случаев преждевременных родов.

Так, среди осложнений течения настоящей беременности в I группе значимо чаще отмечалось угрожающее прерывание беременности (78,53 %) по сравнению с таковым у неинфицированных женщин (63,61 %;  $p = 0,004$ ).

Роды произошли в срок у 81,92 % пациенток основной группы и у 86,92 % ( $p = 0,306$ ) женщин в группе сравнения. Запоздалые и преждевременные роды у беременных с наличием инфекции встречались с одинаковой частотой. При этом доля запоздалых родов не отличалась от показателей в группе сравнения (соответственно 9,04 и 10,77 %;  $p = 0,757$ ), а частота преждевременных родов в основной группе была значимо выше таковой в группе неинфицированных женщин (соответственно 9,04 и 2,31 %;  $p = 0,030$ ).

Полученные нами результаты согласуются с результатами многочисленных отечественных и зарубежных исследований, посвященных проблеме течения беременности на фоне инфицирования [2, 4, 9, 12, 16].

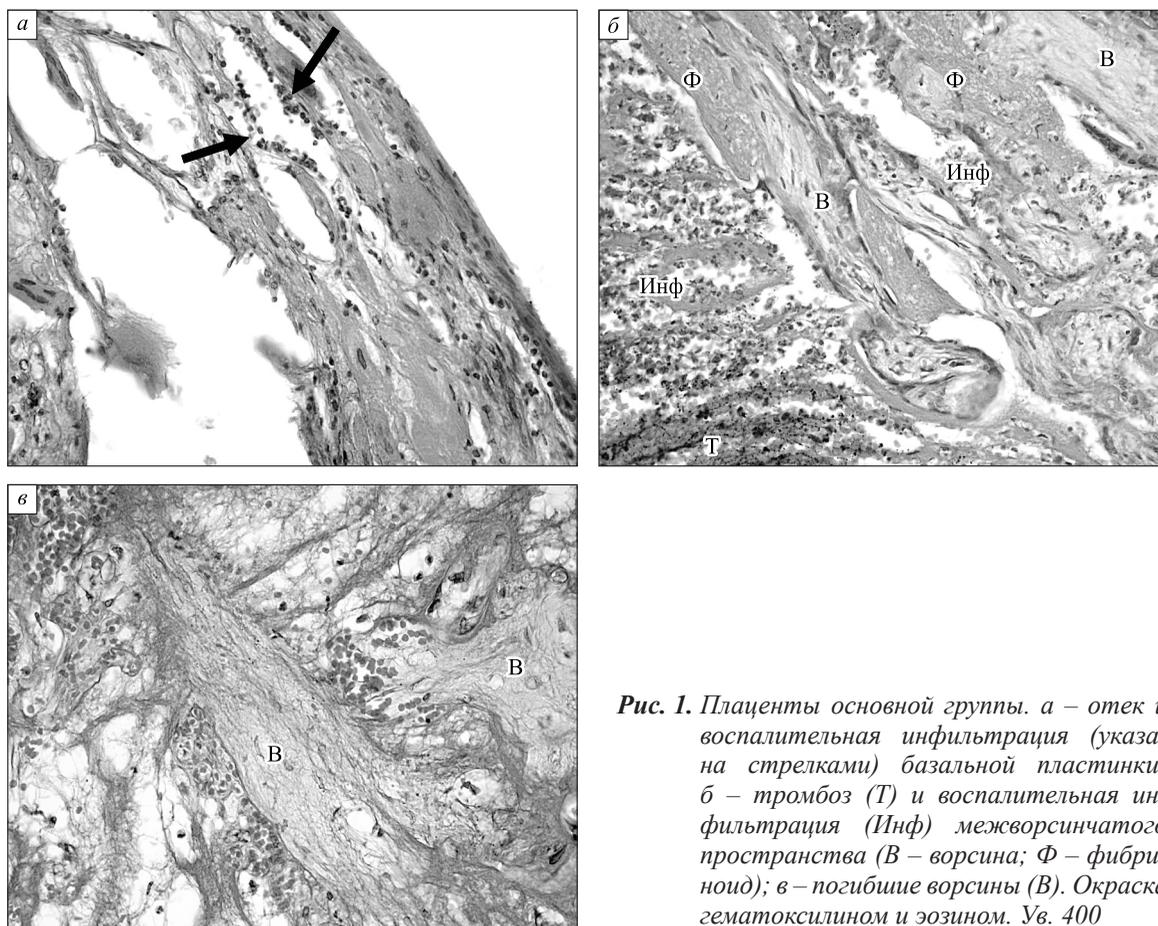
При гистологическом исследовании все плаценты, полученные после срочных родов, имели типичное строение и соответствовали сроку гестации. Однако в плацентах рожениц основной группы наблюдался отек и неравномерно выраженная лейкоцитарная инфильтрация базальной пластины (рис. 1, а). Межворсинчатое пространство содержало отдельные дистрофически измененные ворсины, «замурованные» в фибриноид. В септах, единичных створчатых, а также дистрофически измененных ворсинах наблюдались отложения кальцинатов. В отдельных полях зрения отмечались признаки тромбоза и воспалительная инфильтрация межворсинчатого пространства (см. рис. 1, б). Ворсины, расположенные в зоне описанных патологических изменений, подвергались выраженным дистрофическим изменениям (см. рис. 1, в).

Ворсинчатое дерево в плацентах, полученных от рожениц с носительством хронических трансплацентарных инфекций, содержало все генера-

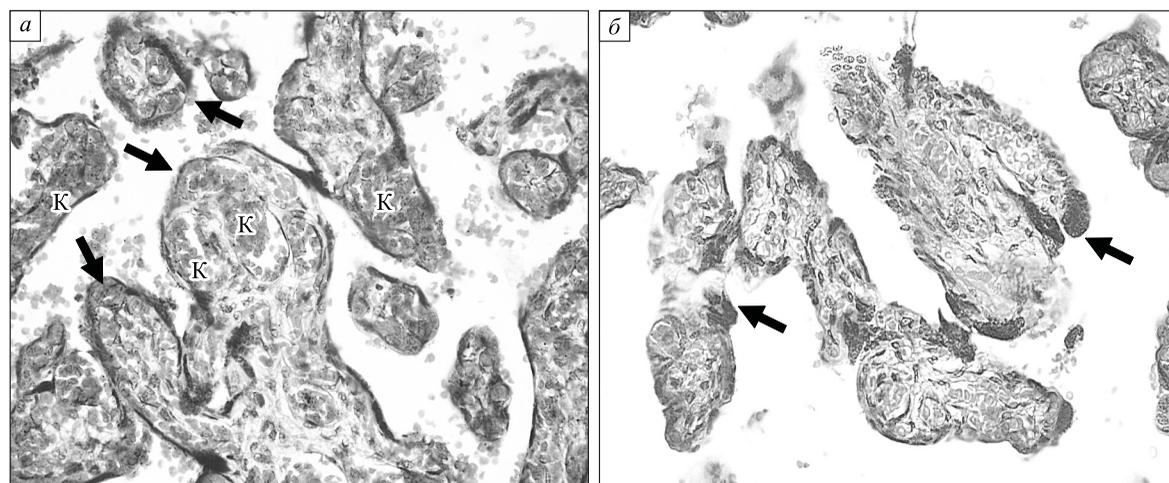
Таблица 1

Особенности течения беременности, % ( $M \pm m$ )

Признак	I группа ( $n = 177$ )	II группа ( $n = 131$ )	$p$
Нарушение плацентации	$21,47 \pm 3,06$	$16,03 \pm 4,0$	0,293
Патология амниона	$31,64 \pm 2,96$	$25,19 \pm 3,15$	0,218
Дородовое излитие околоплодных вод	$31,64 \pm 3,96$	$22,31 \pm 2,23$	0,095
Патология сердечно-сосудистой системы	$31,64 \pm 3,96$	$37,4 \pm 4,68$	0,351
Гестационная анемия	$22,6 \pm 0,29$	$20,61 \pm 0,26$	0,781
Истмико-цервикальная недостаточность	$7,91 \pm 1,98$	$6,87 \pm 1,37$	0,902
Задержка роста плода	$18,64 \pm 2,66$	$19,08 \pm 4,77$	1,000



**Рис. 1.** Плаценты основной группы. а – отек и воспалительная инфильтрация (указана стрелками) базальной пластинки; б – тромбоз (Т) и воспалительная инфильтрация (Инф) межворсинчатого пространства (В – ворсина; Ф – фибриноид); в – погибию ворсины (В). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400



**Рис. 2.** Компенсаторно-приспособительные процессы в плацентах основной группы. а – гиперплазия капилляров (К) терминальных ворсин и синцитио-капиллярные мембраны (указаны стрелками); б – синцитиальные почки (указаны стрелками) на поверхности терминальных ворсин. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

ции ворсин, поверхность которых была покрыта одним слоем синцитиотрофобласта. Эпителиальный покров ворсин имел на большем протяжении дефекты, замещенные полосками фибриноида. В терминальных ворсинах, несущих на себе основную обменную функцию, развивался выра-

женный ангиоматоз, формировались синцитиальные почки и синцитиокапиллярные мембраны (рис. 2, а, б), характеризующие развитие компенсаторно-приспособительных реакций.

При количественной оценке удельных объемов основных структур плацент основной груп-

Таблица 2

Удельные объемы различных структур плаценты в 39 недель гестации, % (Me (Q<sub>1</sub>–Q<sub>3</sub>))

Удельный объем	I группа (n = 54)	II группа (n = 42)
Строма ворсин	29,33* (25,33–34,67)	32,33 (28,67–35,00)
Сосуды ворсин	6,17* (3,33–7,00)	7,00 (4,67–10,33)
Эпителий ворсин	8,17* (7,00–12,33)	9,00 (8,00–10,00)
Синцитиальные почки	2,33* (1,00–3,67)	1,67 (0,33–2,00)
Синцитио-капиллярные мембраны	1,33 (0,67–3,00)	1,17 (0,67–1,67)
Фибриноид	2,33 (1,33–4,33)	2,00 (0,33–3,00)
Межворсинчатое пространство	41,0* (38,0–46,33)	39,67 (35,00–43,00)
Кальцинаты	1,00 (0,33–1,67)	1,00 (0,67–2,00)
Тромбоз межворсинчатого пространства	0,33 (0,00–1,33)	0,00 (0,00–1,33)
Инфильтрация межворсинчатого пространства	0,33 (0,00–0,67)	0,00

Примечание. \* – значимость различий между группами при  $p < 0,05$ .

пы были выявлены достоверно более низкие величины удельных объемов стромы, сосудов и эпителия ворсин по сравнению с показателями в группе неинфицированных пациенток, что свидетельствовало о нарушении развития и питания плаценты (табл. 2).

При этом в группе беременных с носительством инфекции удельные объемы синцитиальных почек были значимо выше показателей группы сравнения.

Достоверных различий в удельных объемах синцитио-капиллярных мембран, а также инволютивно-дистрофических (фибриноида, кальцинатов) и патологических изменений (тромбоза и воспалительной инфильтрации межворсинчатого пространства) между группами установлено не было.

Удельные объемы межворсинчатого пространства в плацентах основной группы были достоверно больше показателей в группе сравнения, что могло быть обусловлено гемодинамическими нарушениями.

Как видно из проведенного исследования, исходный фон, обусловленный наличием инфекции, оказывает влияние не только на течение беременности и развитие осложнений беременности и родов, но также на адекватное функционирование, метаболизм плаценты и ее способность к развитию адаптационных реакций.

Выявленные нами при гистологическом исследовании очаговые воспалительные изменения базальной пластины, по данным ряда авторов, свидетельствует в пользу гематогенного пути распространения инфекции [2, 4]. Ограниченный характер воспалительных изменений в данном случае мог быть обусловлен локализацией возбудителя в пределах пораженных клеток, что характерно, например, для вирусной и хламидийной инфекции [7].

Очаговая воспалительная инфильтрация, отмеченная в ряде случаев в межворсинчатом пространстве плацент основной группы, может встречаться как при гематогенном, так и при восходящем пути инфицирования [2].

По мнению некоторых авторов, наличие очагового децидуита и/или очаговых воспалительных изменений межворсинчатого пространства, без признаков воспалительного поражения ворсинчатого дерева, указывает на отсутствие риска инфекционного поражения плода [1].

В пользу данного высказывания может свидетельствовать отсутствие воспалительных изменений ворсин в плацентах основной группы, а также клинические данные, полученные нами при оценке состояния новорожденных. Так, средняя масса плода при рождении в основной группе составила  $3245,77 \pm 64,46$  г, в группе сравнения –  $3561,09 \pm 40,88$  г ( $p = 0,003$ ). Оценка новорожденных по шкале Апгар на первой и пятой минуте жизни также не имела значимых отличий между исследованными группами. Тем не менее средняя масса младенцев, рожденных от матерей с носительством трансплацентарных инфекций, была меньше, чем у детей, родившихся у неинфицированных женщин. По нашему мнению, это указывает на то, что плацента, пытаясь соответствовать потребностям растущего плода, находилась в состоянии повышенной функциональной напряженности, возможно, на грани срыва компенсаторных возможностей.

Среди морфологических признаков, характеризующих изменения маточно-плацентарной гемодинамики у пациенток основной группы, отмечались очаговые тромбозы, приводившие к нарушению питания и гибели отдельных ворсин. Несмотря на то что удельные объемы тромботических изменений в межворсинчатом пространстве достоверно не отличались от показателей группы

сравнения, подобные нарушения гемодинамики, по всей вероятности, затрудняли обменные процессы между кровью матери и плода, приводя к гипоксии [15]. Подтверждением данного предположения служат значимо большие величины удельных объемов синцитиальных почек, образование которых, как известно, является признаком местной гипоксии [13, 14].

Несмотря на снижение удельного объема сосудистого русла в плацентах рожениц с носительством хронических трансплацентарных инфекций, в терминальных ворсинах отмечалось значительное увеличение размеров и кровенаполнения синусоидных капилляров. Очевидно, что сосудистое русло функционирующих ворсин компенсировало отсутствие ворсин, подвергшихся дистрофии и гибели [3, 8].

Совместно с гиперплазией капилляров наблюдалось формирование истинных синцитио-капиллярных мембран, появление которых направлено на уменьшение дистанции между кровью матери и плода с целью ускорения обменных процессов [5, 10, 11]. Как показало проведенное нами исследование, синцитио-капиллярные мембраны одинаково хорошо были развиты в плацентах обеих исследованных групп.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные в настоящем исследовании результаты позволили заключить, что в плацентах, полученных от рожениц с носительством трансплацентарных инфекций, наблюдаются очаговые воспалительные изменения, локализующиеся в базальной пластинке и/или межворсинчатом пространстве, а также морфологические признаки повышенной функциональной напряженности, что с началом родовой деятельности может приводить к срыву компенсаторных возможностей с ухудшением состояния плода в процессе родов.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бубнова Н.И., Зайдиева З.С., Тютюнник В.Л. Морфология последа при генитальной герпетической инфекции // Акушерство и гинекология. 2001. (6). 24–29.
2. Глуховец Б.И., Глуховец Н.Г. Патология последа. СПб., 2002. 448 с.
3. Измestьева К.А., Шабунина-Басок Н.Р. Адаптивные и компенсаторные реакции фетопла-

центарного комплекса // Арх. патол. 2010. (6). 25–27.

4. Кулаков В.И., Орджоникидзе Н.В., Тютюнник В.Л. Плацентарная недостаточность и инфекция. М., 2004. 494 с.

5. Павлов Т.В., Дубова Е.А., Щеголев А.И. Фетоплацентарный ангиогенез при нормальной беременности: роль сосудистого эндотелиального фактора роста // Акушерство и гинекология. 2011. (3). 11–16.

6. Сидорова И.С., Макарова И.О. Клинико-диагностические аспекты фетоплацентарной недостаточности. М., 2005. 295 с.

7. Цинзерлинг В.А., Мельникова В.Ф. Перинатальные инфекции (Вопросы патогенеза, морфологической диагностики и клинико-морфологических сопоставлений). Практическое руководство. СПб., 2002. 352 с.

8. Цирельников Н.И. Плацентарно-плодные взаимоотношения как основа развития и дифференцировки дефинитивных органов и тканей // Арх. патол. 2005. (1). 54–57.

9. Breugelmans M., Vancutsem E., Naessens A. et al. Association of abnormal vaginal flora and Ureaplasma species as risk factors for preterm birth: a cohort study // Acta Obstet. Gynecol. Scand. 2010. 89. (2). 256–260.

10. Fowden A.L., Sferruzzi-Perri A.N., Coan P.M. et al. Placental efficiency and adaptation: endocrine regulation // J. Physiol. 2009. 587. (Pt. 14). 3459–3472.

11. Sibley C.P. Understanding placental nutrient transfer – why bother? New biomarkers of fetal growth // J. Physiol. 2009. 587. (Pt. 14). 3431–3440.

12. Silva M.J., Florêncio G.L., Gabiatti J.R. et al. Perinatal morbidity and mortality associated with Chlamydial infection: a meta-analysis study // Braz. J. Infect. Dis. 2011. 15. (6). 533–539.

13. Tomas S.Z., Prusac I.K., Roje D. et al. Trophoblast apoptosis in placentas from pregnancies complicated by preeclampsia // Gynecol. Obstet. Invest. 2011. 71. (4). 250–255.

14. Warrander L.K., Batra G., Bernatavicius G. et al. Maternal Perception of Reduced Fetal Movements Is Associated with Altered Placental Structure and Function // PLoS One. 2012. 7. (4). e34851.

15. Vedmedovska N., Rezeberga D., Teibe U. et al. Placental pathology in fetal growth restriction // Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol. 2011. 155. (1). 36–40.

16. Zhu G.X., Lu C., Chen C.J. et al. Pathogenicity of Ureaplasma urealyticum and Ureaplasma parvum in the lower genital tract of female BALB/c mice // Can. J. Microbiol. 2011. 57. (12). 987–992.

## **MORPHOFUNCTIONAL CHARACTERISTICS OF PLACENTA AT III TRIMESTER OF PREGNANCY IN CARRIERS OF CHRONIC INFECTIONS**

**Oksana Nikolaevna NOVIKOVA<sup>1</sup>, Liliya Ramiljevna MUSTAFINA<sup>2,3</sup>,  
Galina Aleksandrovna USHAKOVA<sup>1</sup>, Sergei Valentinovich LOGVINOV<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> *Kemerovo State Medical Academy of Minzdrav of Russia  
650029, Kemerovo, Voroshilov str., 22a*

<sup>2</sup> *Siberian State Medical University of Minzdrav of Russia  
634050, Tomsk, Moscovskiy ch., 2*

<sup>3</sup> *Institute of Obstetrics, Gynecology and Perinatology of SB RAMS  
634063, Tomsk, Sergey Lazo str., 5*

---

The investigation of morphological and functional features of the placenta in carriers of chronic infections has been conducted. 308 patients have been examined: group 1 consisted of women with chronic carrier transplacental infections ( $n = 177$ ), received from them the placenta ( $n = 54$ ) and infants of these mothers ( $n = 177$ ); II group – pregnant women with fetal uninfected ovums ( $n = 131$ ), placenta ( $n = 42$ ) and infants of the mothers ( $n = 131$ ). All placentas underwent histological and morphological investigations followed with data statistical processing. The study allowed identification of a limited basal plate and / or the intervillous space inflammatory changes, as well as morphological features of high functional tension in placentas obtained from women with carriage of transplacental infections. This may lead to failure of compensatory resources with the deterioration of the fetus during childbirth at the beginning of labor.

---

**Key words:** pregnancy, placenta, transplacental infection, compensatory-adaptive reactions.

*Novikova O.N.* – candidate of medical sciences, associate professor of the chair for obstetrics and gynecology,  
e-mail: [oxana777\\_07@mail.ru](mailto:oxana777_07@mail.ru)

*Mustafina L.R.* – candidate of medical sciences, researcher, senior lecturer of the chair for histology,  
embryology and cytology, e-mail: [mustafinalr@rambler.ru](mailto:mustafinalr@rambler.ru)

*Ushakova G.A.* – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for obstetrics and gynecology,  
e-mail: [oxana777\\_07@mail.ru](mailto:oxana777_07@mail.ru)

*Logvinov S.V.* – doctor of medical sciences, professor, head of the chair for histology, embryology and cytology,  
e-mail: [S\\_Logvinov@mail.ru](mailto:S_Logvinov@mail.ru)

## ТРОМБОПРОФИЛАКТИКА У БЕРЕМЕННЫХ С ТРОМБОФИЛИЕЙ И ТРОМБОЗАМИ В АНАМНЕЗЕ

Александр Давидович МАКАЦАРИЯ<sup>1</sup>, Виктория Омаровна БИЦАДЗЕ<sup>1</sup>,  
Джамиля Хизриевна ХИЗРОЕВА<sup>1</sup>, Вячеслав Борисович НЕМИРОВСКИЙ<sup>2</sup>,  
Зумрад Килдияровна ГАДАЕВА<sup>1</sup>, Светлана Владимировна АКИНЬШИНА<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России  
109004, г. Москва, ул. Земляной Вал, 62, стр. 1

<sup>2</sup> Родильный дом для беременных с сердечно-сосудистыми заболеваниями при ГКБ № 67  
123423, г. Москва, ул. Саляма Адиля, 2

В статье представлены современные данные об этиопатогенезе, структуре и клинических проявлениях тромбоэмболических осложнений во время беременности у женщин с тромбозами и тромбофилией в анамнезе. Тромбоэмболия легочной артерии занимает лидирующую позицию в структуре материнской смертности в развитых странах. Авторами предложен метод тромбопрофилактики у беременных, включающий в себя применение низкомолекулярных гепаринов, витаминов группы В и фолиевой кислоты. Оценена безопасность и эффективность предложенного метода.

**Ключевые слова:** тромбофилия, антифосфолипидный синдром, тромбоэмболия легочной артерии, низкомолекулярные гепарины.

Тромбоэмболия легочной артерии (ТЭЛА) представляет собой острую окклюзию тромбом или эмболом ветвей легочной артерии и является составной частью синдрома тромбоза системы верхней и нижней полых вен. В настоящее время эти заболевания принято рассматривать как компоненты единого патологического процесса – венозного тромбоэмболизма (ВТЭ).

Актуальность проблемы прежде всего определяется тем, что в экономически развитых странах в последнее десятилетие ТЭЛА занимает лидирующую позицию в структуре материнской смертности [2]. Частота тромбоэмболических осложнений во время беременности составляет 2–5 на 1000 родов, что в 5–6 раз больше, чем в общей популяции [17]. Вероятно, истинная частота тромбоэмболических осложнений, связан-

ных с беременностью, еще больше, так как почти в 40 % случаев они развиваются уже после выписки пациенток из акушерского стационара [6]. Венозные тромбозы магистральных вен приводят к тромбированию сосудов плаценты, ухудшают маточно-плацентарное кровообращение и внутриутробное состояние плода [26], что создает реальную угрозу жизни и здоровью матери и плода и определяют рост материнской и перинатальной смертности.

Со времени открытия Рудольфом Вирховым в 1884 г. трех главных факторов развития тромбов (замедление скорости кровотока, повреждение стенки сосуда, изменение свойств крови) был выявлен и изучен целый ряд факторов, предрасполагающих к тромбозу (табл. 1), однако даже при тщательном анализе всех факторов риска

*Макацария А.Д.* – д.м.н., проф., член-кор. РАМН, зав. кафедрой акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета, email: gemostasis@mail.ru

*Бицадзе В.О.* – д.м.н., проф., проф. кафедры акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета, email: gemostasis@mail.ru

*Хизроева Д.Х.* – к.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета, email: gemostasis@mail.ru

*Немировский В.Б.* – главный врач родильного дома для беременных с сердечно-сосудистыми заболеваниями

*Гадаева З.К.* – аспирант кафедры акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета

*Акиньшина С.В.* – к.м.н., ассистент кафедры акушерства и гинекологии медико-профилактического факультета, email: gemostasis@mail.ru

Таблица 1

## Приобретенные факторы риска тромбоза во время беременности

<p>Оперативное вмешательство (кесарево сечение, операции на беременной матке, наложение акушерских щипцов)</p> <p>Осложнения беременности, сопровождающиеся ДВС-синдромом:</p> <p>а) ревматические пороки сердца, застойная сердечная недостаточность, искусственные клапаны сердца;</p> <p>б) заболевания почек (приобретенный дефицит антитромбина III вследствие неселективной протеинурии при нефротическом синдроме), артериальная гипертензия;</p> <p>в) гестоз;</p> <p>г) акушерские кровотечения;</p> <p>д) гнойно-септические заболевания;</p> <p>е) инфекционные и воспалительные заболевания (воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта, мочевого пузыря, инфекция)</p> <p>Возраст &gt; 35 лет</p> <p>Множественные роды</p> <p>Ожирение (индекс массы тела &gt; 29 кг/м<sup>2</sup> до беременности)</p> <p>Тромбоз глубоких вен или тромбоэмболия в анамнезе</p> <p>Варикозное расширение вен</p> <p>Иммобилизация (например, при длительном токолизе, параличах, авиаперелете)</p> <p>Дегидратация (рвота беременных)</p> <p>Синдром гиперстимуляции яичников</p> <p>Травма таза</p> <p>Злокачественные новообразования</p>
---

причина тромбозов в 50 % случаев остается неизвестной (так называемые «идиопатические» тромбозы) [5]. Беременность сама по себе является состоянием, при котором риск развития венозных тромбозов увеличивается в 5–6 раз [7]. Фактически для физиологической беременности характерны все признаки триады Вирхова. В течение беременности наблюдается прогрессивное увеличение содержания прокоагулянтных факторов (VIII, VII, V, X, XII, VII, фибриногена), снижение активности антикоагулянтной системы за счет развития резистентности к активированному протеину С и снижения уровня протеина S на 40 %. Торможение фибринолиза при беременности связано с продукцией плацентой ингибитора активатора плазминогена 2 типа (РАI-2), а также с трехкратным увеличением его экспрессии на эндотелии. Состояние гипофибринолиза усугубляется вследствие повышения уровня антиплазмина и ингибитора фибринолиза, активируемого тромбином (ТАFI).

В последние годы все больше внимания уделяется изучению роли тромбофилических состояний в развитии как акушерских, так и тромбоэмболических осложнений. В общей популяции генетические формы тромбофилии (мутация FV Leiden, протромбина, дефицит протеинов С и S, антитромбина III) и антифосфолипидный синдром (АФС) (приобретенная тромбофилия) в среднем встречаются у 15–20 % населения, а при

венозных тромбозах частота тромбофилий достигает 50 % [23]. При ряде тромбофилических состояний риск ВТЭ повышается более чем в 100 раз, особенно при наличии гомозиготных, мультигенных форм тромбофилии или комбинированных форм (генетические тромбофилии + АФС) [29].

Резистентность к активированному протеину С встречается в среднем у 3–7 % среди европейской популяции и у 20–30 % пациентов с тромбозами [15]. Ее классическим примером является мутация FV Leiden, при которой фактор V и VIII становятся нечувствительными к инактивирующему влиянию протеина С, что приводит к избыточному формированию тромбина и торможению фибринолиза (рис. 1). Резистентность к активированному протеину С также может иметь место и при других мутациях фактора V (FV Hong-Kong, FV Cambridge, HRII-гаплотип), а также при целом ряде приобретенных состояний, включая циркуляцию антифосфолипидных антител (АФА), прием оральных контрацептивов, инфекции, акушерские осложнения, протекающие на фоне хронического синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома), прежде всего в условиях гестоза.

Мутация протромбина G20210A ассоциируется с повышением уровня протромбина (активность фактора II достигает 130 % и выше) и выявляется у 2–5 % здорового населения. При этой

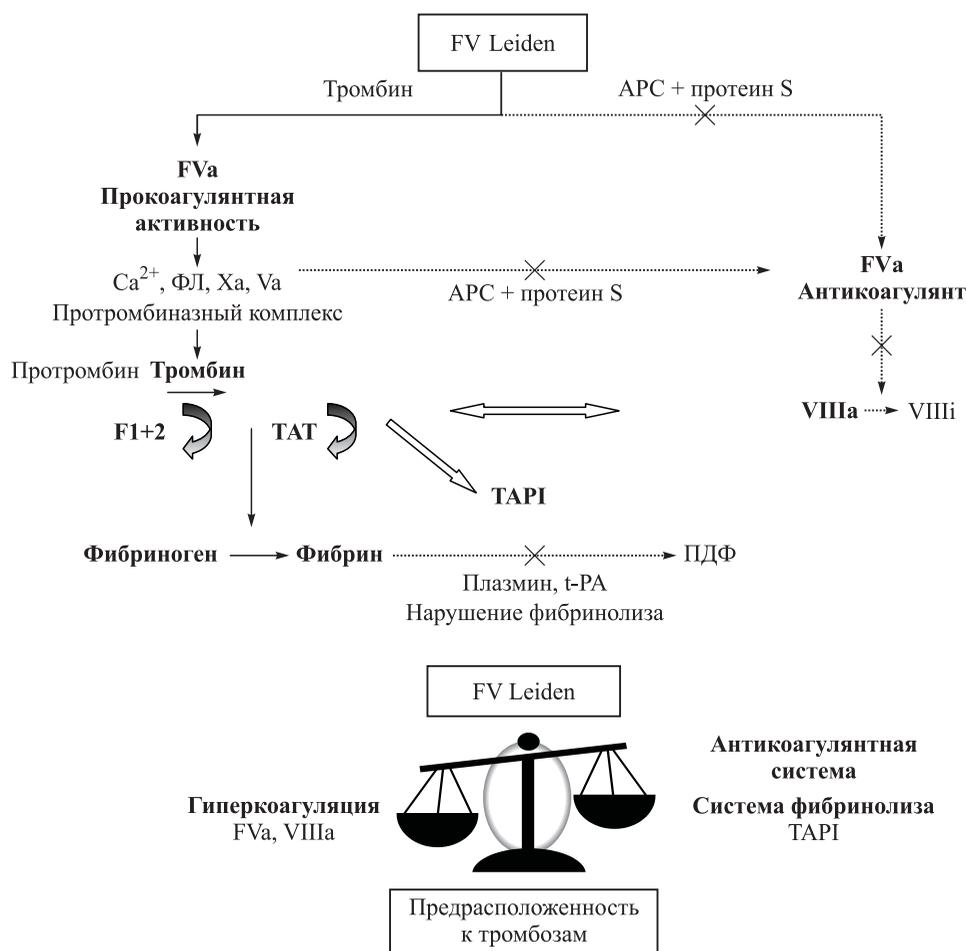


Рис. 1. Нарушение баланса в системе гемостаза при мутации FV Leiden

мутации риск ВТЭ повышается в среднем в 3 раза [2]. Мутация протромбина G20210A была выявлена у 17 % беременных с ВТЭ [13].

Исследования последних лет свидетельствуют о четкой связи генетических тромбофилий и АФС с такими осложнениями беременности, как синдром потери плода, фетоплацентарная недостаточность (ФПН), синдром задержки роста плода (СЗРП), внутриутробная гибель плода, преждевременная отслойка нормально расположенной плаценты (ПОНРП), тяжелые формы гестоза [4, 22, 27, 28]. Если ранее роль тромбофилии в патогенезе осложнений беременности рассматривалась только с точки зрения процессов микротромбирования сосудов плацентарного ложа, то в настоящее время взгляды на патогенетическое влияние тромбофилии значительно расширились. Это связано с изучением роли системы гемостаза и нетромботических эффектов тромбофилии еще на этапах имплантации плодного яйца и инвазии трофобласта.

АФС является одним из наиболее важных факторов риска тромбозов осложнений во время беременности. На сегодняшний день под

АФС понимают симптомокомплекс, сочетающий клинические признаки и лабораторные данные – наличие антифосфолипидных антител в сочетании с артериальными и/или венозными тромбозами и/или акушерскими осложнениями [25]. Во время беременности тромбозы манифестируют у 30 % пациенток с АФС [20]. Риск рецидива ВТЭ при АФС значительно выше, чем в общей популяции, и достигает 70 % [3].

Патогенетическими механизмами развития тромбозов при АФС являются взаимодействие с фосфолипидами эндотелиальных клеток и тромбоцитов, нарушение секреции простациклина, нарушение контактной активации фибринолиза, ингибирование тканевого активатора плазминогена (t-PA), тромбомодулина/протеина С/протеина S, индукция резистентности к активированному протеину С [8].

Гипергомоцистеинемия связывают с ранним развитием атеросклероза и повышением риска тромбозов. Наиболее часто причиной гипергомоцистеинемии является мутация метилентетрагидрафолатредуктазы MTHFR C677T, частота которой в общей популяции составляет 10–20 %

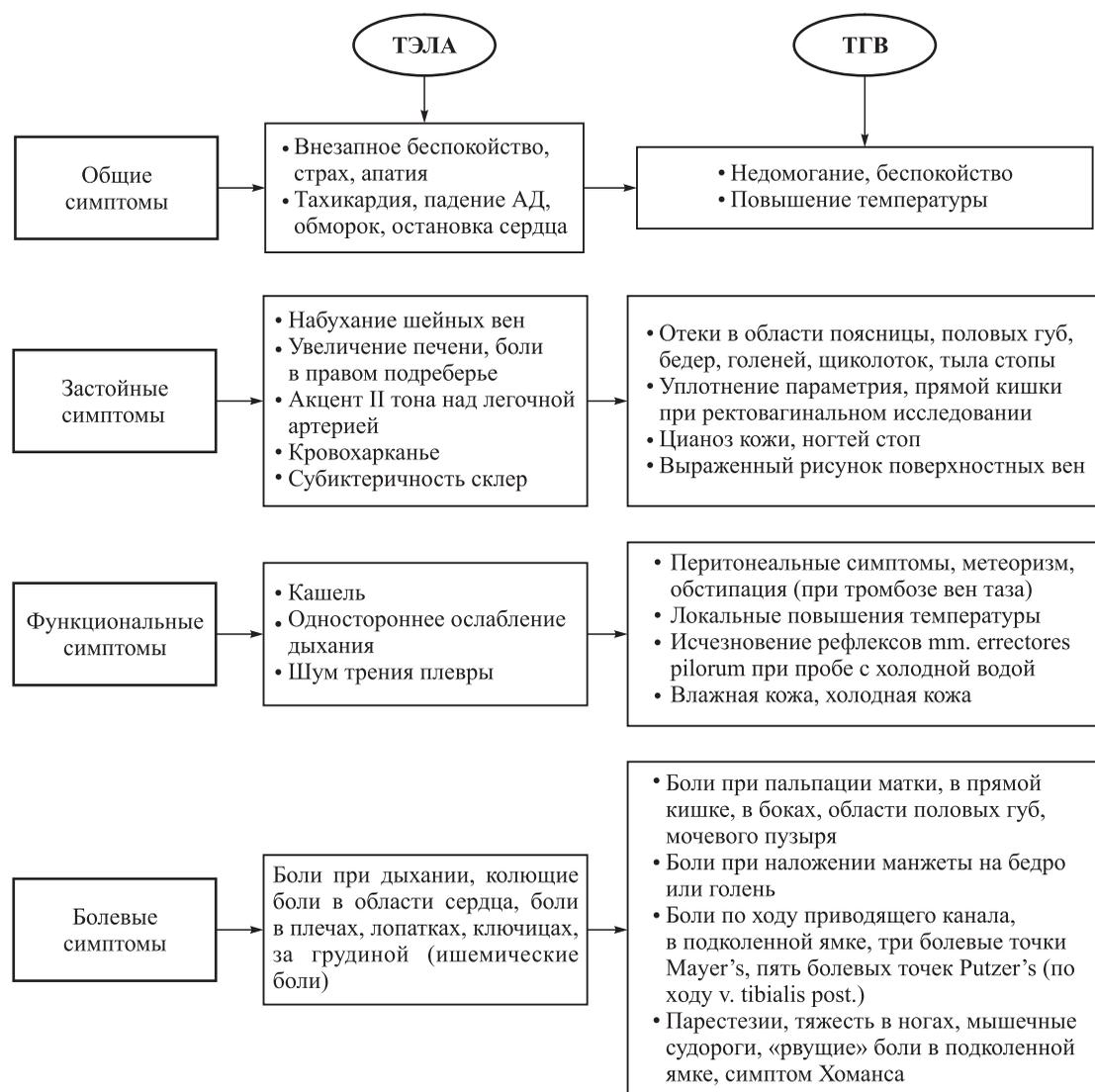


Рис. 2. Клинические симптомы VTЭ

[12]. Однако данные литературы относительно роли мутации MTHFR C677T как фактора повышенного риска VTЭ и акушерских осложнений противоречивы [1, 12, 24]. Гипергомоцистеинемия – единственная наследственная аномалия гемостаза, которая сравнительно легко компенсируется при применении фолиевой кислоты и витаминов группы В. Дальнейшее изучение роли гипергомоцистеинемии для развития VTЭ во время беременности представляется весьма важным.

Важнейшим вопросом является профилактика тромбоемболических осложнений беременности, как первичная у беременных из группы высокого риска, так и вторичная. У пациенток с ТЭЛА во время беременности риск развития VTЭ в следующую беременность значительно повышается и достигает 4–15 % [14]. Единая тактика профилактики рецидива VTЭ во время беременности на настоящее время не разработана и реко-

мендации варьируют от пассивного наблюдения до применения высоких доз гепарина в течение всей беременности и в послеродовом периоде [17, 19, 21].

Диагностика ТЭЛА – трудная задача для практикующих врачей. Клиническая картина ТЭЛА неспецифична и характеризуется полиморфизмом клинических проявлений (рис. 2). Тромбоемболия нередко развивается внезапно, без каких-либо предшествующих факторов риска. При массивной ТЭЛА часто не бывает времени, чтобы установить диагноз и начать адекватное лечение. Поэтому тромбоемболические осложнения традиционно относят к непредотвратимым причинам материнской смертности. Для получения возможности предотвращения VTЭ необходимы дальнейшее изучение факторов риска гестационных тромбозов и их рецидивов и разработка эффективной первичной и вторичной профилактики.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включено 79 пациенток с венозными тромботическими осложнениями в анамнезе и 75 пациенток с физиологически протекавшей беременностью (контрольная группа). У всех пациенток проведено исследование системы гемостаза, включая определение активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ), протромбинового индекса, тромбинового времени, уровня фибриногена, антитромбина III, тромбоэластографию, определение агрегации тромбоцитов, уровней D-димера, продуктов деградации фибрина, уровней гомоцистеина, глобальной функции протеина С, генетических форм тромбофилии и генетических полиморфизмов компонентов системы гемостаза методом ПЦР, определение наличия АФА (к кардиолипинам, b2-гликопротеину I, протромбину, аннексину V) методом иммуноферментного анализа и волчаночного антикоагулянта по времени свертывания плазмы с разведенным ядом гадюки Рассела.

Для установления диагноза тромбофилии использовали критерии, разработанные международной комиссией на конференции в Израиле (Air Travel and Health, Эйлат, Израиль, 9–12 ноября 2006 г.) в составе А.Д. Макацария, В.О. Бицадзе и В. Brenner: наличие АФА, мутаций FV Leiden, протромбина G20210A, гипергомоцистеинемии, их комбинации;  $\geq 3$  гомозиготных генетических полиморфизма;  $\geq 5$  гетерозиготных генетических полиморфизма. Диагностика антифосфолипидного синдрома включала обнаружение АФА и волчаночного антикоагулянта.

У пациенток с выявленными генетическими формами тромбофилии и/или АФС проводилась комплексная профилактическая терапия, включавшая назначение низкомолекулярного гепарина (НМГ) на основе омега 3-жирных кислот, витаминов группы В и фолиевой кислоты (в дозе 5 мг в сутки) для коррекции гипергомоцистеинемии. Доза НМГ варьировала от минимальной профилактической до максимальной терапевтической с учетом контроля изменений состояния системы гемостаза в динамике. Аспирин в низких дозах (75 мг/сут) назначали со II триместра беременности и продолжали максимум до 34 недели при гиперагрегации тромбоцитов у пациенток с АФС и с тяжелыми гестозами в анамнезе. Утрожестан применяли в дозе от 100 до 600 мг у пациенток с синдромом потери плода, АФС (учитывая способность АФА вызывать вторичную прогестероновую недостаточность вследствие угнетения хорионического гонадотропина человека), при угрозе прерывания беременности в отдельных случаях до 32 недель беременности. НМГ отме-

няли за 24 ч до операции кесарева сечения или с началом развития родовой деятельности и возобновляли через 6–8 ч после родов на срок минимум 6 недель под контролем гемостазиограммы.

В подгруппу I вошли 20 пациенток с венозными тромбозами в анамнезе, обратившихся на этапе планирования беременности, которые начиная с фертильного цикла или с ранних сроков беременности получали исследуемую терапию. В подгруппу II были включены 19 пациенток, поступивших для обследования и лечения и/или родоразрешения во II или III триместре беременности, у которых профилактическая терапия была начата только с момента обращения. Остальные 18 пациенток с венозными тромбозами перенесли тромбозэмболические осложнения во время настоящей беременности и представляли интерес с точки зрения катamnестических характеристик, анализа факторов риска, оценки системы гемостаза и исходов беременности.

Все пациентки дали добровольное согласие на участие в исследовании и подписали форму информированного согласия.

Среди обследованных были 28 (49,1 %) пациенток с тромбозами глубоких вен (ТГВ), 14 пациенток (24,6 %) с ТЭЛА, 2 пациентки (3,5 %) с ТЭЛА и ТГВ в анамнезе, 4 женщины (7 %), которые перенесли ишемический инсульт, и ВТЭ, 15 пациенток (26,3 %) с тромбозами так называемых атипичных локализаций (яичниковых вен, вен верхних конечностей, мезентериальных вен, вен сетчатки, синдром Бадда-Киари). У 8 (14 %) пациенток венозные тромбозы были рецидивирующими. Тромбоз был связан с беременностью у 42 больных (73,7 %) (рис. 3). Среди 11 пациенток с ВТЭ в анамнезе, которые произошли в послеродовом периоде, у 6 женщин (54,5 %) с тяжелыми сосудистыми акушерскими осложнениями (гестозы, ПОНРП) тромбоз возник после экстренно кесарева сечения.

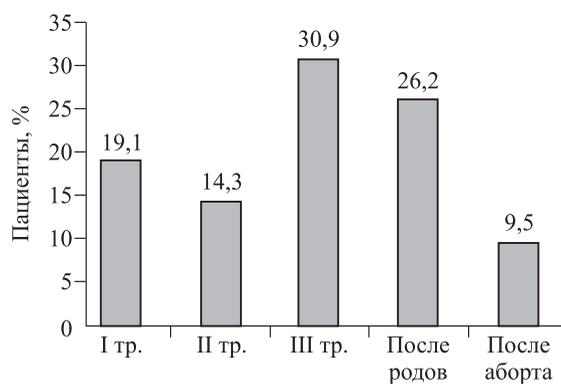


Рис. 3. Частота тромбозов в разные сроки беременности у пациенток с венозными тромботическими осложнениями в анамнезе

Различия между группами оценивали с помощью критерия  $\chi^2$ , статистически значимыми считали результаты при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При анализе факторов риска у пациенток с венозными тромбозами было установлено, что основными провоцирующими факторами было наличие системных заболеваний (системная красная волчанка, системные васкулиты и др.) (14 %), прием оральных контрацептивов (10,5 %), иммобилизация, обусловленная оперативным вмешательством и/или травмами, длительным авиаперелетом (8,7 %), септические осложнения (1,7 %). Часть обследованных относилась к группе повышенного риска по развитию тромбозов в связи с ранее перенесенными тромботическими осложнениями ( $n = 12$ , 21,1 %). Тем не менее у 57,9 % пациенток явных провоцирующих факторов для развития тромботических осложнений не было. Обращает на себя внимание достоверно более высокая частота отягощенного наследственного анамнеза по венозным и артериальным тромбозам у близких родственников в молодом возрасте (54,4 % у пациенток с ВТЭ по сравнению с 13,3 % в контрольной группе,  $p < 0,001$ ). Однако даже при учете всех этих факторов риска причина тромбозов оставалась невыясненной у 13 (22,8 %) женщин. При сравнении спектра сопутствующих соматических заболеваний у пациенток с венозными тромбозами была выявлена статистически значимо более высокая частота клапанных пороков сердца, прежде всего пролапса митрального клапана, чем у лиц контрольной группы (26 и 7,6 % соответственно,  $p < 0,05$ ). Эти результаты представляют особый интерес в свете последних данных о высокой частоте поражений клапанного аппарата сердца в условиях АФС [16].

Обнаружение крайне высокой частоты тяжелых сосудистых акушерских осложнений (ПОНРП, гестозы, ФПН, СЗРП, антенатальная гибель плода) в личном анамнезе у пациенток с ВТЭ (37,5 %; в контрольной группе – 11,5 %,  $p < 0,05$ ) позволило еще до проведения исследований системы гемостаза сделать предположение о наличии тромбофилических состояний.

По данным общеоценочных тестов, включая определение АЧТВ, протромбинового времени, тромбинового времени, уровней фибриногена и антитромбина III, группы пациенток статистически значимо не различались между собой, более того, результаты этих тестов не отражали изменения, происходящие в острую фазу венозных тромбозов, и достоверно не изменялись на фоне терапии НМГ. Повышенный уровень D-димера

(от 1 до 6 мкг/мл при норме  $< 0,5$  мкг/мл) выявлен у 100 % пациенток в острую фазу тромбоза, что позволило сделать вывод о выраженной активации коагуляции. По результатам исходной оценки системы гемостаза, повышенное содержание маркеров хронического ДВС-синдрома (D-димера, растворимых комплексов фибрин-мономеров), гиперфункция тромбоцитов и показатели тромбоэластограммы, свидетельствующие о гиперкоагуляции, статистически значимо чаще выявлялись в группах пациенток с ранее перенесенными ВТЭ по сравнению с контрольной группой. Обращает на себя внимание более высокая частота резистентности к протеину С у больных с венозными тромбозами по сравнению с контрольной группой (19,3 и 1,7 % соответственно,  $p < 0,05$ ). Применение НМГ в большинстве случаев обуславливало нормализацию всех изученных показателей системы гемостаза, что характеризуют данные, полученные для проспективных групп беременных, а также данные по изменениям показателей системы гемостаза у пациенток в острую фазу тромбоза после назначения НМГ. Полученные результаты свидетельствуют о высокой чувствительности маркеров тромбофилии при оценке исходного протромботического статуса, о наличии имеющегося риска тромбоза, об эффективности и адекватности проводимой терапии. В то же время следует обратить внимание на широкие диапазоны значений стандартных отклонений для показателей гемостазиограммы. Это может быть обусловлено влиянием различных факторов на эти маркеры активации коагуляции, включая дозу препарата, соблюдение пациенткой режима его применения, адекватность подобранной терапии, присоединения сопутствующих акушерских осложнений.

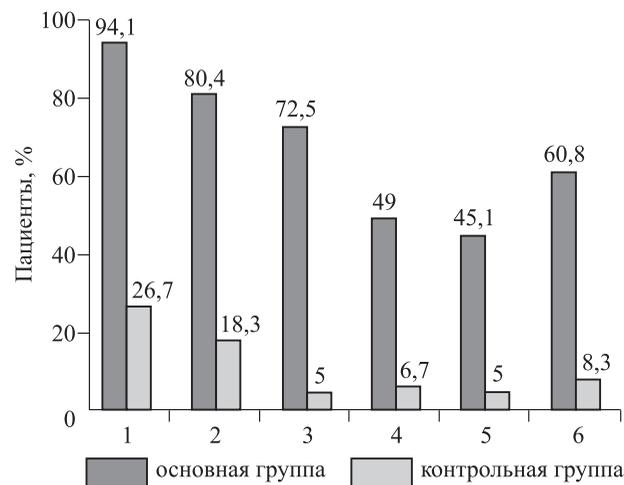


Рис. 4. Частота генетических форм тромбофилии и АФС у пациенток с тромбозами. Различия между основной и контрольной группами статистически значимо ( $p < 0,001$ ) для всех сравнений, критерий  $\chi^2$

Данные по тромбофилиям были получены для 51 (89,5 %) пациентки из основной группы. При анализе генетических форм тромбофилии и АФС у пациенток с ВТЭ (рис. 4) мультигенная тромбофилия обнаружена у 72,5 % обследованных (включая одну или несколько гомозиготных форм у каждой больной), в 64,7 % случаев выявлены мультигенные дефекты фибринолиза. В контрольной группе статистически значимо

реже выявлялись генетические формы тромбофилии, циркуляция АФА, мультигенные тромбофилии, гомозиготные формы тромбофилии; не было обнаружено наиболее тромбогенных мутаций (гомозиготная форма FV Leiden, мутации протромбина G20210A).

Спектр выявленных генетических форм тромбофилии и АФА представлен в табл. 2 и 3.

**Таблица 2**

*Структура генетической тромбофилии у пациенток с венозными тромботическими осложнениями, n (%)*

Генетическая тромбофилия/полиморфизм		Контрольная группа (n = 60)	Пациентки с ВТЭ (n = 51)
FV Leiden	+/-	0	2 (3,9 %)
	+/+	1 (1,7 %)	12 (23,5 %)*
Протромбин G20210A	+/-	0	0
	+/-	0	7 (13,7 %)**
MTHFR C677T	+/+	2 (3,3 %)	6 (11,7 %)
	+/-	5 (8,3 %)	27 (52,9 %)*
PAI-1 675 4G/4G	+/+	2 (3,3 %)	21 (41,3 %)*
	+/-	4 (6,7 %)	17 (33,3 %)*
Фибриноген –455 G/A	+/+	0	18 (35,3 %)
	+/-	2 (3,3 %)	11 (21,6 %)*
t-PA I/D	+/+	1 (1,7 %)	16 (31,4 %)*
	+/-	2 (3,3 %)	21 (41,2 %)*
Фактор XIII 163G/T	+/+	0	3 (5,9 %)
	+/-	1 (1,7 %)	3 (5,9 %)
Фактор Хагемана 46 C/T	+/+	0	5 (9,8 %)**
	+/-	1 (1,7 %)	19 (37,2 %)*
GpIa 807C/T	+/+	0	6 (11,7 %)
	+/-	2 (3,3 %)	10 (19,6 %)**
GpIIIa 1565T/C	+/+	0	2 (3,9 %)
	+/-	4 (2,6 %)	6 (11,7 %)
GpIba 1166 A/C	+/+	0	0
	+/-	0	5 (9,8 %)**

*Примечание.* +/+ гомозиготная форма, +/- гетерозиготная форма; здесь и в табл. 3 обозначены статистически значимые отличия от соответствующих показателей лиц контрольной группы: \* – при  $p < 0,001$ , \*\* – при  $p < 0,05$ .

**Таблица 3**

*Спектр антифосфолипидных антител у пациенток с венозными тромботическими осложнениями, n (%)*

Маркер АФС	Контрольная группа (n = 60)	Пациентки с ВТЭ (n = 51)
Волчаночный антикоагулянт	1 (1,7)**	8 (15,7 %)
АФА (норма до 10 Ед/мл)	3 (5 %)**	10 (19,6 %)
Анти-β2-гликопротеин I (норма до 10 Ед/мл)	0*	13 (25,5 %)
Анти-аннексин V (норма до 5 Ед/мл)	0**	7 (13,7 %)
Анти-протромбин (норма до 10 Ед/мл)	0**	5 (9,8 %)
Первичный АФС	4 (6,7)*	23 (45,1 %)
Вторичный АФС	0	3 (5,9 %)
Всего	4 (6,7)*	25 (49 %)

У пациенток подгруппы I рецидив тромбоза произошел в одном случае (5%), тогда как в группе II было зарегистрировано 5 (26,3%) случаев рецидивирующих тромбозов. Только один случай рецидива ВТЭ (2,5%) произошел на фоне применения НМГ, доза которого была расценена как неадекватная, у пациентки с тяжелым течением АФС, рецидивирующими тромбозами и геморрагическими осложнениями. Один летальный исход произошел у не получавшей никакой антикоагулянтную терапию повторнородящей женщины 40 лет с рецидивирующей недиагностированной массивной ТЭЛА на сроке 30 недель.

В подгруппе I показаниями к плановому кесареву сечению в большинстве служила акушерская ситуация, тогда как в подгруппе II в 26,5% случаев пришлось прибегнуть к досрочному экстренному кесареву сечению в связи с развитием осложнений, связанных с угрозой для жизни матери и/или плода (тяжелый гестоз, ПОНРП, критическое состояние маточно-плодово-плацентарного кровотока) ( $p < 0,05$ ).

Результаты анализа течения беременности и акушерских осложнений свидетельствуют о том, что беременность у женщин с венозными тромбозами в анамнезе, несомненно, сопряжена с высоким риском с точки зрения акушерских осложнений. Обращает на себя внимание статистически значимо более высокая частота гестозов средней тяжести (15,8%) и тяжелых гестозов (10,5%) в подгруппе II, которые потребовали досрочного родоразрешения ( $p < 0,05$ ). В то же время в подгруппе I на фоне проводимой терапии был зарегистрирован только один случай гестоза легкой степени, тогда как развитие среднетяжелых и тяжелых гестозов удалось предотвратить. Более того, в подгруппе II гестозы развивались в более ранние сроки по сравнению с остальными группами ( $p < 0,05$ ). Аналогичная тенденция была выявлена и при анализе частоты и тяжести нарушений маточно-плодово-плацентарного кровотока. В подгруппе II, в которой профилактическая терапия была начата лишь во второй половине беременности, была зарегистрирована более высокая частота нарушения маточно-плацентарного кровотока, чем в подгруппе I и группе контроля ( $p < 0,05$ ), с формированием критического состояния плодово-плацентарного кровотока, что потребовало досрочного родоразрешения в экстренном порядке. Интересно, что в подгруппе II с достоверно более высокой частотой были выявлены аномалии плацентации ( $n = 5$ , 23,3%, в том числе полное предлежание плаценты, ПОНРП, оболочечное прикрепление пуповины, плотное прикрепление плаценты). Эти данные могут служить подтверждением гипотезы о том, что ран-

нее начало профилактической терапии НМГ у пациенток с ВТЭ в анамнезе позволяет не только предотвратить повторные тромбоэмболии, но и создать нормальные условия для инвазии трофобласта и плацентации, что обеспечивает профилактику тяжелых сосудистых акушерских осложнений.

При оценке безопасности терапии НМГ не было выявлено различий в частоте послеродовых осложнений (послеродовые кровотечения, субинволюция матки, гематометра, гематома послеоперационного шва), в объеме кровопотери при самостоятельных родах и при кесаревом сечении, необходимости в гемотрансфузии и частоте тромбоцитопении в двух подгруппах пациенток с ВТЭ в анамнезе по сравнению с контрольной группой. Эти данные свидетельствуют о безопасности применения НМГ во время беременности в изученной популяции больных.

Несмотря на то что НМГ применялся в обеих подгруппах пациенток с венозными тромбозами в анамнезе, частота акушерских кровотечений в подгруппе I и в контрольной группе не различалась, тогда как в подгруппе II была статистически значимо выше. Это может быть связано с более высокой частотой акушерских осложнений, протекающих на фоне хронического ДВС-синдрома, при этом существует высокий риск перехода фоновой хронической гиперкоагуляции в субкомпенсированную и декомпенсированную форму ДВС-синдрома, что сопряжено с высоким риском как тяжелых геморрагических, так и тромботических осложнений.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выявление генетических и приобретенных форм тромбофилии у большинства пациенток с ВТЭ (в 94% случаев) позволяет по-новому взглянуть на патогенез тромбоэмболических осложнений во время беременности. Ведущую роль в возникновении тромбоэмболических осложнений во время беременности играют три основных фактора: генетические тромбофилии, гипергомоцистеинемия и антифосфолипидный синдром. В условиях гиперкоагуляции, которая наблюдается во время беременности, происходит декомпенсация системы гемостаза, и тромбофилии проявляются клинически развитием тромбоэмболических и акушерских осложнений. Наиболее неблагоприятным в отношении тромбоэмболических осложнений у беременных является сочетание мультигенных форм тромбофилии и АФС, наличие гипергомоцистеинемии в сочетании с генетической тромбофилией, гомозиготных форм тромбофилии. Следовательно, беременность можно на-

звать экзаменом, выявляющим все ранее скрытые аномалии гемостаза, которые приводят к возникновению акушерских и/или тромбоэмболических осложнений.

Выявление у большинства пациенток с ВТЭ во время беременности мультигенных форм тромбофилии (72,5 %), в частности множественных дефектов фибринолиза (64,7 %), свидетельствует об их важной роли в возникновении тромбоэмболических осложнений. В подобных случаях речь может идти о еще мало изученных к настоящему времени межгенных взаимодействиях и их фенотипической реализации в условиях воздействия различных приобретенных факторов риска, в том числе при сочетании с АФС и/или гипергомоцистеинемией, на фоне гиперкоагуляции, свойственной беременности или возникающей при применении оральных контрацептивов, при воздействии различных временных факторов риска (травмы, инфекции, оперативные вмешательства и т.д.). Обнаружена взаимосвязь между гипофибринолизом и такими акушерскими осложнениями, как синдром потери плода, неудачи экстракорпорального оплодотворения, гестозы [9–11, 18]. В условиях гипофибринолиза (в результате как полиморфизма PAI-1, так и других причин) происходит десинхронизация локальных процессов фибринолиза и фибринообразования при имплантации. В такой ситуации протеаз, синтезируемых blastocyst, становится относительно недостаточно, чтобы разрушить экстрацеллюлярный матрикс в эндометрии и внедриться на достаточную глубину. Недостаточная инвазия трофобласта в дальнейшем определяет феномен эндотелиальной дисфункции, в частности при гестозе. Эти механизмы могут объяснять эффективность раннего начала НМГ у пациенток с ВТЭ в анамнезе и тромбофилией не только для профилактики рецидивов тромбозов, но и для предотвращения тяжелых акушерских осложнений, включая ПОНРП, тяжелые формы гестоза, ФПН, СЗРП, патогенетические механизмы развития которых, согласно современным концепциям, закладываются еще на этапе формирования трофобласта и плаценты [2].

Скрининг на предмет генетических форм тромбофилии у пациенток с венозными тромбозами и акушерскими осложнениями в личном и семейном анамнезе является оправданным и позволяет дифференцированно назначить антикоагулянтные препараты для вторичной профилактики тромбозов и определить тактику ведения беременности.

Проведение профилактики, направленной на предотвращение активации процессов коагуляции и воспаления с применением низкомолеку-

лярного гепарина, антиагрегантов, витаминов группы В, как в фертильном цикле, так и во время гестационного процесса, позволяет предотвратить повторные венозные тромбоэмболии и тяжелые осложнения беременности, включая преждевременную отслойку нормально расположенной плаценты, гестозы, акушерские кровотечения, фетоплацентарную недостаточность у пациенток с тромбофилией. Назначение этой терапии в более поздние сроки беременности, после завершения процессов инвазии трофобласта, и, следовательно, при уже сложившихся патогенетических механизмах, которые в последствие запустят тяжелые сосудистые акушерские осложнения, значительно менее эффективно.

Дальнейшее изучение проблемы гестационных тромбозов, более широкое внедрение использованных в настоящем исследовании новых лабораторных технологий позволит говорить о тромбоэмболических осложнениях как о предотвратимой причине материнской смертности.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдонин П.В., Кириенко А.П., Кожжевникова Л.М. и др. Корреляция наличия мутации С677Т в гене метилентетрагидрофолатредуктазы и повышенный риск тромбоэмболии легочных артерий у больных из центрального региона России с венозными тромбозами // *Терапевт. арх.* 2006. 78. (6). 70–76.
2. Макацария А.Д., Бицадзе В.О. Тромбофилии и противотромботическая терапия в акушерской практике. М.: Триада X, 2003. 904 с.
3. Abrahams V.M. Mechanisms of antiphospholipid antibody-associated pregnancy complications // *Thromb. Res.* 2009. 124. (5). 521–525.
4. Alferivic Z., Roberts D., Martlew V. How strong is the association between maternal thrombophilia and adverse pregnancy outcome // *Eur. J. Obstet. Gynecol. Reprod. Biol.* 2002. 101. 6–14.
5. Anderson F.A.Jr., Spencer F.A. Risk factors for venous thromboembolism // *Circulation.* 2003. 107. 9–16.
6. Bick R.L., Frenkel E.P., Backer W.F., Sarode R. Hematological complications in obstetrics, pregnancy, and gynecology. Cambridge: University press. 2006. 604 p.
7. Brenner B. Haemostatic changes in pregnancy // *Thromb. Res.* 2004. 114. (5–6):409–14.
8. Den Heijer M., Lewington S., Clarke R. Homocysteine, MTHFR and risk of venous thrombosis: a meta-analysis of published epidemiological studies // *J. Thromb. Haemost.* 2005. 3. (2). 292–299.
9. Dossenbach-Glaninger A., van Trotsenburg M., Dossenbach M. et al. Plasminogen activator inhibitor 1 4G/5G polymorphism and coagulation factor XIII

- Val34Leu polymorphism: impaired fibrinolysis and early pregnancy loss // *Clin. Chem.* 2003. 49. (7). 1081–1086.
10. *Fabbro D., D'Elia A.V., Spizzo R. et al.* Association between plasminogen activator inhibitor 1 gene polymorphisms and preeclampsia // *Gynecol. Obstet. Invest.* 2003. 56. (1). 17–22.
11. *Forastiero R., Martinuzzo M.* Prothrombotic mechanisms based on the impairment of fibrinolysis in the antiphospholipid syndrome // *Lupus.* 2008. 17. (10). 872–827.
12. *Frederiksen J., Juul K., Grande P. et al.* Methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism (C677T), hyperhomocysteinemia, and risk of ischemic cardiovascular disease and venous thromboembolism: prospective and case-control studies from the Copenhagen City Heart Study // *Blood.* 2004. 104. (10). 3046–3051.
13. *Gerhardt A., Scharf R.E., Beckmann M.W. et al.* Prothrombin and factor V mutations in women with a history of thrombosis during pregnancy and the puerperium // *N. Engl. J. Med.* 2000. 342. (6). 374–380.
14. *Ginsberg J.S., Bates S.M.* Management of venous thromboembolism during pregnancy // *J. Thromb. Haemost.* 2003. 1. (7). 1435–1442.
15. *Girling J., de Swiet M.* Inherited thrombophilia and pregnancy // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 1998. 10. (2). 135–144.
16. *Glueck C.J., Phillips H., Cameron D. et al.* The 4G/4G polymorphism of the hypofibrinolytic plasminogen activator inhibitor type 1 gene: an independent risk factor for serious pregnancy complications // *Metabolism.* 2000. 49. (7). 845–852.
17. *Goodnight S.H., Hathaway W.E.* Disorders of haemostasis and thrombosis. Clinical guide. Second edition. McGraw-Hill, Inc., 2001. 622 p.
18. *Greer I.A.* Thrombophilia: implications for pregnancy outcome // *Thromb. Res.* 2003. 109. (2–3). 73–81.
19. *Hirsh J., Guyatt G., Albers G.W. et al.* Antithrombotic and thrombolytic therapy: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8th Edition) // *Chest.* 2008. 133. 110S–112S.
20. *Kearon C., Gent M., Hirsh J. et al.* A comparison of three months of anticoagulation with extended anticoagulation for a first episode of idiopathic venous thromboembolism // *N. Engl. J. Med.* 1999. 340. (12). 901–907.
21. *Koniari I., Siminelakis S.N., Baikoussis N.G. et al.* Antiphospholipid syndrome; its implication in cardiovascular diseases: a review // *J. Cardiothorac. Surg.* 2010. 5. 101.
22. *Miyakis S., Lockshin M.D., Atsumi T. et al.* International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS) // *J. Thromb. Haemost.* 2006. 4. (2). 295–306.
23. *Nicolaidis A.N., Breddin H.K., Carpenter P. et al.* Thrombophilia and venous thromboembolism. International consensus statement. Guidelines according to scientific evidence // *Int Angiol.* 2005. 24. (1). 1–26.
24. *Pabinger I., Grafenhofer H., Kyrle P.A. et al.* Temporary increase in the risk for recurrence during pregnancy in women with a history of venous thromboembolism // *Blood.* 2002. 100. (3). 1060–1062.
25. *Rand J.H., Wu X.X.* Antibody-mediated disruption of the annexin-V antithrombotic shield: A new mechanism for thrombosis in the antiphospholipid syndrome // *Thromb. Hemost.* 1999. 82. (2). 649–656.
26. *Ray J.G., Chan W.S.* Deep vein thrombosis during pregnancy and the puerperium: a meta-analysis of the period of risk and the leg of presentation // *Obstet. Gynecol. Surv.* 1999. 54. (4). 265–271.
27. *Rey E., Kahn S.R., David M. et al.* Thrombophilic disorders and fetal loss: a meta-analysis // *Lancet.* 2003. 361. 901–908.
28. *Robertson L., Greer I.* Thromboembolism in pregnancy // *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.* 2005. 17. (2). 113–116.
29. *Simioni P., Tormene D., Spiezia L. et al.* Inherited thrombophilia and venous thromboembolism // *Semin. Thromb. Hemost.* 2006. 32. (7). 700–708.

## **THROMBOPROPHYLAXIS IN PREGNANT WOMEN WITH THROMBOPHILIA AND THROMBOSIS IN PAST MEDICAL HISTORY**

**Aleksander Davidovich MAKATSARIYA<sup>1</sup>, Viktoriya Omarovna BITSADZE<sup>1</sup>,  
Dzhamilya Khizrievna KHIZROEVA<sup>1</sup>, Vyacheslav Borisovich NEMIROVSKY<sup>2</sup>,  
Zumrad Kildiyarovna GADAEVA<sup>1</sup>, Svetlana Vladimirovna AKINSHINA<sup>1</sup>**

<sup>1</sup> *First Moscow State Medical University n.a. I.M. Sechenov of Minzdrav of Russia  
109004, Moscow, Zemlyanoi Val str., 62, bd.1*

<sup>2</sup> *Maternity Hospital for Pregnants with Cardiovascular Diseases at Municipal Clinical Hospital #67  
123423, Moscow, Salyam Adilya str., 2*

---

Modern data on etiopathogenesis, structure and clinical implications of thromboembolism complications during pregnancy at women with thrombosis and thrombophilia in past medical history have been performed. Thromboembolism of pulmonary artery takes the leading place in the structure of maternal mortality in developed countries. The method of thromb prophylaxis of pregnant including the application of low molecular weight heparins, B group vitamins and folic acid has been proposed. The safety and effectiveness of the proposed method have been evaluated.

---

**Key words:** thrombophilia, antiphospholipid syndrome, thromboembolism of pulmonary artery, low molecular weight heparins.

***Makatsaria A.D.** – professor, corresponding member of RAMS, head of the chair of obstetrics and gynecology of medical-prophylactic faculty*

***Bitsadze V.O.** – doctor of medical sciences, professor, professor of the chair of obstetrics and gynecology of medical-prophylactic faculty*

***Khizroeva D.Kh.** – candidate of medical sciences, assistant of the chair of obstetrics and gynecology of medical-prophylactic faculty*

***Nemirovsky V.B.** – chief physician*

***Gadaeva Z.K.** – postgraduate student of the chair of obstetrics and gynecology of medical-prophylactic faculty*

***Akinshina S.V.** – candidate of medical sciences, assistant of the chair of obstetrics and gynecology of medical-prophylactic faculty*

## ВЛИЯНИЕ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ ТРАНСЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ИМПУЛЬСНОЙ ЭЛЕКТРОТЕРАПИИ И ХЛОРИДНО-НАТРИЕВЫХ ВАНН НА ВАРИАБЕЛЬНОСТЬ СЕРДЕЧНОГО РИТМА У БОЛЬНЫХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

Елена Николаевна МАРКОВА, Юрий Алексеевич НИКОЛАЕВ,  
Игорь Михайлович МИТРОФАНОВ

ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

Показано, что у больных с артериальной гипертензией (АГ), которые получали только базовую медикаментозную антигипертензивную терапию, целевой уровень артериального давления достигнут в 70 % случаев, в то время как у пациентов, получавших дополнительно сеансы трансцеребральной импульсной электротерапии и хлоридно-натриевых ванн, – в 83,3 и 76,6 % случаев соответственно. При сочетанном применении трансцеребральной импульсной электротерапии и хлоридно-натриевых ванн гипотензивный эффект был достигнут в 93,3 % случаев и было выявлено достоверное снижение величин как систолического, так и диастолического артериального давления по сравнению с пациентами, находившимися только на медикаментозной антигипертензивной терапии. Результаты проведенной работы показали более высокую эффективность включения в схему лечения больных АГ сочетанного применения трансцеребральной импульсной электротерапии и хлоридно-натриевых ванн, что было связано с влиянием данных видов лечения на состояние вегетативной нервной системы, с ростом ее парасимпатической активности, и свидетельствуют о целесообразности включения в комплексную терапию больных АГ данных видов лечения.

**Ключевые слова:** артериальная гипертензия, вегетативная нервная система, электросон, хлоридно-натриевые ванны.

Артериальная гипертензия (АГ) остается на сегодняшний день одной из наиболее распространенных причин высокой инвалидности и смертности. Однако эффективность ее терапии еще недостаточна, чему имеется ряд причин. Так, несмотря на широкий спектр современных антигипертензивных препаратов, остается низкая приверженность пациентов к лекарственной терапии и ее недостаточная эффективность [3]. Необходимость включения немедикаментозных способов лечения в комплекс лечебно-профилактических, реабилитационных и оздоровительных мероприятий больных АГ не вызывает сомнений [5, 10, 15]. В связи с недостаточностью доказательной базы недооценивается роль преформированных физических факторов в комплексном лечении больных АГ [13]. Обоснование эффективности лечебных вмешательств – современный подход к медицинской практике, при котором решения о применении тех или иных методик принимаются исходя из имеющихся доказательств их резуль-

тативности и безопасности для использования в интересах больного [9].

В современной физиотерапии сердечно-сосудистых заболеваний важным направлением является использование схем комбинированного применения физических факторов, обладающих направленностью на основные звенья патогенеза АГ, для потенцирования синергичного действия [5, 18]. Одним из способов, нашедших применение в лечении больных АГ, по интенсивности воздействия и результативности ведущее место занимает электросон. Механизм лечебного эффекта электросна заключается в изменении функционального состояния центральной нервной системы (ЦНС) и непосредственно структур головного мозга (гипофиз, гипоталамус, ретикулярная формация ствола мозга, лимбическая система) под воздействием импульсных токов низкой частоты [4]. В результате улучшается вегетативное обеспечение, связанное со снижением активности симпатического отдела вегетативной нервной

*Маркова Е.Н. – врач-физиотерапевт ФТО клиники*

*Николаев Ю.А. – д.м.н., и.о. зам. директора по клинической и научной работе, руководитель лаборатории патогенеза соматических заболеваний, главный научный сотрудник*

*Митрофанов И.М. – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патогенеза соматических заболеваний*

системы (ВНС) с формированием седативного, гемодинамического (снижение периферического сопротивления) и, как следствие, гипотензивного эффекта [10]. Вместе с этим бальнеотерапия также применяется для лечения больных АГ, в частности хлоридно-натриевые (соляные) ванны. Рефлекторно обусловленные изменения в ЦНС, в том числе в гипоталамусе, вызванные соляными ваннами, приводят к преобладанию парасимпатической активности ВНС, усилению процессов торможения ЦНС и, как следствие, к седативному и гипотензивному эффектам [4, 11].

Известно, что вариабельность ритма сердца (ВРС) относится к одному из наиболее важных гомеостатических параметров организма человека. Изменение ВРС – универсальная оперативная реакция целостного организма в ответ на любое воздействие внешней среды. В ее основе лежит обеспечение баланса между симпатической, парасимпатической нервной и барорефлекторной системами, что является одним из патогенетических звеньев формирования АГ [7, 12, 17]. В связи с этим изучение особенностей ВРС у больных АГ в зависимости от характера терапии представляет большой практический интерес [2, 8]. Однако на сегодняшний день работы по изучению влияния преформированных физических факторов при их изолированном и сочетанном применении на вегетативное обеспечение организма в динамике лечения пациентов АГ имеют противоречивые результаты, что делает настоящее исследование актуальным и обоснованным.

Цель исследования – оценить динамику гемодинамических и спектральных показателей ВРС у больных АГ в процессе их комплексного лечения с использованием изолированного применения электросонотерапии, соляных ванн, а также при их сочетании.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

На базе клиники ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН проведено обследование и динамическое наблюдение за 120 больными (72 женщины и 48 мужчин) с диагнозом АГ 1–2 стадии, 1–2 степени по критериям ВНОК (2010) [18]. Все включенные в обследование дали информированное согласие на участие в исследовании, которое соответствовало этическим стандартам, разработанным в соответствии с Хельсинкской декларацией Всемирной ассоциации «Этические принципы проведения научных медицинских исследований с участием человека». Учитывая результаты работ [1, 3, 8] о влиянии возраста людей на показатели ВРС, в исследование были включены пациенты

только возрастной группы от 40 до 50 лет. Средний возраст пациентов составил  $46,8 \pm 5,2$  года, средний стаж заболевания –  $6,5 \pm 3,5$  года. Средние показатели трехкратного измерения АД до начала курса лечения составляли: систолическое АД (САД) –  $154,7 \pm 15,8$  мм рт. ст., диастолическое АД (ДАД) –  $93,3 \pm 8,8$  мм рт. ст. Критерии исключения из выборки: наличие АГ 3 степени, злокачественное течение гипертонии, нарушение мозгового кровообращения независимо от сроков транзиторной ишемической атаки и инсульта, сердечная недостаточность 2–3 степени, арахноидит в анамнезе, эпилепсия, тяжелые сопутствующие заболевания печени, почек, язвенная болезнь в стадии обострения, дорсопатия с выраженным болевым синдромом.

Методом случайной выборки все пациенты были рандомизированы на четыре группы по 30 человек, сопоставимые по возрасту, клинико-функциональным характеристикам и медикаментозной антигипертензивной терапии (β-блокаторы, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, диуретики). Пациенты 1-й группы получали только медикаментозную антигипертензивную терапию. Пациентам 2-й группы на ее фоне назначали процедуры электросонотерапии. Для сеансов электросна использовали аппарат «ЭС-10-5» (производство Малоярославского приборного завода, Россия), частота прямоугольных импульсов 10–20 Гц, длительность каждого импульса 0,5 мс, сила тока 7–8 мА, по глазнично-сосцевидной методике, продолжительность процедуры 30–40 мин, ежедневно, в первой половине дня, на курс 10 сеансов. Пациенты 3-й группы на фоне антигипертензивной терапии получали сеансы хлоридно-натриевых ванн (минерализация 30 г/дм<sup>3</sup>, температура воды 36–37 °С, по 10 мин, ежедневно, во второй половине дня, на курс 10 ванн), пациенты 4 группы – сеансы электросонотерапии и соляных ванн, чередующихся через день в указанных выше режимах, по 8 сеансов каждого вида лечения. Обследование пациентов включало ежедневное измерение АД и частоты сердечных сокращений в утреннее и вечернее время. АД измеряли аускультативно-манжеточным способом, максимальное АД фиксировали по первому тону, минимальное – по 5 фазе Короткова (исчезновение тонов), прибавляя к этой величине 5 мм рт. ст. Исследование и расчет ВРС производили на аппарате «ВНС-микро» («Нейрософт», Россия) после автоматического исключения артефактов и аритмий в последовательно бравшихся 5-минутных окнах, где анализировалась продолжительность последовательных RR-интервалов синусового происхождения. Спектральный анализ выполняли с использованием

быстрого преобразования Фурье, определяли спектральные плотности мощности ( $\text{мс}^2$ ) по диапазонам очень низких (VLF), низких (LF) и высоких частот (HF), общую мощность спектра (TP), рассчитывали значения HF- и LF-компонентов мощности в нормализованных единицах (соответственно  $Hfnu$ ,  $Lfnu$ ), индекс централизации (ИЦ =  $VLF/(HF+LF)$ ) [18]. Все указанные исследования проводили до и после курса лечения.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли с использованием лицензионного пакета статистических программ STATISTICA v. 10.0 и блока статистического анализа программы Microsoft Office Excel (2007). Результаты представлены в виде среднего арифметического и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Для сравнительного анализа различий между группами применяли однофакторный дисперсионный анализ (one-way ANOVA) с последующим использованием для множественных сравнений  $q$ -критерия Ньюмена–Кейлса, а для анализа различий между повторными наблюдениями – парный критерий Стьюдента. Анализ эффективности гипотензивной терапии проведен с использованием  $z$ -критерия. Различия сравниваемых показателей считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного курсового лечения у пациентов, получавших только медикаментозную антигипертензивную терапию (1-я группа) целевой уровень АД был достигнут у 70 % больных. САД достоверно снизилось с  $158,5 \pm 20,7$  до  $133,5 \pm 10,4$  мм рт. ст., ДАД – с  $101,5 \pm 17,6$  до  $90,1 \pm 6,1$  мм рт. ст. ( $p < 0,05$ ). У пациентов 2-й группы, дополнительно получавших сеансы трансцеребральной импульсной электротерапии, гипотензивный эффект был достигнут в 83,3 % случаев. При этом систолическое САД снизилось с  $157,6 \pm 13,2$  до  $122,6 \pm 9,1$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ), ДАД – с  $94,3 \pm 8,9$  до  $80,8 \pm 6,1$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ). У больных, которые на фоне медикаментозной антигипертензивной терапии принимали сеансы соляных ванн (3-я группа), произошло уменьшение величин показателей АД в 76,6 % случаев: САД снизилось с  $154,6 \pm 15,8$  до  $127,1 \pm 11,1$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ), ДАД – с  $91,5 \pm 8,4$  до  $83 \pm 8,2$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ). У пациентов, получавших сочетанное немедикаментозное лечение (4-я группа), было выявлено уменьшение величин показателей АД в 93,3 % случаев: САД снизилось с  $152,8 \pm 17,6$  до  $122,1 \pm 8,4$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ), ДАД – с  $94,3 \pm 9,2$  до  $80,3 \pm 7,3$  мм рт. ст. ( $p < 0,0001$ ).

При межгрупповом анализе различий показателей АД было установлено достоверное, более выраженное, снижение САД на 9,3 % в 4-й группе по сравнению с контрольной ( $p = 0,0232$ ).

Сравнительные данные спектральных показателей ВРС у больных АГ всех групп до и после лечения представлены в табл. 1. По окончании курса лечения в группах, где пациенты дополнительно получали сеансы физиотерапевтических процедур, установлено достоверное увеличение показателей общей мощности спектра кардиоритма (TP): во 2-й группе – в 2,5 раза ( $p = 0,0002$ ), в 3-й и 4-й группах – в 2,7 раза ( $p = 0,0010$  и  $p = 0,0002$  соответственно). В группе контроля (1-я группа) достоверного изменения этого показателя отмечено не было. При этом TP у пациентов 3-й и 4-й групп была статистически значимо выше, чем в контрольной ( $p = 0,0075$  и  $p = 0,0250$  соответственно). Увеличение абсолютной величины общей мощности спектральной характеристики кардиоритма является благоприятным прогностическим признаком течения заболевания [7].

Величина VLF возрастала в группе контроля в 1,7 раза ( $p = 0,0164$ ), в группе электросна – в 2,1 раза ( $p = 0,0112$ ), в группе соляных ванн – в 2,0 раза ( $p = 0,0029$ ). Только в 4-й группе сочетанного применения электросна и соляных ванн увеличение этого показателя не носило достоверного характера. Статистически значимых различий величин VLF между группами выявлено не было.

Величина LF в 1-й группе уменьшилась в 2,2 раза ( $p = 0,0207$ ), во 2-й группе увеличилась в 2,1 раза ( $p = 0,0002$ ), в 3-й и 4-й группах не изменилась. При этом величина данного показателя во 2–4 группах была статистически значимо выше, чем в 1-й группе ( $p = 0,0185$ ,  $p = 0,0349$  и  $p = 0,0308$  соответственно).

Величина HF была больше по сравнению с исходными данными во 2-й группе (электросна) в 4,3 раза ( $p = 0,001$ ), в 3-й группе (соляных ванн) в 5,4 раза ( $p = 0,001$ ), в 4-й группе (сочетанного физиолечения) в 6,0 раза ( $p = 0,00001$ ). В группе контроля этот показатель достоверных изменений не претерпевал. Статистически значимые различия показателя HF имели место между 1-й и 3-й группами ( $p = 0,0101$ ), 1-й и 4-й группами ( $p = 0,135$ ).

Снижение индекса централизации после курсового лечения во 2-й группе больных произошло в 2,8 раза ( $p = 0,00002$ ), в 3-й группе – в 1,8 раза ( $p = 0,032$ ), в 4-й группе – в 2,7 раза ( $p = 0,00004$ ). В группе контроля изменения не носили достоверного характера. Межгрупповой анализ различия величины ИЦ показал статистически значимое отличие от контроля величины показателя во

Таблица 1

Показатели вариабельности ритма сердца у пациентов с АГ в зависимости от вида физиотерапевтического лечения (M ± m)

Показатель	1-я группа сравнения (n = 30)		2-я группа электросон (n = 30)		3-я группа соляные ванны (n = 30)		4-я группа электросон + соляные ванны (n = 30)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
TP, мс <sup>2</sup>	2090,6 ± 342,9	2261,6 ± 298,4	1699,9 ± 336,7	4166,1 ± 832,0*	2272,8 ± 585,4	6228,9 ± 1160,2*#(1-3)	1994,2 ± 283,0	5466,3 ± 896,8*#(1-4)
VLF, мс <sup>2</sup>	576,6 ± 79,2	992,6 ± 164,9*	635,5 ± 93,2	863,0 ± 128,2*	701,8 ± 116,5	1414,6 ± 216,1*	768,3 ± 124,2	966,5 ± 138,2
LF, мс <sup>2</sup>	902,3 ± 230,3	399,1 ± 52,7*	594,9 ± 193,9	1253,4 ± 257,1*#(1-2)	931,7 ± 404,8	1380,0 ± 238,8#(1-3)	700,6 ± 140,3	1316,0 ± 359,5#(1-4)
HF, мс <sup>2</sup>	611,8 ± 95,9	870,0 ± 145,9	469,5 ± 108,3	2049,7 ± 487,3*	639,4 ± 185,3	3434,4 ± 856,4*#(1-3)	525,5 ± 114,3	3183,9 ± 553,9*#(1-4)
Lf, nu %	58,1 ± 3,6	38,0 ± 3,3*	54,6 ± 3,9	40,9 ± 3,4*	51,4 ± 3,2	36,3 ± 2,9*	52,7 ± 4,5	27,5 ± 3,2*#(2-4)
Hf, nu %	41,9 ± 3,6	62,0 ± 3,3*	45,4 ± 3,9	59,1 ± 3,4*	48,5 ± 3,2	63,7 ± 2,9*	47,4 ± 4,5	72,5 ± 3,2*#(2-4)
ИЦ	0,67 ± 0,10	0,95 ± 0,11	1,21 ± 0,17#(1-2)	0,42 ± 0,06*#(1-2)	0,96 ± 0,16	0,54 ± 0,10*#(1-3)	0,97 ± 0,12	0,35 ± 0,06*#(1-4)

Примечание. Здесь и в табл. 2 \* – отличие от величины соответствующего показателя до лечения статистически значимо при  $p < 0,05$ ; # – статистическая значимость различий между величинами показателей в сравниваемых группах больных,  $p < 0,05$ .

2–4-й группах ( $p = 0,0002$ ,  $p = 0,0015$  и  $p = 0,0002$  соответственно).

В процессе курсовой комплексной терапии изменились и нормализованные показатели (Hfnu и Lfnu): величина Lfnu у пациентов всех групп уменьшилась по сравнению с исходными значениями (в 1-й – в 1,5 раза ( $p = 0,0002$ ), во 2-й – в 1,3 раза ( $p = 0,0001$ ), в 3-й – в 1,4 раза ( $p = 0,0001$ ) и в 4-й – в 1,9 раза ( $p = 0,0001$ )), а величина Hfnu возросла (соответственно в 1,5, 1,3, 1,3 и 1,5 раза,  $p < 0,0002$ ). По величинам нормализованных показателей ВСР различались только 2-я и 4-я группы: Hfnu на 21,5 % ( $p = 0,0196$ ), Lfnu на 79,2 % ( $p = 0,0190$ ).

Вклад отдельных частотных характеристик в общую мощность спектра по группам представлен в табл. 2. В контрольной группе было выявлено увеличение величины %VLF в 1,2 раза ( $p = 0,0327$ ), снижение %LF в 1,7 раза ( $p = 0,000001$ ) и отсутствие достоверных изменений %HF по сравнению с величинами этих показателей до начала курса терапии. У пациентов, дополнительно к базовой терапии получавших сеансы электросна, величина %VLF уменьшалась в 1,8 раза, %HF увеличивалась в 1,7 раза ( $p = 0,000001$ ), %LF не изменялась по сравнению с величинами до начала курса терапии. В 3-й группе пациентов, дополнительно принимавших соляные ванны, было выявлено снижение величины %VLF, но в меньшей степени (в 1,3 раза), чем во второй группе ( $p = 0,008$ ), повышение %HF в 1,5 раза ( $p = 0,0002$ ) и тенденция к снижению %LF ( $p = 0,058$ ). Более значимые изменения величин данных показателей имели место в 4-й группе: уменьшение %VLF и %LF в 1,9 и 1,5 раза соответственно ( $p = 0,0001$  и  $p = 0,0213$  соответственно), увеличение %HF в 2,1 раза ( $p = 0,0001$ ). Обнаружено, что у пациентов, на фоне медикаментозного лечения получавших сеансы физиотерапевтических процедур, величина %VLF была статистически значимо ниже, чем в группе контроля ( $p < 0,0006$ ). Достоверные различия в величине показателя %LF имели место между группами 1 и 2 ( $p = 0,018$ ) и 2 и 4 ( $p = 0,022$ ), а показателя %HF – между группами 1 и 2 ( $p = 0,0499$ ), 1 и 4 ( $p = 0,0002$ ), 3 и 4 ( $p = 0,0121$ ).

На следующем этапе мы провели корреляционный анализ для выявления наличия взаимосвязи гемодинамических показателей у больных АГ с показателями вегетативного обеспечения организма. Выявлена прямая взаимосвязь между САД и ИЦ ( $r = 0,5165$ ;  $p = 0,003$ ), САД и %VLF ( $r = 0,5448$ ;  $p = 0,002$ ), обратная взаимосвязь между САД и %LF ( $r = -0,4405$ ;  $p = 0,015$ ). Также установлена обратная зависимость между ДАД и HF ( $r = -0,4076$ ;  $p = 0,025$ ), ДАД и %LF

Таблица 2

Распределение спектральных характеристик кардиоритма в показателе общей мощности у больных АГ в зависимости от вида физиотерапевтического лечения ( $M \pm m$ )

Показатель	1-я группа сравнения (n = 30)		2-я группа электросон (n = 30)		3-я группа соляные ванны (n = 30)		4-я группа электросон + соляные ванны (n = 30)	
	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
%VLF, мс <sup>2</sup>	35,3 ± 3,0	44,3 ± 2,7*	47,3 ± 3,5	26,5 ± 2,7*#(1-2)	41,4 ± 3,4	30,6 ± 2,8*#(1-3)	43,1 ± 3,6	22,7 ± 2,7*#(1-4)
%LF, мс <sup>2</sup>	37,2 ± 2,4	20,1 ± 1,6*	27,8 ± 2,5	29,1 ± 2,3#(1-2)	29,2 ± 2,3	24,3 ± 2,0	30,5 ± 3,4	20,9 ± 2,6*#(2-4)
%HF, мс <sup>2</sup>	28,4 ± 3,1	35,5 ± 2,9	25,0 ± 3,0	44,2 ± 3,2*#(1-2)	29,4 ± 2,8	45,0 ± 3,0*	26,2 ± 3,2	56,2 ± 3,3*#(1-4) (2-4) (3-4)

( $r = -0,4000$ ;  $p = 0,029$ ), ДАД и %HF ( $r = -0,4109$ ;  $p = 0,024$ ) и достоверная прямая взаимосвязь между ДАД и ИЦ ( $r = 0,5859$ ;  $p = 0,001$ ), ДАД и %VLF ( $r = 0,6149$ ;  $p = 0,0001$ ).

Несмотря на то что механизмы ВРС до сих пор являются предметом изучения и дискуссий [16], преобладающей на сегодня является точка зрения, согласно которой мощность в спектре HF является одним из маркеров активности блуждающего нерва, в спектре LF – свидетельствует о выраженности симпатической модуляции ВРС, в частности системы регуляции сосудистого тонуса вазомоторным центром продолговатого мозга, и о модулирующих влияниях на последний бароафферентов, в спектре VLF – связана с влиянием надсегментарных (в первую очередь гипоталамических) структур и отражает, по мнению большинства исследователей, состояние нейрогуморального и метаболического уровней регуляции [1, 2, 6].

Исходя из вышеизложенных представлений о корреляциях спектральных характеристик кардиоритма, полученные в нашем исследовании результаты показали, что в группе, где пациенты получали только медикаментозную терапию, была тенденция к снижению симпатической активности при неизменной парасимпатической составляющей, что приводит к росту надсегментарных влияний центральной нервной системы. У пациентов, на фоне базовой антигипертензивной терапии получавших процедуры электросон-терапии имело место повышение парасимпатической активности, снижение уровня надсегментарных влияний при отсутствии значимых изменений симпатической составляющей. Если пациенты на фоне антигипертензивной терапии получали сеансы хлоридно-натриевых ванн, то определялось менее выраженное, по сравнению с группой электросон-терапии, повышение парасимпатической составляющей, снижение уровня надсегментарных влияний и сопоставимое с группой контроля увеличение симпатической составляющей. Об этом говорит отсутствие достоверной разницы в величине показателя %LF между 1-й и 3-й группами. У пациентов, получавших лечение электросон-терапией и соляными ваннами, было установлено снижение симпатической составляющей ВРС, повышение парасимпатической составляющей и снижение уровня надсегментарных влияний. Выявленные нами закономерности сочетанного применения трансцеребральной импульсной электротерапии и хлоридно-натриевых ванн у пациентов с АГ свидетельствуют о более благоприятном, кратковременном влиянии данных видов физиолечения на нейрогуморальные и метаболические звенья регуляции АД [6, 18],

Комбинированное немедикаментозное лечение предполагает меньшую интенсивность воздействия, что уменьшает нагрузку на организм больного и повышает переносимость процедур, снижает вероятность возникновения побочных реакций у пациента [14], но, однако, требует дальнейшего динамического наблюдения.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты проведенной работы показали эффективность включения в схему лечения больных артериальной гипертензией как трансцеребральной импульсной электротерапии, так и хлоридно-натриевых ванн, а особенно их сочетанного применения. Гипотензивный эффект в последнем случае был достигнут у 93,3 % больных по сравнению с изолированным применением данных видов лечения и группой пациентов, принимавших только медикаментозную терапию, что было связано с влиянием данных видов лечения на состояние вегетативной нервной системы, с ростом ее парасимпатической активности. Таким образом, показана целесообразность сочетанного применения трансцеребральной импульсной электротерапии и хлоридно-натриевых ванн в комплексном лечении больных артериальной гипертензией.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Абрамович С.Г., Холмогоров Н.А.* Немедикаментозная терапия и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний: современные технологии, оценка качества и эффективности санаторно-курортного лечения. Иркутск, 2008. 144–223.
2. *Баевский Р.М., Кукушкин Ю.А., Марсапов А.В., Романов Е.А.* Методика оценки функционального состояния организма человека // Медицина труда и промышл. экол. 1995. (3). 30–34.
3. *Блинова В.В., Скворцов Ю.И., Мартынова Е.Ю.* Оптимизация диспансерного наблюдения за больными артериальной гипертензией с метаболическими нарушениями // Саратовский науч.-мед. журн. 2010. 6. (2). 325–328.
4. *Боголюбов В.М., Пономаренко Г.Н.* Общая физиотерапия. М.: Медицина, 1999. 61–66, 345–349.
5. *Илларионов В.Е., Симоненко В.Б.* Современные методы физиотерапии. М.: Медицина, 2007. 11–25.
6. *Маллиани А.* Физиологическая интерпретация спектральных компонентов variability сердечного ритма // Вестн. аритмол. 1998. (9). 47–56.
7. *Михайлов В.М.* Variability ритма сердца: опыт практического применения метода. Иваново, 2002. 136–151.
8. *Мультиановский Б.Л., Лецинский Л.А., Кузелин Ю.Л.* Влияние артериальной гипертензии на частотные показатели variability сердечного ритма по данным суточного мониторирования электрокардиограммы // Вестн. аритмол. 2005. (4). 39–44.
9. *Пономаренко Г.Н.* Принципы доказательной медицины в физиотерапии // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физ. культуры. 2008. (2). 46–52.
10. *Пономаренко Г.Н.* Физиотерапия больных гипертонической болезнью // Физиотерапевт. 2008. (6). 33–42.
11. Российские рекомендации (четвертый пересмотр). Секция артериальной гипертонии ВНОК. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. М., 2010.
12. *Рябыкина Г.В., Соболев А.В.* Variability ритма сердца. М.: Оверлей, 2001 36–48.
13. *Улащик В.С.* О новых направлениях использования лечебных физических факторов // Физиотерапевт. 2010. (3). 12 – 22.
14. *Улащик В.С.* Общие принципы лечебно-профилактического использования физических факторов // Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физ. культуры. 1992. (5). 9–10.
15. *Улащик В.С., Лукомский И.В.* Общая физиотерапия. Минск: Книжный Дом, 2008. 34–49.
16. *Хаспекова Н.Б.* Диагностическая информативность мониторирования variability ритма сердца // Вестн. аритмол. 2003. (32). 15–27.
17. *Derad J., Otterbein A., Molle M. et al.* The angiotensin converting enzyme inhibitors fosinopril and enalapril differ in their central nervous effects in humans // J. Hypertens. 2006. 5. (11). 1309–1315.
18. *Noda A., Yasuma F., Okada T., Yokota M.* Circadian rhythm of autonomic activity in patients with obstructive sleep apnea syndrome // Clin. Cardiol. 1998. 21. (4). 271–276.

## COMBINED EFFECT OF TRANS-CEREBRAL IMPULSE ELECTROTHERAPY AND SODIUM CHLORIDE BATH ON HEART RATE VARIABILITY IN HYPERTENSIVE PATIENTS

Elena Nikolaevna MARKOVA, Yuriy Alekseevich NIKOLAEV, Igor` Mikhaylovich MITROFANOV

*Scientific Center of Clinical and Experimental Medicine of SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

---

It has been shown that the target blood pressure was achieved in 70 % of cases in patients with arterial hypertension (AH) who received only basic pharmacological antihypertensive treatment. The hypotensive effect was achieved in 83.3 % of cases in patients who received sessions of trans-cerebral impulse electrotherapy in addition to the basic antihypertensive therapy. Blood pressure decreased in 76.6 % of cases in patients who received sodium chloride baths in addition to the basic therapy sessions. The hypotensive effect was achieved in 93.3 % of cases in patients with the combined use of trans-cerebral impulse electrotherapy and sodium chloride baths and the significant decrease in both systolic and diastolic blood pressure was revealed in comparison with the patients underwent only the antihypertensive medication. The results of the study showed higher efficacy of combined use of trans-cerebral impulse electrotherapy and sodium chloride baths inclusion in the treatment scheme of patients with hypertension, which was connected with the influence of these treatments on the vegetative nervous system state, the growth of its parasympathetic activity. The results testify to expediency of these treatments inclusion into the complex therapy of patients with AH.

---

**Key words:** hypertension, vegetative nervous system, electrosleep, sodium chloride baths.

*Markova E.N. – physiotherapist*

*Nikolaev Yu.A. – doctor of medical sciences, deputy director on clinical and scientific work, head of laboratory for somatic diseases pathogenesis, chief researcher*

*Mitrofanov I.M. – doctor of medical sciences, leading researcher of laboratory for somatic diseases pathogenesis*

## СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЙ ОТВЕТ ЛИМФОУЗЛА НА ОЗОНАПЛИКАЦИЮ В РАЗНЫЕ ВОЗРАСТНЫЕ ПЕРИОДЫ

Ольга Владимировна ГОРЧАКОВА<sup>1</sup>, Владимир Николаевич ГОРЧАКОВ<sup>1,2</sup>

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

<sup>2</sup> Новосибирский государственный университет  
630090, г. Новосибирск, ул. Пирогова, 2

В работе представлена морфофункциональная характеристика лимфатического узла при проведении озонотерапии на разных этапах онтогенеза. С возрастом усиливаются признаки старения лимфоидной ткани – склероз, изменения цитологии и площади структурно-функциональных зон лимфатического узла, ответственных за дренаж и иммунитет. При озонапликации модулируется структурно-иммунный ответ зон лимфатического узла с оптимизацией его синусной системы. Это обосновывает целесообразность применения озонотерапии для повышения иммунной и дренажной функций лимфатического узла в позднем периоде онтогенеза.

**Ключевые слова:** лимфатический узел, онтогенез, геронтология, озонотерапия.

Геронтология добилась значительных успехов, благодаря новейшим достижениям биологии и медицины, в замедлении процессов старения, профилактике болезней старости и расширении возрастного диапазона активной творческой жизни человека [2, 5, 8, 19]. Тем не менее возрастзависимые заболевания показывают неуклонные тенденции к росту. Патогенетически с этим связана лимфатическая система, изменения которой нарушают процессы детоксикации в лимфатическом регионе из-за развития склеротических процессов в органах и тканях [5, 6, 9, 13, 16, 17]. Поэтому выявление возрастных изменений в регионарном лимфатическом узле важно для понимания патогенеза и саногенеза и поиска эффективных средств, повышающих дренажно-детоксикационную и иммунную функции лимфоузлов на фоне возрастных изменений [2, 8]. В настоящее время все более настойчиво проявляется интерес к немедикаментозным методам лечения, которые могут воздействовать на различные стороны возрастзависимой патологии, способствовать регуляции нарушенного гомеостаза, улучшать функциональное состояние различных органов и систем, активизировать защитные силы организма [15].

Одним из таких методов является лечебное применение озона. Озонотерапия остается приоритетным направлением научных исследований и по праву считается медициной XXI века [22]. Достаточно эффективно озонотерапия применяется в различных областях медицины, и доказано, что озон оказывает комплексное, интегральное воздействие на организм человека [11, 12, 22, 23, 25]. Широкий перечень лечебных влияний медицинского озона, в совокупности с простотой методик, делает его привлекательным для широкого внедрения. Но за пределами остается лимфатическая составляющая механизма действия озонотерапии. Имеется насущная необходимость в научном обосновании целесообразности озонотерапии в коррекции возрастных изменений лимфоидной и лимфатической систем. Результат имеет практическое значение для оптимизации реабилитации на разных этапах онтогенеза, что и обуславливает актуальность исследования.

Цель настоящего исследования – выявить особенности морфофункциональной организации лимфатического узла при формировании ответной реакции на локальную озонотерапию в разные возрастные периоды.

*Горчакова О.В.* – к.м.н., сотрудник лаборатории функциональной морфологии лимфатической системы, e-mail: gorchak@soramn.ru

*Горчаков В.Н.* – д.м.н., проф., зав. лабораторией функциональной морфологии лимфатической системы, проф. кафедры фундаментальной медицины, заслуженный деятель науки РФ, e-mail: gorchak@soramn.ru

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперимент проведен на 160 белых крысах-самцах Wistar разного возраста (молодые – 3–5 месяцев и старые – 12–15 месяцев) с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, а также в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985), приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003. Животные получали при свободном доступе к воде стандартную диету, которая включала экструдированный комбикорм ПК-120-1.

В эксперименте осуществляли озонапликацию на область лимфосбора паховых лимфатических узлов посредством нанесения озонированного оливкового масла по 15–20 минут через день, на курс 14 процедур. Насыщение оливкового масла озоном производили аппаратом ОП1-М с устройством для озонирования. Лимфотропная терапия путем аппликаций дает положительные результаты при отсутствии побочных явлений [3], что является основанием для ее использования в медицине.

Изучение осуществляли в соответствии с требованиями к гистологическому исследованию лимфоузлов [1, 4, 7]. Забранные кусочки регионарного лимфоузла фиксировали в 10% нейтральном формалине. Далее следовала классическая схема проводки и заливки материала в парафин с последующим приготовлением гистологических срезов и их окрашиванием гематоксилином

и эозином, азуром и эозином, толуидиновым синим. Морфометрический анализ осуществляли с помощью морфометрической сетки [1], которую накладывали на срез лимфоузла. Подсчитывали пересечения сетки, приходящиеся на весь срез лимфоузла в целом и отдельно на каждую его структуру – капсулу, корковое плато, лимфоидные узелки, паракортекс, мякотные тяжи и синусы, с перерасчетом в проценты [1, 24]. При цитоанализе лимфатических узлов подсчитывали число клеток на стандартной площади 1600 мкм<sup>2</sup> с их дифференцировкой на бласты, средние и малые лимфоциты, плазмоциты, макрофаги и другие [4].

Полученные данные подвергали статистической обработке с определением среднего арифметического значения ( $M$ ) и ошибки среднего арифметического ( $m$ ), представляя результаты в виде  $m \pm M$ . Различия между группами оценивали с помощью критерия Стьюдента, статистически значимыми считались результаты при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Озонапликация на территории лимфосбора пахового лимфатического узла вызывает определенные изменения со стороны структурно-функциональных зон в зависимости от возраста животного (табл. 1).

У молодых животных на стороне озонапликации в лимфатическом узле отмечено статистически значимое увеличение площади коркового плато (в 1,3 раза), синусной системы (в 1,25 раза)

Таблица 1

Площади структурно-функциональных зон лимфатического узла в разные возрастные периоды и после озонапликации, %

Структура лимфатического узла	Молодые животные (3–4 мес.)		Старые животные (12–15 мес.)	
	Без коррекции	Озонапликация	Без коррекции	Озонапликация
Капсула	1,16 ± 0,09	0,98 ± 0,08	1,62 ± 0,07°	1,79 ± 0,10°
Субкапсулярный синус	0,57 ± 0,07	0,56 ± 0,06	0,41 ± 0,04	0,49 ± 0,03
Корковое плато	1,20 ± 0,09	1,53 ± 0,08*	1,90 ± 0,08°	1,12 ± 0,08*°
Лимфоидные узелки без герминативного центра	1,16 ± 0,06	1,25 ± 0,06	1,24 ± 0,08	1,35 ± 0,06
Лимфоидные узелки с герминативным центром	1,61 ± 0,17	1,58 ± 0,17	1,37 ± 0,12°	1,21 ± 0,08
Паракортекс	7,14 ± 0,67	5,92 ± 0,53*	8,94 ± 0,49	5,77 ± 0,38*
Мозговые тяжи	5,20 ± 0,32	4,11 ± 0,27*	5,02 ± 0,34	4,88 ± 0,25
Мозговой синус	1,30 ± 0,12	1,63 ± 0,10*	2,94 ± 0,20°	1,59 ± 0,17*
Общая площадь	19,35 ± 1,03	17,55 ± 1,11	23,44 ± 1,35	18,2 ± 0,68*

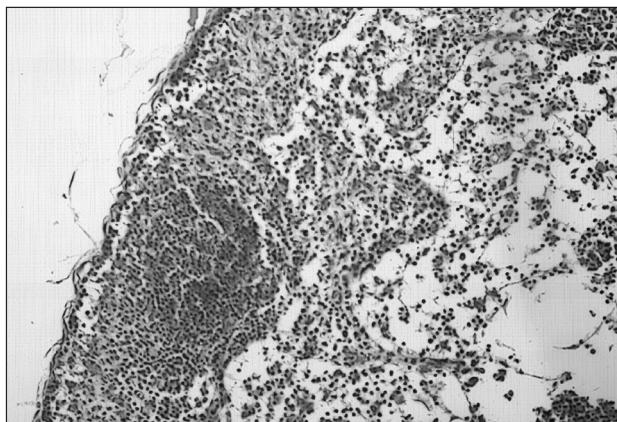
Примечание. Здесь и в табл. 2 обозначены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) отличия от величин соответствующих показателей: \* – животных без озонапликации, ° – молодых животных.

на фоне уменьшения площади мозговых тяжей (в 1,26 раза), паракортекса (в 1,2 раза) (см. табл. 1, рис. 1). У молодых животных размер лимфоидных узелков не изменился после озонапликации. Трансдермальный эффект озонапликации реализуется в изменении мозгового вещества лимфоузла, усиливая лимфодренаж на фоне сохранения высокого уровня лимфопролиферативных процессов у молодых животных.

У молодых животных озонапликация изменяет число лимфоидных клеток в популяции применительно к структурно-функциональным зонам лимфоузла. Сравнительный анализ клеточного состава лимфоузлов молодых животных после озонапликации и без нее показал статистически значимое увеличение в 1,33 раза содержания средних лимфоцитов на единицу площади в лимфоидных узелках, статистически значимое уменьшение в 1,3–1,4 раза количества лимфобластов, средних лимфоцитов на единицу площади в паракортексе, статистически значимое возрастание числа плазмобластов (в 1,46 раза), зрелых плазмочитов (в 1,7 раза), ретикулярных клеток (в 1,42 раза) и снижение в 1,67 раза количества макрофагов в мягкотных тяжах, статистически значимое увеличение в 1,5 раза содержания малых лимфоцитов в мозговом синусе (табл. 2). В отношении остальных клеток статистически значимых изменений не выявлено.

Колебание количества клеток на единицу площади в функционально активных зонах лимфатического узла может быть связано с процессами миграции лимфоцитов в органы и ткани в результате озонотерапии. Имеет место прямая зависимость между насыщенностью лимфоцитами структурно-функциональных зон лимфоузла и интенсивностью иммунного ответа [4]. Озонапликация приводит к увеличению числа плазмобластов и плазмочитов в мягкотных тяжах лимфатического узла, что свидетельствует о преобладании иммунного ответа по гуморальному типу у молодых животных.

Лимфатические узлы являются частью лимфатического русла [14], и с возрастом изменение лимфотока связано с прогрессирующим снижением капилляризации тканей [6, 16, 17] и структурной реорганизацией лимфоузла [8, 13], что представляет собой естественный адаптационно-регуляторный процесс. Невозможно изолированно рассматривать возрастную эволюцию и старение лимфатической системы, которые наглядно проявляются в структуре лимфатического узла. На этапе позднего онтогенеза последняя изменяется из-за нарушенного динамического равновесия между регионом лимфосбора и лимфатическим



**Рис. 1.** Кортиксовое плато с лимфоидным узелком. Расширенная синусовая система лимфатического узла. Молодые животные. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ок. 7, об. 10

узлом [8, 16]; с возрастом происходит утолщение капсулы, развитие соединительной ткани вокруг сосудов, синусов, в лимфоидной паренхиме. Обобщая процессы старения лимфоузлов, нужно отметить, что с возрастом происходит инволюция лимфоидной ткани, которая замещается в большей или меньшей степени соединительной или жировой тканью [5, 8, 13]. Наряду с этим отмечена локализация субкапсулярного склероза параллельно краевому синусу в периферической коре (рис. 2), что является отягощающим моментом возрастных изменений, когда нарушаются структура лимфоидной дольки и пассаж лимфы через лимфоузел. Степень склероза в лимфоузле и его проявления очень важны для прогноза [6, 13].

Одновременно наблюдается компактизация лимфатического узла геронтов с изменением площади структурно-функциональных зон лимфатического узла, ответственных за клеточный и гуморальный иммунитет (см. табл. 1). Увеличивается в 1,6 раза площадь, занимаемая корковым плато, в лимфатическом узле геронтов в сравнении с молодыми животными. Происходит уменьшение площади лимфоидных узелков, особенно содержащих герминативные центры, что указывает на снижение пролиферативных процессов в лимфатическом узле с возрастом. Паракортекс может сохранять свои размеры при компактном расположении лимфоидных клеток по периферии или в виде отдельных полос, но его структура местами обеднена клетками. Аналогичная реакция так называемого «клеточного опустошения» без признаков распада лимфоцитов имеет место в лимфоидных органах при разных патогенных воздействиях [20, 21]. При этом формируется недостаточность клеточного звена иммунитета лимфатического узла геронтов. Мозговые синусы

Таблица 2

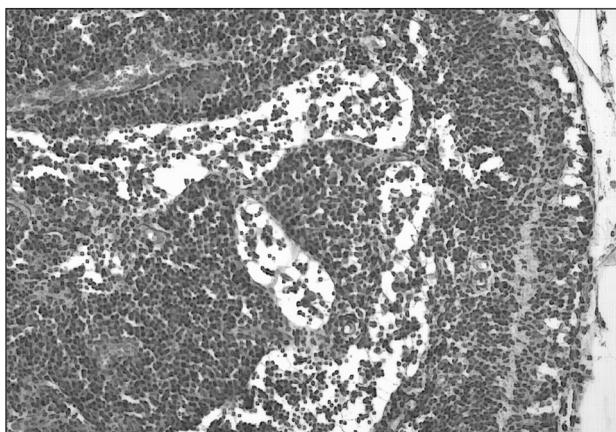
Количественная характеристика клеток на единицу площади структурно-функциональных зон лимфатического узла молодых и старых животных в условиях озонапликации

Клетки	Молодые животные (3–5 мес.)		Старые животные (12–15 мес.)	
	Без коррекции	Озонапликация	Без коррекции	Озонапликация
Лимфоидные узелки с герминативным центром				
Лимфобласты	3,70 ± 0,24	4,0 ± 0,12	2,97 ± 0,13	5,17 ± 0,47*
Средние лимфоциты	3,0 ± 0,12	4,0 ± 0,12*	5,0 ± 0,24°	7,0 ± 0,48*°
Малые лимфоциты	11,82 ± 0,24	11,75 ± 0,28	8,13 ± 0,35°	15,67 ± 0,88*°
Макрофаги	2,60 ± 0,24	3,50 ± 0,30	2,83 ± 0,30	4,0 ± 0,23*
Мозговые тяжи				
Плазмобласты	3,60 ± 0,12	5,25 ± 0,11*	3,67 ± 0,11	3,33 ± 0,29°
Зрелые плазмциты	3,81 ± 0,12	6,71 ± 0,24*	2,40 ± 0,41°	4,83 ± 0,38*°
Малые лимфоциты	4,60 ± 0,24	4,00 ± 0,12	5,50 ± 0,35	8,67 ± 0,83*°
Средние лимфоциты	3,0 ± 0,12	2,0 ± 0,11*	2,83 ± 0,30	3,83 ± 0,30°
Макрофаги	5,0 ± 0,13	3,0 ± 0,12*	3,67 ± 0,30°	2,83 ± 0,29*
Ретикулярные клетки	1,23 ± 0,11	1,75 ± 0,12	1,50 ± 0,13	1,67 ± 0,24
Эозинофильные гранулоциты	0,67 ± 0,09	0,75 ± 0,06	1,40 ± 0,11°	0,50 ± 0,07*
Паракортекс				
Бласты	5,20 ± 0,18	4,0 ± 0,24*	5,17 ± 0,30	5,67 ± 0,24°
Средние лимфоциты	4,80 ± 0,29	3,50 ± 0,18*	3,12 ± 0,30°	6,33 ± 0,24*°
Малые лимфоциты	12,0 ± 0,47	11,0 ± 0,43	8,01 ± 0,30°	7,50 ± 0,45*°
Ретикулярные клетки	1,80 ± 0,24	2,50 ± 0,48	1,67 ± 0,08	1,33 ± 0,13
Плазмциты	1,40 ± 0,12	1,21 ± 0,13	2,67 ± 0,13°	3,83 ± 0,12*°
Макрофаги	5,0 ± 0,83	4,75 ± 0,36	1,01 ± 0,30°	1,17 ± 0,12°
Эозинофильные гранулоциты	0,49 ± 0,06	0,50 ± 0,12	0,50 ± 0,12	0,50 ± 0,08
Мозговой синус				
Малые лимфоциты	4,0 ± 0,27	6,10 ± 0,73*	7,01 ± 0,41°	8,83 ± 0,65°
Макрофаги	3,0 ± 0,13	3,75 ± 0,24	4,33 ± 0,30°	1,83 ± 0,12*°
Ретикулярные клетки	1,80 ± 0,12	1,25 ± 0,12*	2,33 ± 0,08	3,00 ± 0,13*°
Плазмциты	3,80 ± 0,30	4,0 ± 0,60	3,00 ± 0,13	4,33 ± 0,12*
Эозинофильные гранулоциты	0,40 ± 0,06	0,50 ± 0,07	0,67 ± 0,12	0,33 ± 0,08°

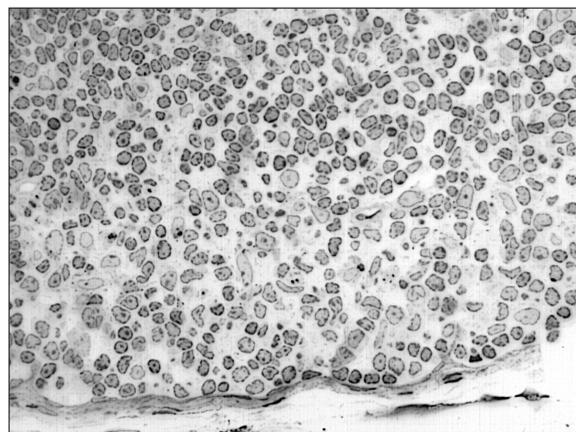
лимфатических узлов геронтов выглядели широкими образованиями, пронизывающими всю ткань узла (рис. 2), их размер был увеличен в 2,3 раза (см. табл. 1). Данные изменения указывают на развитие диспропорции между притоком в лимфатический узел и оттоком лимфы из него. При этом скорость заполнения афферентного лимфатического русла и лимфоузла зависит от его морфотипа [9, 14], определяемого соотношением коркового и мозгового вещества, и структурной целостности лимфоидной дольки [8]. Именно сохранность лимфоидной дольки определяет функциональную стабильность лимфоузла, значимую в позднем онтогенезе и необходимую для выполнения дренажно-детоксикационной функции. Лимфатический узел испытывает состояние функциональной напряженности при наличии морфологических эквивалентов компенсации при старении.

Профилактика возрастных изменений лимфоидной и лимфатической систем с повышением ее функциональной активности может быть достигнута применением озонотерапии. Трансдермальный эффект озонапликации вносит свой вклад в изменение структурно-функциональных зон лимфатического узла на этапе позднего онтогенеза. Так, у старых животных на стороне озонапликации в лимфатическом узле отмечено статистически достоверное уменьшение площадей коркового плато (в 1,7 раза), паракортекса (в 1,5 раза), мозгового синуса (в 1,8 раза) на фоне усиления пролиферативной активности клеток структурно-функциональных зон (см. табл. 1, 2).

В корковом веществе лимфоидные клетки распределяются равномерно после озонотерапии, возрастает гетерогенность их популяции (рис. 3). Сравнительный анализ клеточного состава лимфоузлов у старых животных после озонапликации



**Рис. 2.** Элементы субкапсулярного склероза в корковом плато, расширенные синусы лимфатического узла. Старые животные. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. ок. 7, об. 10



**Рис. 3.** Усиление гетерогенности популяции лимфоидных клеток в корковом веществе лимфатического узла. Озонотерапия. Старые животные. Окраска толуидиновым синим. Ув. ок. 7, об. 20

ции и без нее показал статистически значимое увеличение в лимфоидных узелках содержания лимфобластов (в 2,5 раза), малых и средних лимфоцитов, макрофагов (в 1,3–1,4 раза), статистически значимое повышение в паракортексе числа средних лимфоцитов (в 2 раза), малых лимфоцитов (в 1,5 раза), макрофагов (в 1,43 раза), статистически значимое увеличение в мягкотных тяжах количества зрелых плазмоцитов (в 2 раза), малых лимфоцитов (в 1,58 раза), малых лимфоцитов (в 1,35 раза), статистически значимое возрастание в мозговом синусе числа малых лимфоцитов (в 1,26 раза) и плазмоцитов (в 1,44 раза), уменьшение содержания макрофагов (в 2,37 раза) и эозинофильных гранулоцитов (в 2 раза) на единицу площади (см. табл. 2). В отношении остальных клеток статистически значимых изменений не выявлено.

Возможно, что изменение плотности расположения клеток на единицу площади отражает как изменение площади структурно-функциональных зон, так и направленный процесс миграции лимфоидных клеток внутрь лимфатического узла и увеличение данного показателя для паракортикальной зоны, мозговых тяжей в результате озонотерапии (см. табл. 2). Увеличение плотности клеточных элементов в структурно-функциональных зонах после озонотерапии свидетельствует о формировании иммунного ответа по смешанному типу. Применение регионарной озонапликации обеспечивает активное лимфообразование и лимфоток по направлению к регионарному лимфатическому узлу [8, 10, 11]. Озонотерапия повышает иммунный потенциал лимфатического узла и ослабляет проявления возрастных изменений в лимфатическом узле на позднем этапе онтогенеза.

Отличительной особенностью реализации эффекта озонапликации в зависимости от возраста является увеличение площади коркового плато при сохраненном высоком значении площади лимфоидных узелков и активном лимфопозе у молодых животных и уменьшение площади коркового плато, паракортекса и лимфоидных узелков у старых животных (см. табл. 1, 2). При этом большинство структурно-функциональных зон паховых лимфатических узлов изменяются одинаково как молодых, так и старых животных в ответ на озонапликацию (см. табл. 1). В результате озонапликации происходит оптимизация синусной системы лимфатического узла, которая уменьшается в 1,8 раза по сравнению с избыточно расширенной синусной системой старых животных. Это важно для выполнения дренажно-детоксикационной функции лимфатического узла. Характер изменения площади коркового плато у молодых и старых животных предполагает модулирующее действие озонапликации, т.е. наблюдается уменьшение высоких показателей и увеличение низких показателей площади структурно-функциональных зон лимфатического узла. У геронтов такая закономерность сохраняется для большинства структурно-функциональных зон лимфатического узла после озонапликации (см. табл. 1).

Применение озонапликации вызывает разные по степени количественные и качественные изменения цитологического профиля структурно-функциональных зон лимфатического узла в зависимости от возрастной категории животного. Обращает на себя внимание то, что в ответ на озонапликацию число лимфоидных клеток у старых животных изменяется более выражено, чем у молодых. Во время исследования отмечена

разница в направленности изменений клеточно-го состава структурно-функциональных зон у молодых и старых животных после озонапликации (см. табл. 2). У геронтов по сравнению с молодыми животными наблюдается в лимфоидных узелках больше клеток на единицу площади, в мягкотных тяжах меньше бластов, плазмочитов и больше малых и средних лимфоцитов, в паракортексе больше бластов, средних лимфоцитов, плазмочитов и меньше малых лимфоцитов и макрофагов, в мозговом синусе больше малых лимфоцитов, ретикулярных клеток и меньше макрофагов и эозинофильных гранулоцитов. Полученные данные указывают на влияние озона (озонидов) на клеточный и гуморальный иммунитет, подтверждая его иммуностимулирующее действие [10–12, 18, 20, 22, 23, 25]. Наиболее демонстративно это проявляется у старых животных.

Применением озонапликации достигается двухуровневое воздействие на лимфатическую систему (тканевое звено лимфатического русла и лимфатический узел), что позволяет рассматривать ее как лимфотропную технологию коррекции изменений, вызванных старением. Региональная лимфотропная озонапликация позволяет обеспечить направленный транспорт озона (озонидов) в ткани органа-мишени [10, 18], тем самым вызвать структурно-клеточную реорганизацию лимфатического узла для повышения его дренажно-детоксикационной и иммунной функций на этапе позднего онтогенеза.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Структурно-клеточная характеристика лимфатического узла зависит от возраста и отражает общий процесс старения, касаясь в основном соединительнотканного компонента органа на фоне сниженного лимфопоэза. Для прогноза его функции важна локализация склеротического процесса. Озонапликация на территории лимфосбора пахового лимфатического узла сопровождается изменениями со стороны структурно-функциональных зон в зависимости от возраста животного. Озонотерапия вызывает разный по интенсивности структурный ответ лимфатического узла, предполагая модулирующее действие, на разных этапах онтогенеза. При этом достигается оптимизация синусной системы и увеличение клеточной плотности в структурно-функциональных зонах лимфатического узла старых животных. Озонапликация усиливает иммунный потенциал и дренажную функцию лимфатического узла. Это определяет целесообразность применения озонотерапии в программах эндозекологической реабилитации и антистарения.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов Г.Г. Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 384 с.
2. Альтман Д.Ш., Теплова С.Н., Кочеткова Н.Г. и др. Темпы старения и показатели иммунного статуса у участников современных войн // Геронтология и гериатрия. 2003. (2). 195–196.
3. Арефьева И.С., Байбаков А.В. Эффективная терапия заболеваний, передающихся преимущественно половым путем в амбулаторных условиях // Эндозекологическая медицина: мат. III Международ. конгр. М.: Щербинская типография, 2007. 29–30.
4. Белянин В.Л., Цыплаков Д.Э. Диагностика реактивных гиперплазий лимфатических узлов. СПб; Казань, 1999. 328 с.
5. Бородин Ю.И. Лимфатическая система и старение // Фундаментальные исследования. 2011. (5). 11–15.
6. Бураева З.С., Круглова И.С., Кодина Т.В., Гаврилова А.В. Лимфатическая система связочного аппарата матки в возрастном аспекте // Вестн. лимфол. 2009. (2). 18–21.
7. Горчаков В.Н. Морфологические методы исследования сосудистого русла. Новосибирск: СО РАМН, 1997. 440 с.
8. Горчакова О.В., Горчаков В.Н. Структурно-жидкостная характеристика лимфоузла в разные возрастные периоды и в условиях озон- и фитотерапии // Фундаментальные исследования. 2013. (6, часть 3). 591–595.
9. Коненков В.И., Бородин Ю.И., Любарский М.С. Лимфология. Новосибирск: Манускрипт, 2012. 1179 с.
10. Костина О.В. Состояние про- и антиоксидантной систем организма при ожогах в условиях воздействия озоном и биосканом С: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Н. Новгород, 2001.
11. Куликов А.Г. Озонотерапия: микрогемодинамические эффекты // Физиотерапия, бальнеология и реабилитация. 2012. (3). 3–8.
12. Левин Ю.М. Прорыв в эндозекологическую медицину. Новый уровень врачебного мышления и эффективной терапии. М.: Щербинская типография, 2006. 200 с.
13. Павлюк Е.Г. Патогенез изменений в паховых лимфатических узлах при различных хронических циркуляторных нарушениях нижних конечностей // Вестник НГУ. 2005. 3. (1). 65–67.
14. Петренко В.М. Структурные основы активного лимфотока в лимфатическом узле // Актуальные проблемы современной морфологии. СПб.: ДЕАН, 2008. 24–90.
15. Светухин А.М., Амирасланов Ю.А., Земляной А.Б. и др. Особенности нарушений системы гемокоагуляции и их коррекция у больных с гнойно-

некротическими формами синдрома диабетической стопы // Хирургия. 2006. (10). 30–34.

16. Сененко А.Ш. Возрастные изменения скорости лимфатического дренажа // Геронтология и гериатрия. 2003. (2). 95.

17. Топорова С.Г. Особенности системы око-локлеточного гуморального транспорта при старении // Геронтология и гериатрия. 2003. (2). 90–94.

18. Щербатюк Т.Г. Свободнорадикальные процессы и их коррекция у животных с экспериментальными опухолями: автореф. дис. ... докт. биол. наук. Н. Новгород, 2003.

19. Crimmins E.M. Beltran-Sanchez H. Mortality and morbidity trends: is there compression of morbidity? // J. Gerontol. B. Psychol. Sci. Soc. Sci. 2011. 66. (1). 75–86.

20. Dencla W.D. Interactions between age and neuroendocrine and immune system // Exp. Pathol. 1979. 17. 538–545.

21. Isaacson P.G. Normal structure and function of lymph nodes // Oxford Textbook of Pathology. Eds. J.O'D. McGee, P.G. Isaacson, N.A. Wright. Oxford: Oxford Univ. Press, 1992. 1745–1756.

22. Richelmi P., Franzini M., Valdenassi L. Ossigeno-ozonoterapia. Pavia; Bergamo, 1995. 80 p.

23. Rilling S., Viebahn R. The use of ozone in medicine. N.Y.: Haug, 1987. 169 p.

24. Rogers L.F. Magnetic resonance images of reactive lymphadenitis // Lymphology. 2006. 39. 53–54.

25. Sunnen G.V. Ozone in medicine // Ozone in medicine: proc. Ninth World Congress on Ozon. N.Y., 1989. 3. 1–16.

## **STRUCTURAL AND FUNCTIONAL RESPONSE OF LYMPH NODE TO OZONEAPPLICATION DURING THE DIFFERENT AGE PERIODS**

**Olga Vladimirovna GORCHAKOVA<sup>1</sup>, Vladimir Nikolaevich GORCHAKOV<sup>1,2</sup>**

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

<sup>2</sup> *Novosibirsk State University 630090, Novosibirsk, Pirogov str., 2*

---

The morphofunctional characteristic of a lymph node after ozonecorrection at different stages of ontogenesis has been presented. The ageing signs of lymphoid tissue are intensified with age – sclerosis, changes in cytology and the area of structural and functional zones of the lymph node responsible for drainage and immunity. The structural-immune answer of zones of the lymph node is modulated with its sinus system optimization after ozoneapplication. It proves the expediency of ozoneapplication for increase of immune and drainage functions of the lymph node in the late period of ontogenesis.

---

**Key words:** lymph node, ontogenesis, gerontology, ozonotherapy.

**Gorchakova O.V.** – candidate of medical sciences, researcher of the laboratory of functional morphology of lymphatic system; e-mail: gorchak@soramn.ru

**Gorchakov V.N.** – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of functional morphology of lymphatic system; professor of the chair of fundamental medicine, the honored worker of science of the RF, e-mail: gorchak@soramn.ru

## ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРЕДУПРЕЖДАЮЩЕЙ АНАЛГЕЗИИ ПРИ ЭКСТРЕННЫХ ОПЕРАЦИЯХ НА ОРГАНАХ БРЮШНОЙ ПОЛОСТИ У ДЕТЕЙ

Альберт Валерьевич СТЕПАНОВ<sup>1</sup>, Александр Анатольевич СМАГИН<sup>1</sup>,  
Виталий Валерьевич МОРОЗОВ<sup>2</sup>

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

<sup>2</sup> ФГБУН Институт химической биологии и фундаментальной медицины СО РАН  
630090, г. Новосибирск, пр. Академика Лаврентьева, 8

Проблема эффективности послеоперационной аналгезии остается актуальной, особенно у детей. Обезболивание у детей часто неадекватно. С целью повышения эффективности купирования острого болевого синдрома после экстренных лапароскопических операций у детей была оптимизирована схема антиноцицептивной терапии с использованием жидкой формы парацетамола. Выполнен анализ результатов применения внутривенной формы парацетамола у 64 детей с острой хирургической патологией органов брюшной полости, которым выполнены экстренные лапароскопические вмешательства. Доказан высокий антиноцицептивный эффект предложенной схемы предупреждающей аналгезии. Премедикация у детей парацетамолом не оказывает угнетающего действия на функции центральной нервной системы, не требует изменения стандартной схемы анестезии при лапароскопии, не приводит к продлению депрессивного влияния анестетиков на функцию ЦНС, что подтверждается результатами мониторинга электрической активности коры головного мозга (BIS). Получены свидетельства о положительном влиянии назначения парацетамола на течение операционного стресса. Схема предупреждающей аналгезии с использованием жидкой формы парацетамола может быть рекомендована к широкому применению в экстренной хирургии.

**Ключевые слова:** лапароскопия, экстренная операция, парацетамол, послеоперационное обезболивание, цитокины, кортизол, BIS-мониторирование.

Послеоперационная аналгезия является одним из важнейших компонентов в системе общей интенсивной терапии хирургического больного, создающих условия комфортности пациентам. Развитие болевого синдрома в течение первых 4–5 часов после операции служит прогностически неблагоприятным фактором в плане формирования хронического болевого синдрома. При этом чем выше интенсивность острой послеоперационной боли, тем выше вероятность ее хронизации [3]. Одним из направлений совершенствования антиноцицептивной защиты стала так называемая предупреждающая (преэмптивная) аналгезия, основой которой является начало применения средств системной и/или регионарной анестезии и аналгезии перед нанесением хирургической травмы тканей с целью уменьшения ее активирующего воздействия на ноцицептивную систему [1, 4]. Несомненно, проблема эффективности послеоперационной аналгезии не может

рассматриваться в отрыве от проблемы ее безопасности, особенно если речь идет о пациентах детского возраста. Обезболивание у детей часто неадекватно – им назначают меньше анальгетиков, часто прекращают аналгезию преждевременно, считая, что сильные препараты опасны у детей из-за риска побочных эффектов и привыкания. Серьезной проблемой обезболивания у детей также являются трудности в оценке тяжести боли [5]. Особый интерес для детской анестезиологии представляет недавно вошедший в клиническую практику неопиоидный препарат – парацетамол для внутривенного введения (перфалган). Наличие формы парацетамола для парентерального введения позволяет использовать в системе мультимодальной анестезиологической защиты пациента дополнительные центральные неопиоидные механизмы, присущие только этому анальгетику (ингибирование циклооксигеназы-3, активация серотонинергического торможения боли на спи-

*Степанов А.В.* – аспирант

*Смагин А.А.* – д.м.н., проф., рук. лаборатории лимфодетоксикации

*Морозов В.В.* – д.м.н., проф., старший научный сотрудник, e-mail: doctor.morozov@mail.ru

нальном уровне, снижение продукции оксида азота в ЦНС, уменьшение спинальной гипералгезии, индуцированной N-метил-D-аспаратом и субстанцией P) [2]. Таким образом, парацетамолу присущи важные свойства, связанные с торможением нескольких звеньев процесса спинальной сенситизации и гипералгезии, лежащего в основе развития сильного послеоперационного болевого синдрома в случае недостаточной антиноцицептивной защиты [6].

Цель исследования – повысить эффективность купирования острого болевого синдрома после экстренных лапароскопических операций у детей путем оптимизации схемы антиноцицептивной терапии. Для достижения поставленной цели были сформулированы этапные задачи: патогенетически обосновать схему периоперационного применения внутривенной формы парацетамола при лапароскопических вмешательствах у детей; оценить антиноцицептивный эффект внутривенной формы парацетамола у детей после экстренных лапароскопических операций; изучить динамику неспецифических маркеров хирургического стресса при применении внутривенной формы парацетамола в периоперационном периоде; провести сравнительный анализ течения послеоперационного периода у детей с острой хирургической патологией органов брюшной полости при применении внутривенной формы парацетамола и стандартной схемы послеоперационного обезболивания.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находились 64 пациента детского возраста с острой хирургической патологией органов брюшной полости, средний возраст составил  $11,1 \pm 3,1$  года. Всем пациентам в экстренном порядке было выполнено хирургическое вмешательство в условиях мультимодальной общей анестезии – проводили эндотрахеальный наркоз на основе мидазолама, пропофола, фентанила и севофлюрана согласно принятой в клинике методике. В зависимости от схемы ведения периоперационного периода пациенты были разделены на две группы. Первую (контрольную) группу составили 32 пациента, которым ведение интра- и послеоперационного периода осуществляли по стандартной схеме. В послеоперационном периоде пациентам проводили антибактериальную, инфузионную терапию, обезболивание по стандартной схеме (внутримышечно промедол 0,1–0,2 мг/кг, трамал 1–2 мг/кг). Вторую (основную) группу составили 32 пациента, которым интраоперационно за 40 минут до окончания хирургического вмешательства осуществляли инфузию

раствора парацетамола 15 мг/кг. В послеоперационном периоде пациентам этой группы базисное обезболивание проводили с использованием раствора парацетамола в дозировке 15 мг/кг 2 раза в сутки, при необходимости сочетая его с опиоидами (промедол 0,1–0,2 мг/кг внутримышечно или трамал 1–2 мг/кг внутримышечно) в зависимости от травматичности операции. Максимальная суточная доза перфалгана не превышала 60 мг/кг. Группы исследования были сопоставимы по основным учетным признакам.

Причиной обращения в хирургический стационар у подавляющего большинства пациентов явился острый аппендицит (у 96,9 % детей, которым ведение периоперационного периода осуществляли по стандартной схеме, и у 90,7 % пациентов основной группы). При этом в большинстве случаев (у 53,1 % пациентов контрольной группы и 59,4 % пациентов основной группы) имела место флегмонозная форма, также значительным (34,4 и 21,9 % соответственно) было количество пациентов с гангренозной формой острого аппендицита.

Содержание лейкоцитов и СОЭ определяли общелабораторными методами, лейкоцитарный индекс интоксикации (ЛИИ) рассчитывали по формуле Кальф-Калифа:  $ЛИИ = ((4МЛ + 3Ю + 2П + С) \times (ПЛ + 1)) / ((М + Л) \times (\mathcal{E} + 1))$ , где МЛ – относительное содержание (%) миелоцитов, ПЛ – плазматических клеток, Ю – юных, П – палочкоядерных, С – сегментоядерных, М – моноцитов, Л – лимфоцитов, Э – эозинофилов. Содержание кортизола в сыворотке крови определяли иммунохимическим методом на анализаторе Access (Beckman Coulter Inc., США), цитокинов IL-6, TNF- $\alpha$ , IL-10 – с использованием коммерческих тест-систем производства ООО «Цитокин» (г. Санкт-Петербург) по инструкции производителя на вертикальном фотометре «Униплан» (Россия) при длине волны 450 нм. Оценка интенсивности болевых ощущений проводили с использованием визуальной аналоговой шкалы (ВАШ) – у детей в возрасте от 3 до 12 лет использовали шкалу лиц Oucher, у детей старше 12 лет использовали ВАШ с балльной оценкой ощущений, где 0 баллов – «Нет боли», 10 баллов – «Невыносимая боль». Регистрацию биспектрального индекса проводили с помощью монитора А-2000 XP (Aspect Medical System Inc., США). Нормативные показатели BIS соответствуют: 90–100 – ясному сознанию, 80–90 – легкой седации, 60–80 – глубокой седации, 40–60 – хирургической стадии анестезии.

При выполнении статистической обработки полученных данных применяли стандартные методы вариационной статистики: вычисление

средних величин, стандартных ошибок, 95%-го доверительного интервала; достоверность различий между средними оценивали с помощью критерия *t* Стьюдента; в частотных распределениях показателей в сравниваемых группах – критерия  $\chi^2$ . Данные в таблицах представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  – среднее арифметическое,  $m$  – ошибка среднего. Вероятность справедливости нулевой гипотезы принимали при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обследование детей, оперированных по поводу острой хирургической патологии органов брюшной полости, позволило выявить особенности течения раннего послеоперационного периода на фоне применения внутривенной формы парацетамола. Прежде всего, интраоперационное назначение инфузии перфалгана отразилось на динамике одного из общепринятых биохимических маркеров операционного стресса – содержания кортизола в крови. Его повышение наблюдается у больных перед операцией, во время хирургического вмешательства с достоверным возрастанием к концу операции, при этом степень активации надпочечниковой системы находится в прямой зависимости от травматичности оперативного вмешательства.

Забор крови для определения содержания кортизола осуществляли перед операцией и далее в послеоперационном периоде через 12, 24, 36 и 48 ч после хирургического вмешательства. Нормальным считали содержание кортизола в крови в пределах 3–21 мкг/дл. Согласно полученным данным, колебания уровня кортизола в крови у пациентов обеих групп на всех этапах исследования происходили в пределах референсных значений этого показателя. При этом через 12 ч после хирургического вмешательства концентрация кортизола в крови у пациентов, получавших лечение по стандартной схеме ( $20,12 \pm 1,65$  мкг/дл), достоверно ( $p < 0,05$ ) превысила величину показателя на фоне применения перфалгана ( $13,16 \pm 4,50$  мкг/дл).

Динамика маркеров воспалительной реакции (СОЭ, лейкоцитоз, ЛИИ) у детей, оперированных по поводу острой хирургической патологии органов брюшной полости, также имела свои отличия на фоне назначения внутривенной формы парацетамола. Так, к 7-м суткам послеоперационного периода у детей, леченных по стандартной схеме, сохранялись повышенными содержание лейкоцитов в периферической крови и СОЭ (в 21,9 и 43,8 % случаев соответственно). В группе пациентов, которым интраоперационно и в раннем послеоперационном периоде был назначен пер-

фалган, к 7-м суткам после хирургического вмешательства лейкоцитоз наблюдался лишь в 3,1 % случаев, повышение СОЭ сохранялось у 28,1 % детей. Достоверное снижение ЛИИ мы наблюдали у пациентов второй (основной) группы уже к 1-м суткам после операции.

При предоперационном обследовании достоверных различий в состоянии цитокинового профиля сыворотки крови между группами сравнения не выявлено. Однако через 6 часов после операции на фоне применения внутривенной формы парацетамола концентрация провоспалительных цитокинов в сыворотке крови увеличивалась, хотя и достоверно по сравнению с исходными данными, но менее выражено, чем у пациентов контрольной группы: так, повышение содержания IL-6 и TNF $\alpha$  достигло соответственно 86 и 96 % у пациентов первой группы, в то время как у лиц второй группы – соответственно 20 и 32 %. Напротив, прирост концентрации противовоспалительного IL-10 был в большей степени выражен у пациентов, в периоперационном периоде получавших перфалган (93 %), чем у пациентов контрольной группы (49 %).

По истечении первых суток послеоперационного периода повторное определение уровня цитокинов сыворотки крови позволило выявить, что применение внутривенной формы парацетамола способствовало более выраженному уменьшению концентрации провоспалительных агентов (уровень IL-6 снизился у пациентов основной группы до исходного).

Традиционно период по истечении 48 часов после операции считается тем временным «окном», когда стресс-обусловленное повышение содержания цитокинов в крови должно быть ликвидировано, естественно, при условии неосложненного течения послеоперационного периода. Наше исследование показало, что у пациентов основной группы сывороточный уровень как провоспалительного IL-6, так и противовоспалительного IL-10 через 48 часов после операции был достоверно ниже исходного ( $p < 0,05$ ), что можно объяснить реализацией противовоспалительного эффекта внутривенной формы парацетамола у детей с острой патологией органов брюшной полости (см. таблицу).

Несмотря на отчетливую положительную динамику лабораторных маркеров воспалительного процесса на фоне назначения внутривенной формы парацетамола, динамика температурной реакции в группах исследования существенных различий не имела.

BIS-мониторинг является эффективным средством «обратной связи» для поддержания адекватного уровня анестезиологической защиты.

Таблица

Динамика концентрации цитокинов (пг/мл) в сыворотке крови в группах исследования

Группа пациентов	IL-6	IL-10	TNF $\alpha$
До операции:			
контрольная	9,45 $\pm$ 0,74	17,58 $\pm$ 1,67	8,05 $\pm$ 0,64
основная	10,28 $\pm$ 0,66	16,88 $\pm$ 1,04	7,15 $\pm$ 0,57
Через 6 ч после операции:			
контрольная	17,61 $\pm$ 1,032	26,13 $\pm$ 2,242	15,81 $\pm$ 1,332
основная	12,32 $\pm$ 0,591,2	32,52 $\pm$ 1,981,2	9,44 $\pm$ 0,631,2
Через 24 ч после операции:			
контрольная	14,92 $\pm$ 0,622	28,80 $\pm$ 2,652	13,32 $\pm$ 1,022
основная	9,26 $\pm$ 0,771	25,62 $\pm$ 2,032	11,67 $\pm$ 0,902
Через 48 ч после операции:			
контрольная	9,35 $\pm$ 0,87	16,34 $\pm$ 2,21	14,46 $\pm$ 0,672
основная	5,24 $\pm$ 0,471,2	10,40 $\pm$ 0,821,2	8,01 $\pm$ 0,641

Примечание. Обозначены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) отличия от величин соответствующих показателей: 1 – контрольной группы, 2 – до операции.

При сравнении значений BIS в группе с использованием внутривенной формы парацетамола в состав премедикации (за 40 мин до операции) с данными BIS при применении стандартной схемы анестезиологического пособия на всех этапах операции статистически значимых различий не обнаружено, что позволило сделать вывод об отсутствии углубления анестезии под влиянием парацетамола. Соответственно, не требуется коррекции стандартной схемы анестезии по причине глубокой депрессии функции ЦНС на основном этапе хирургического вмешательства. Также не было выявлено пролонгации депрессивного влияния анестетиков на функцию ЦНС на фоне применения перфалгана в послеоперационном периоде.

Следовательно, включение перфалгана в схему премедикации перед выполнением лапароскопических операций на органах брюшной полости у детей не требует в дальнейшем какой-либо коррекции традиционной схемы анестезии, поскольку, согласно нашим результатам интраоперационного BIS-мониторинга, этот препарат не вызывает углубления депрессивного влияния анестетиков на функцию ЦНС.

Оценка качества послеоперационного обезболивания в группах исследования показала достоверные различия интенсивности болевого синдрома, начиная со 2-х суток послеоперационного периода. К 3-м суткам после хирургического вмешательства только один пациент основной группы предъявлял жалобы на боль (3,1 % наблюдений), тогда как на фоне лечения по стандартной схеме количество пациентов, у которых болевой синдром сохранялся, достигало 53,1 %. Нежела-

тельные явления и побочные реакции на фоне применения внутривенной формы парацетамола мы наблюдали лишь в 3,1 % случаев – у одного пациента в 1-е сутки после операции двукратно возникла рвота. Следует отметить, что лапароскопические операции характеризуются весьма выраженным эметогенным эффектом. Мы полагаем, что адекватный обезболивающий эффект перфалгана и отсутствие у него эметогенных свойств позволяют предотвратить такое неприятное осложнение, как послеоперационная тошнота и рвота, что является важным аспектом хорошей послеоперационной реабилитации после лапароскопических вмешательств у детей.

Ретроспективная оценка качества послеоперационного обезболивания была выполнена на основании данных опросника, заполняемого пациентами или их родителями (для детей дошкольного и младшего школьного возраста) при выписке из стационара. Согласно полученным данным, только 6,3 % детей, которым послеоперационное обезболивание проводили по стандартной схеме, оценили его качество как отличное. В большинстве наблюдений отмечено удовлетворительное (53,1 %) или хорошее (40,6 %) качество послеоперационного обезболивания. Среди пациентов, получавших интраоперационно и в послеоперационном периоде внутривенную форму парацетамола, в большинстве наблюдений (75,0 %) послеоперационное обезболивание оценено как хорошее, отличное качество послеоперационного обезболивания отмечено у 15,6 % пациентов, удовлетворительное – у 9,4 % пациентов. Статистический анализ выявил достоверность различий полученных данных о процентном распределе-

нии той или иной степени удовлетворенности пациентов качеством послеоперационного обезболивания между группами ( $\chi^2 = 45,737$ ;  $p < 0,001$ ).

Таким образом, проведенное исследование и данные литературы указывают на важную роль неопиоидного анальгетика парацетамола в системе мультимодальной защиты пациента от боли в детской хирургической практике. Применение внутривенной формы парацетамола расширяет возможности обеспечения эффективного и безопасного послеоперационного обезболивания у детей при значительном сокращении потребности в дополнительном введении анальгетиков и снижении связанных с этим побочных эффектов, способных осложнить состояние оперированного пациента. За счет высокой безопасности препарата показания к его назначению оперированным пациентам с целью обезболивания более широки, чем у нестероидных противовоспалительных средств.

Еще одной важной особенностью перфалгана мы считаем то, что препарат готов к применению. Особенно это актуально в экстренной анестезиологии, а также при лечении острой послеоперационной боли. Готовая форма экономит время медперсонала, снижает затраты на расходный материал, уменьшает вероятность ошибки дозирования, снижает риск контаминации. Применение перфалгана в схеме интенсивной терапии детей, оперированных по поводу острой хирургической патологии органов брюшной полости, позволяет снизить напряженность хирургического стресса, уменьшить проявления системной воспалительной реакции, достичь более высокой степени удовлетворенности пациентов качеством послеоперационного обезболивания. Следовательно, становятся близкими к своему разрешению основные задачи послеоперационного обезболивания: повышение качества жизни пациентов в послеоперационном периоде, ускорение послеоперационной функциональной реабилитации, снижение частоты послеоперационных осложнений, сокращение пребывания пациентов в клинике.

## ВЫВОДЫ

1. Предложенная схема применения внутривенной формы парацетамола при экстренных лапароскопических вмешательствах у детей является эффективной в силу своей патогенетической ориентации за счет воздействия на различные механизмы и уровни формирования послеоперационного болевого синдрома, что нашло подтверждение в результате оценки динамики купирования послеоперационного болевого синдрома в основной группе исследования (ВАШ, ретро-

спективный анализ удовлетворенности качеством обезболивания).

2. Использование внутривенной формы парацетамола у детей после экстренных лапароскопических операций обеспечивает высокий антиноцицептивный эффект, что проявляется в достоверно более быстром снижении болевых ощущений уже ко вторым суткам, подтверждается отличной оценкой качества обезболивания на основании данных ретроспективного опроса.

3. Премедикация у детей парацетамолом не оказывает депрессивного влияния на функцию ЦНС, не требует коррекции стандартной схемы анестезии, не приводит к пролонгации депрессивного влияния анестетиков на функцию ЦНС в непосредственном послеоперационном периоде, что подтверждается результатами BIS-мониторинга.

4. На фоне периоперационного применения внутривенной формы парацетамола у детей при экстренных лапароскопических операциях достоверно снижается уровень кортизола в крови, быстрее происходит нормализация стрессобусловленного повышенного содержания провоспалительных и противовоспалительного цитокинов, что свидетельствует о положительном влиянии назначения парацетамола на течение операционного стресса.

5. В послеоперационном периоде у детей с острой хирургической патологией органов брюшной полости при применении внутривенной формы парацетамола достигается эффективное купирование острого болевого синдрома после лапароскопических операций по сравнению со стандартной схемой послеоперационного обезболивания, регистрируется выраженная положительная динамика – достоверно снижается частота случаев лейкоцитоза, быстрый регресс повышенного СОЭ, ЛИИ, что коррелирует с положительной динамикой клинических критериев течения ближайшего послеоперационного периода.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кириенко П.А., Ширяев М.И., Викторов А.А., Гельфанд Б.Р. Послеоперационная боль и аналгезия: опыт применения парацетамолсодержащих препаратов // *Consilium Medicum*. 2006. 8. (1). 12–16.
2. Овечкин А.М. Послеоперационный болевой синдром: клинико-патофизиологическое значение и перспективные направления терапии // *Consilium Medicum*. 2005. 7. (6). 486–490.
3. Осипова Н.А., Петрова В.В., Донскова Ю.С. Место парацетамола (Перфалган) в мультимодальной послеоперационной аналгезии // *Рус. мед. журн.* 2006. 14. (28). 2009–2014.

4. Elia N., Lysakowski C., Tramer M.R. Concomitant use of non-opioid analgesics and morphine after major surgery – is there a clinically relevant morphine sparing effect? A meta-analysis of randomized trials // Eur. J. Anaesthesiol. 2005. 22 (Suppl. 34). 186. A-726.

5. Hay A.D., Redmond N., Fletcher M. Antipyretic drugs for children // BMJ. 2006. 333. (7557). 4–5.

6. Postoperative Pain Management – Good Clinical Practice. General recommendations and principles for successful pain management. Produced with the consultations with the Europeans Society of Regional Anaesthesia and Pain Therapy. Project chairman N. Rawal, 2005. 57 p.

## EVALUATION OF PREVENTIVE ANALGESIA FOR EMERGENCY OPERATIONS ON THE ABDOMINAL ORGANS IN CHILDREN

Albert Valer'evich STEPANOV<sup>1</sup>, Aleksander Anatol'yevich SMAGIN<sup>1</sup>,  
Vitaly Valer'evich MOROZOV<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Clinical and Experimental Lymphology of SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2

<sup>2</sup> Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine of SB RAS,  
630090, Novosibirsk, Akademik Lavrentiev av., 8

---

The problem of post-operative analgesia effectiveness remains relevant especially for children. Pain management in children is often inadequate. The scheme of antinociceptive therapy with the acetaminophen liquid form has been optimized in order to increase the effectiveness of the acute pain relief after emergency laparoscopic surgery in children. Analysis of the results of intravenous form of paracetamol use in 64 children with acute surgical diseases of abdominal cavity underwent emergency laparoscopic procedures has been carried out. The high antinociceptive effect of the proposed scheme of preventive analgesia has been proved. The children premedication with paracetamol does not exert the suppressive effect on the central nervous system functions, requires no changes of the anesthesia standard scheme for laparoscopic surgery, does not lead to the extension of the anesthetics depressive effect on the central nervous system function, as demonstrated by monitoring the electrical activity of the cerebral cortex (BIS). Evidence of positive effect of the paracetamol use during the operational stress has been found. The scheme of preventive analgesia using the liquid form of acetaminophen can be recommended for widespread use in emergency surgery.

---

**Key words:** laparoscopy, emergency surgery, paracetamol, postoperative analgesia, cytokines, cortisol, BIS-monitoring.

*Stepanov A.V. – postgraduate student*

*Smagin A.A. – doctor of medical sciences, professor, head of laboratory of the lymphodetoxication*

*Morozov V.V. – doctor of medical sciences, professor, senior researcher, e-mail: doctor.morozov@mail.ru*

## ОСОБЕННОСТИ ВСТРЕЧАЕМОСТИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ, СОЧЕТАННОЙ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ ЖЕЛЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ, ЖЕЛЧНОГО ПУЗЫРЯ, В АЗИАТСКОЙ ЧАСТИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Юрий Алексеевич НИКОЛАЕВ, Игорь Михайлович МИТРОФАНОВ,  
Владимир Яковлевич ПОЛЯКОВ, Нина Анатольевна ДОЛГОВА

ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН  
630117, г. Новосибирск, ул. Тимакова, 2

За период 2003–2011 гг. проведен анализ встречаемости у 23 310 пациентов терапевтической клиники артериальной гипертензии с заболеваниями желчевыводящих путей, желчного пузыря и поджелудочной железы в зависимости от региона проживания и пола. Гендерные различия встречаемости сочетания данных нозологий были в большей степени характерны для жителей Новосибирской области и зависели от возраста. Наиболее высокая частота коморбидной патологии у женщин 60 лет и старше, проживающих в Новосибирской области, наблюдалась в 2006–2008 гг. (36,6 %), а у жительниц Республики Саха (Якутия) – в 2003–2005 гг. (38,5 %). В период с 2003 по 2011 г. у жителей Якутии мужского пола сочетанная патология встречалась чаще (22,5–27,9 %), чем у мужчин Новосибирской области (16,8–20,7 %). Полученные данные указывают на необходимость разработки региональной стратегии ведения пациентов с сочетанными нозологиями с целью совершенствования мероприятий по профилактике, реабилитации и лечению.

**Ключевые слова:** артериальная гипертензия, коморбидная патология, Север, гендерные различия.

Современная медицина сталкивается с проблемой увеличения частоты встречаемости сочетанной патологии у терапевтических больных. Это может быть связано с постарением населения, повышением качества и доступности новых диагностических методов, изменением стиля жизни современного человека с увеличением темпа жизни, количества и разнообразия внешних повреждающих факторов. При этом многие факторы риска едины для различных нозологических форм. В современной клинике унифицированные стандарты лечения больных «привязаны» к основному заболеванию и не отражают требуемого оптимального терапевтического подхода. В то же время повышается значение разработки новых подходов к диагностике и лечению коморбидных заболеваний в современной клинике внутренних болезней [2, 5, 6, 9]. При этом под коморбидностью понимается не просто сочетание заболеваний, а их патогенетическая взаимосвязь [1, 11]. Нельзя исключить, что эволюция патологических процессов у современного человека способствует появлению новых перекрестных патогенетических механизмов заболеваний.

На сегодняшний день приоритетным направлением развития медицины, призванным увеличить продолжительность и качество жизни людей, является борьба с хроническими неинфекционными заболеваниями [7, 10, 12, 14], среди которых по распространенности и встречаемости одно из первых мест занимают артериальная гипертензия, патология желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы. Это объясняет актуальность изучения особенностей динамики встречаемости артериальной гипертензии в сочетании с заболеваниями желчевыводящих путей, желчного пузыря и поджелудочной железы в зависимости от пола, возраста и региона проживания, так как в 70–90 % случаев болезни сочетаются между собой, что не позволяет в полной мере проанализировать факторы риска, прогнозы течения заболеваний, решить вопросы их дифференцированного лечения и профилактики [3]. Эта проблема особо актуальна для северных регионов, где на организм человека воздействует комплекс экстремальных природных условий проживания, что, очевидно, требует новых стратегий и технологий (в част-

*Николаев Ю.А.* – д.м.н., и.о. зам. директора по клинической и научной работе, руководитель лаборатории патогенеза соматических заболеваний

*Митрофанов И.М.* – д.м.н., ведущий научный сотрудник лаборатории патогенеза соматических заболеваний

*Поляков В.Я.* – к.м.н., старший научный сотрудник лаборатории патогенеза соматических заболеваний

*Долгова Н.А.* – главный врач клиники

ности, при наличии коморбидной патологии), обеспечивающих повышение медицинской безопасности населения. В условиях проживания человека в экстремальных условиях Севера действие неблагоприятных факторов способствует патогенетически взаимосвязанному отягощению сочетанной патологии [4]. Поэтому необходимо располагать объективными данными о состоянии здоровья населения этих регионов, особенностях формирования и проявлений сочетанной хронической неинфекционной патологии.

Цель исследования – изучить особенности встречаемости артериальной гипертензии, сочетанной с заболеваниями желчевыводящих путей, желчного пузыря и поджелудочной железы, в зависимости от региона проживания, пола и возраста в период с 2003 по 2011 г.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектом исследования явились 23 310 больных, проходивших обследование и лечение на базе клиники ФГБУ Научный центр клинической и экспериментальной медицины СО РАМН (г. Новосибирск), в том числе 19 677 человек (7268 мужчин и 12 409 женщин), постоянно проживающих в Новосибирской области (НСО), и 3633 пациента, постоянно проживающих в Республике Саха (Якутия) (1843 мужчины и 1790 женщин). Возрастной диапазон включенных в исследование больных составлял от 16 до 92 лет, средний возраст у мужчин был равен  $51,2 \pm 0,2$  года, у женщин –  $53,8 \pm 0,1$  года ( $p > 0,05$ ). Исследование проводилось в соответствии с требованиями Хельсинкской декларации для врачей, проводящих медико-биологические исследования с участием людей (в пересмотре 41-й Всемирной медицинской ассамблеи, 1989 г.).

Был проведен анализ встречаемости артериальной гипертензии в сочетании с заболеваниями желчевыводящих путей, желчного пузыря и поджелудочной железы. Верификация диагноза у обследованных осуществлялась в условиях стационара с использованием современных методов клинической, функциональной и лабораторной диагностики. Наличие артериальной гипертензии оценивали по критериям ВНОК (2010) [7], при уровне артериального давления  $\geq 140/90$  мм рт. ст. При исследовании учитывали все выявленные диагнозы в виде нозологических форм и классов МКБ. Кодировку заболеваний осуществляли в соответствии с Международной классификацией болезней 10-го пересмотра (МКБ-10).

Наличие артериальной гипертензии, коморбидной с заболеваниями желчевыводящих путей, желчного пузыря и поджелудочной железы,

учитывали и в качестве основного, и в качестве сопутствующих заболеваний. В соответствии с МКБ-10 артериальная гипертензия относилась к классам болезней I10–I15, а заболевания желчевыводящих путей, желчного пузыря и поджелудочной железы – к классам K80–K87.

Для анализа динамики встречаемости артериальной гипертензии, сочетанной с патологией желчевыводящих путей, желчного пузыря и поджелудочной железы, обследованные пациенты были разделены на три подгруппы в зависимости от периода пребывания в клинике: 2003–2005 гг. – 7141 чел., 2006–2008 гг. – 7990 чел., 2009–2011 гг. – 8179 чел.

Анализ данных проводили как в целом (во всех возрастах), так и с выделением возрастных подгрупп: первая – с 16 до 39 лет, вторая – с 40 до 59 лет и третья – 60 лет и старше.

Частотные характеристики представлены в виде процентов и стандартной ошибки доли ( $\% \pm s_p$ ), статистическую значимость отличий доказывали с использованием критерия  $\chi^2$ . В случае множественных сравнений применялась поправка Бонферрони. Различия сравниваемых показателей считали достоверными при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В целом независимо от возраста у обследованных пациентов во временном интервале 2003–2005 гг. сочетанная патология на 7,8 % чаще встречалась в случае проживания на Севере (таблица). У жителей НСО гендерные различия заключались в достоверно большей (на 23,8 %) частоте встречаемости сочетанной патологии у женщин, чем у мужчин. В данный период времени в первой возрастной группе сочетанная патология достоверно чаще наблюдалась у пациентов, проживающих в Республике Саха (Якутия), чем у больных, проживающих в НСО, – как у мужчин ( $p = 0,0005$ ), так и у женщин ( $p = 0,0001$ ). Гендерные различия в этой возрастной группе характеризовались более частой встречаемостью сочетанной патологии у мужчин, чем у женщин – среди проживающих как в умеренных широтах ( $p < 0,0001$ ), так и в Республике Саха (Якутия) ( $p = 0,0039$ ) (см. таблицу).

В возрастной группе от 40 до 59 лет межгрупповые отличия касались только женщин: сочетанная патология чаще встречалась у женщин, проживающих на Севере, чем у женщин, проживающих в НСО ( $p = 0,0007$ ) (см. таблицу). В более старшей возрастной группе у мужчин-северян на 45,1 % чаще, чем у мужчин НСО, встречалась сочетанная патология ( $p = 0,0158$ ). Среди жителей

Таблица

Частота встречаемости сочетания артериальной гипертензии (I10–I15, по МКБ 10-го пересмотра) и болезней желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы (K80–K87, по МКБ 10 пересмотра)

Годы госпитализации	Возраст, лет	Новосибирская область		Республика Саха (Якутия)	
		Мужчины	Женщины	Мужчины	Женщины
2003–2005	16–39	6,4 ± 1,1	1,0 ± 0,4	14,6 ± 2,4^	5,6 ± 1,7^
	40–59	20,5 ± 1,4	19,7 ± 1,1	23,7 ± 1,7	26,4 ± 1,7^
	60 и старше	19,7 ± 1,6	31,6 ± 1,3	28,6 ± 3,6^	38,5 ± 4,1
	В целом	16,8 ± 0,8	20,8 ± 0,7	22,5 ± 1,3^	24,4 ± 1,4^
2006–2008	16–39	7,7 ± 1,1	3,1 ± 0,6*	14,9 ± 3,2^	4,1 ± 2,0
	40–59	19,5 ± 1,2	21,7 ± 1,0	28,4 ± 2,2^	23,0 ± 2,2
	60 и старше	30,6 ± 1,6*	36,6 ± 1,2*	35,0 ± 5,3	26,6 ± 5,0
	В целом	20,7 ± 0,8*	24,3 ± 0,7*	26,6 ± 1,8^	20,2 ± 1,7
2009–2011	16–39	6,7 ± 1,1	1,2 ± 0,4#	16,7 ± 6,2^	2,8 ± 2,7*
	40–59	20,4 ± 1,2	16,3 ± 0,8*,#	28,9 ± 4,0^	22,3 ± 3,3*
	60 и старше	27,8 ± 1,4*	30,8 ± 1,0#	35,0 ± 7,5	20,0 ± 5,7
	В целом	20,3 ± 0,8*	20,3 ± 0,6#	27,9 ± 3,1^	18,9 ± 2,5*

Примечание. Обозначены статистически значимые ( $p < 0,05$ ) отличия от величин соответствующих показателей: \* – в период 2003–2005 гг., # – в период 2006–2008 гг., ^ – у жителей Новосибирской области.

НСО сочетанная патология достоверно чаще наблюдалась у женщин, чем у мужчин.

Во временном интервале с 2006 по 2008 г. (см. таблицу) у мужчин возрастной группы от 16 до 39 лет, проживающих в Якутии, сочетанная патология встречалась на 93,5 % чаще, чем у мужчин, проживающих в НСО ( $p = 0,0120$ ). Гендерные различия заключались в том, что у мужчин, проживающих как в НСО, так и в Якутии, достоверно чаще, чем у женщин, отмечалась коморбидная патология. В возрастной группе 40–59 лет у лиц мужского пола были выявлены межрегиональные различия: у мужчин-северян изучаемая патология встречалась на 45,6 % достоверно чаще, чем у проживающих в НСО. Среди жителей НСО 60 лет и старше сочетанная патология у женщин встречалась достоверно чаще (более чем на 19,6 %), чем у мужчин. В целом у обследованного контингента больных, независимо от возраста, в этом временном интервале сочетанная патология чаще встречалась у мужчин, проживающих в Якутии, чем у мужчин, проживающих в г. Новосибирске ( $p = 0,0015$ ). Гендерные различия проявлялись в том, что коморбидная патология у женщин в средних широтах наблюдалась на 17,3 % достоверно чаще, чем у мужчин, а у мужчин, проживающих в Республике Саха (Якутия), – чаще, чем у женщин.

В период 2009–2011 гг. (см. таблицу) в возрастной группе 19–39 лет частота коморбидной патологии была значимо больше у мужчин, проживающих в Якутии, по сравнению с мужчинами, проживающими в НСО ( $p = 0,0259$ ), и у прожива-

ющих в НСО мужчин по сравнению с женщинами (в 5,6 раза,  $p < 0,0001$ ). В возрастной группе 40–59 лет сочетанная патология у мужчин, проживающих в Якутии, встречалась также достоверно чаще (в 1,4 раза), чем у мужчин, проживающих в НСО. Гендерные различия выявлены только для жителей НСО – коморбидная патология была более характерна для мужчин, чем для женщин (на 25 % больше). В целом у обследованного контингента больных в данном временном интервале частота коморбидной патологии была на 37,4 % больше у мужчин, проживающих в Якутии, чем у мужчин, проживающих в НСО, ( $p = 0,01$ ) также как и у женщин.

Во временном периоде с 2003 по 2011 г. у мужчин, проживающих в НСО, в возрастных группах 16–39 лет и 40–59 лет достоверной динамики встречаемости коморбидной патологии выявлено не было. У мужчин 60 лет и старше частота сочетанной патологии достоверно возрастала в период с 2006 по 2008 г. по сравнению с 2003–2005 гг. и сохранялась на том же уровне в период 2009–2011 гг. Наиболее выраженная динамика в показателе коморбидности была у женщин, проживающих в НСО. В период 2003–2005 гг. в возрастной группе 16–39 лет была наименьшая встречаемость сочетанной патологии, далее происходило ее статистически значимое увеличение в период 2006–2009 гг. с последующим достоверным снижением в период 2009–2011 гг. У женщин 40–59 лет, проживающих в НСО, сочетанная патология наиболее часто наблюдалась в период

2006–2008 гг., реже – в 2003–2005 и 2009–2011 гг. В возрасте 60 лет и старше у женщин, проживающих в НСО, встречаемость сочетанной патологии была максимальной во временном интервале 2006–2008 гг., а у женщин аналогичного возраста, проживающих в Якутии, – во временном интервале 2003–2005 гг.

Нами установлена общая закономерность, заключающаяся в большей частоте встречаемости сочетанной патологии у женщин, хотя в целом, гендерные различия во многом зависели от региона проживания и от возраста обследованных. Так, наиболее редкой сочетанная патология была во временном интервале 2003–2005 гг. у женщин в возрасте 16–39 лет, проживающих в НСО, в то время как в период 2006–2011 гг. у женщин возрастной группы 60 лет и старше, проживающих в НСО, ее встречаемость была на достаточно высоком уровне (см. таблицу).

Известно, что число сочетанных заболеваний существенно повышается с возрастом: у молодых людей до 19 лет – 10 %, у лиц 80 лет и старше – до 80 % [13]. При этом число хронических заболеваний варьирует от 2,8 у молодых пациентов до 6,4 и выше – у лиц старших возрастных групп [8]. Однако проблеме коморбидности в современной клинике внутренних болезней уделяется недостаточно внимания, в то время как от особенностей сочетания патологических процессов во многом зависят индивидуальное течение заболеваний, и персонализированная медицина должна опираться на новые знания об эпидемиологических и патогенетических особенностях коморбидности. Мы полагаем, что многофакторный подход к лечению и профилактике хронических неинфекционных заболеваний, в том числе коморбидных патологий при артериальной гипертензии, может быть более эффективным. Так как у пациентов с коморбидными состояниями раньше, чем у больных с мононозологиями, ухудшается прогноз развития заболевания и снижается качество жизни [9], возникают очевидные сложности в медикаментозной терапии [15]. В связи с этим необходимы разработка оптимальной региональной стратегии ведения пациентов с сочетанными нозологиями и совершенствование мероприятий по профилактике, реабилитации и лечению данных больных.

## ВЫВОДЫ

1. Для мужчин 16–39 лет, проживающих в Новосибирской области и Республике Саха (Якутия), характерна большая встречаемость сочетания артериальной гипертензии и болезней желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы, чем для женщин.

2. У жительниц Новосибирской области 60 лет и старше в период 2003–2008 гг. коморбидная патология встречается достоверно чаще, чем у мужчин. Наиболее высокая частота коморбидной патологии у жительниц Новосибирской области данной возрастной категории наблюдалась в 2006–2008 гг., достигая 36,6 %, а у женщин, проживающих в Республике Саха (Якутия), – в 2003–2005 гг. (38,5 %).

3. Региональные различия встречаемости сочетанной патологии в большей степени характерны для мужчин, чем для женщин. В период с 2003 по 2011 г. у мужчин, проживающих в Республике Саха (Якутия), сочетанная патология встречалась чаще, чем у мужчин Новосибирской области.

4. Гендерные различия встречаемости коморбидной патологии были характерны для жителей Новосибирской области и зависели от возраста. В возрасте 16–39 лет она чаще встречались у мужчин, а в возрасте 60 лет и старше – у женщин.

5. Необходимо разработка региональной стратегии ведения пациентов с сочетанными нозологиями с целью совершенствования мероприятий по профилактике, реабилитации и лечению больных артериальной гипертензией, сочетанной с заболеваниями желчного пузыря, желчевыводящих путей и поджелудочной железы.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Белялов Ф.И.* Коморбидность. <http://therapy.irkutsk.ru/edcomorbid.htm>.
2. *Белялов Ф.И.* Лечение внутренних болезней в условиях коморбидности. Иркутск, 2013. 296 с.
3. *Григорьева И.Н., Лебедева М.С.* Артериальная гипертензия и дислипидемия при желчнокаменной болезни // Бюл. СО РАМН. 2013. (3). 30–36.
4. *Дарянина С.А., Пальцев А.И., Николаев Ю.А.* Особенности вариабельности сердечного ритма при заболеваниях желчевыводящей системы в сочетании с артериальной гипертензией у пришлого населения Севера // Терапевт. арх. 2009. (4). 76–78.
5. *Лазебник Л.Б.* Старение и полиморбидность // Новости медицины и фармации. 2007. (1). <http://www.mif-ua.com/archive/article/3531>.
6. *Оганов Р.Г.* Эффективные стратегии длительного контроля неинфекционных заболеваний в России // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. 2004. (1). 3–6.
7. Российские рекомендации (четвертый пересмотр). Секция артериальной гипертензии ВНОК. Диагностика и лечение артериальной гипертензии. М., 2010.
8. *Fortin M., Bravo G., Hudon C. et al.* Prevalence of multimorbidity among adults seen in family practice // Ann. Fam. Med. 2005. 3. 223–228.

9. Fortin M., Lapointe L., Hudon C. et al. Multimorbidity and quality of life in primary care: a systematic review // Health Qual. Life Outcomes. 2004. 20. (2). 51.
10. Michelson H., Bolund C., Brandberg Y. Multiple chronic health problems are negatively associated with health related quality of life (HRQOL) irrespective of age // Qual. Life Res. 2000. 9. 1093–1104.
11. Schellevis F.G., Velden J. vd, Lisdonk E. vd. Comorbidity of chronic diseases in general practice // J. Clin. Epidemiol. 1993. 46. 469–473.
12. Starfield B., Lemke K.W., Bernhardt T. Comorbidity: Implications for the importance of primary care in case management // Ann. Fam. Med. 2003. 1. (1). 8–14.
13. Van den Akker M., Buntinx F., Metsemakers J.F. et al. Multimorbidity in general practice: prevalence, incidence, and determinants of co-occurring chronic and recurrent diseases // J. Clin. Epidemiol. 1998. 51. 367–375.
14. Van Weel C., Schellevis F.G. Comorbidity and guidelines: conflicting interests // Lancet. 2006. 367. 550–551.
15. Wang P.S., Avorn J., Brookhart M.A. et al. Effects of noncardiovascular comorbidities on antihypertensive use in elderly hypertensives // Hypertension. 2005. 46. (2). 273–279.

## PECULIARITIES OF OCCURRENCE OF ARTERIAL HYPERTENSION WITH COMORBID BILIARY AND GALL BLADDER DISEASES IN THE ASIAN PART OF THE RUSSIAN FEDERATION

**Yuryi Alekseevich NIKOLAEV, Igor` Mikhaylovich MITROFANOV, Vladimir Yakovlevich POLYAKOV, Nina Anatolievna DOLGOVA**

*Scientific Center of Clinical and Experimental Medicine of SB RAMS  
630117, Novosibirsk, Timakov str., 2*

The analysis of occurrence of arterial hypertension with comorbid biliary, gall bladder and pancreas diseases has been conducted at 23310 patients of the therapeutic clinic depending on region of residence and gender in the period 2003–2011. Gender differences in the occurrence of the combination of these diseases were more common among residents of the Novosibirsk region and depended on age. The highest frequency of comorbid pathology in women in the Novosibirsk region was in the period of 2006–2008 – 36.6 %, and in women living in Yakutia at the age of 60 years and older in the period 2003–2005 – 38.5 %. The combined pathology was met more frequently (22.5–27.9 %) among the male Yakutia inhabitants than among the men of Novosibirsk region (16.8–20.7 %) in the period 2003–2011. The obtained data testify to the need to develop the regional strategy for the management of patients with concomitant nosologies with the purpose of improvement of prevention, rehabilitation and treatment.

**Key words:** arterial hypertension, comorbid pathology, North, gender differences.

*Nikolaev Yu.A. – doctor of medical sciences, deputy director on clinical and scientific work, head of laboratory for somatic diseases pathogenesis*

*Mitrofanov I.M. – doctor of medical sciences, leading researcher of laboratory for somatic diseases pathogenesis*

*Polyakov V.Yu. – candidate of medical sciences, senior researcher of laboratory for somatic diseases pathogenesis*

*Dolgova N.A. – chief physician*