

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ  
ВИТЕБСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

# ВЕСТНИК

Витебского государственного медицинского  
университета

Том 12

№3

2013

Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал  
Основан в 2002 году

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

**Редакционная коллегия:**

В.П. Дейкало (*главный редактор*), Н.Ю. Коневалова (*зам. главного редактора*),  
И.В. Городецкая (*зам. главного редактора*), В.И. Козловский (*зам. главного редактора*),  
С.С. Алексанин (Санкт-Петербург, Россия), В.Я. Бекиш, Г.Н. Бузук, И.И. Бурак,  
В.И. Гидранович, В.С. Глушанко, Ю.Н. Деркач (Витебск), О.Б. Жданова (Киров, Россия),  
А.И. Жебентяев, С.А. Кабанова, М.Р. Конорев, А.Н. Косинец (Витебск),  
А.А. Косых (Киров, Россия), Л.Е. Криштопов, В.В. Кугач, З.С. Кунцевич,  
Н.Г. Луд, И.А. Наркевич (Санкт-Петербург, Россия), А.А. Пашков,  
С.И. Пиманов, И.М. Прищепа (Витебск), В.П. Подпалов, Л.Е. Радецкая,  
В.М. Семенов, А.П. Солодков (Витебск), С.А. Сушков, А.К. Усович,  
В.М. Холод (ВГАВМ, Витебск), Ю.П. Чернявский.

**Редакционный совет:**

Н.Н. Аболмасов (Смоленск, Россия), В.П. Адамкевич, Ю.В. Алексеенко,  
Р.В. Басявичюс (Каунас, Литва), И.И. Генералов, И.Ю. Карпук,  
И.И. Краснюк (Москва, Россия), Р.З. Кубилиус (Каунас, Литва), С.П. Кулик,  
Л.В. Лабанаускас (Каунас, Литва), М.Ю. Лея (Латвия), А.М. Литвяков, Л.А. Любаковская,  
И.М. Лысенко, В.А. Маланчук (Киев, Украина), И. Маглавска (Познань, Польша),  
Д.В. Моисеев, А.Г. Мрочек (Минск), О.Д. Мяделец, Д.К. Новиков, В.И. Новикова,  
А.Н. Окороков, С.С. Осочук, Д.В. Пискун (Швейцария), Л.П. Титов (Минск),  
В.М. Цыркунов (Гродно), А.Г. Чумак (Минск), Г.И. Юпатов

**Секретариат:**

И.А. Бебешко, Р.В. Кадушко, Л.М. Родкина, И.А. Флоряну.

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

Адрес редакции: 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, тел. (0212) 26-10-93,  
e-mail: admin@vsmu.by

Журнал зарегистрирован в Министерстве информации Республики Беларусь,  
свидетельство № 108 от 22.04.2009 г.

ISSN 1607-9906

© Витебский государственный медицинский университет, 2013

## СОДЕРЖАНИЕ

## CONTENTS

**Обзоры**

**Пашинская Е.С., Логишинец И.А., Побыржин В.В.,  
Бекиш В.Я., Соболевская И.С.**  
Гельминтозы при беременности

6

**Волкова М.В., Кундер Е.В.**

Ранний артрит: актуальность, иммунопатология,  
диагностика

13

**Биохимия**

**Осочук С.С., Марцинкевич А.Ф.**

Физико-химические свойства мембран  
эритроцитов спортсменов циклических видов  
спорта

25

**Физиология**

**Гусакова Е.А., Городецкая И.В.**

Влияние измененного тиреоидного статуса на  
устойчивость организма в различные стадии  
стресс-реакции

32

**Внутренние болезни**

**Выхристенко Л.Р.**

Пероральная низкодозовая алерговакцина  
АВ-1Р для лечения пациентов с atopической  
бронхиальной астмой: эффективность и  
безопасность

41

**Савелихина И.А., Островский Н.Н.**

Особенности нарушений функции внешнего  
дыхания у пациентов с хронической  
обструктивной болезнью легких III  
стадии в процессе комплексного лечения с  
использованием рофлумиласта

48

**Сергиевич А.В., Литвяков А.М.**

Сравнительный анализ сывороточного  
уровня аргиназы I у пациентов с псориазом и  
псориатическим артритом

55

**Сергиевич А.В., Литвяков А.М.**

Сравнительный анализ сывороточного уровня  
ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 у пациентов с псориазом  
и псориатическим артритом

64

**Акушерство и гинекология**

**Огризко И.Н., Семенов Д.М.**

Распространенность и клинические формы  
эктопии шейки матки среди женщин  
репродуктивного возраста

72

**Reviews**

**Pashinskaya E.S., Logishinets I.A., Pobyarzhin V.V.,  
Bekish V.Y., Sobolevskaya I.S.**  
Helminthiasis in pregnancy

**Volkova M.V., Kunder E.V.**

Early arthritis: urgency, immunopathology,  
diagnosing

**Biochemistry**

**Osochuk S.S., Martsinkevich A.F.**

Physicochemical properties of erythrocytes  
membranes in sportsmen engaged in cyclic kinds  
of sport

**Physiology**

**Gusakova E.A., Gorodetskaya I.V.**

The effect of the changed thyroid status on body  
resistance at different stages of stress reaction

**Internal medicine**

**Vykhristenko L.R.**

Low-dose oral allergovaccine AV-1P for the  
treatment of patients with atopical bronchial  
asthma: the efficacy and safety

**Savelikhina I.A., Ostrovsky N.N.**

The peculiarities of functional disturbances of  
external respiration in patients with the third stage  
of chronic obstructive pulmonary disease in the  
course of complex treatment with roflumilast

**Sergiyevich A.V., Litvyakov A.M.**

The comparative analysis of arginase I serumal  
level in patients with psoriasis and psoriatic  
arthritis

**Sergiyevich A.V., Litvyakov A.M.**

The comparative analysis of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ ,  
IL-6 serumal level in patients with psoriasis and  
psoriatic arthritis

**Obstetrics and gynecology**

**Ogrizko I.N., Semenov D.M.**

Prevalence and clinical forms of uterine cervical  
ectopy among women of reproductive age

- Ружи́ло О.С., Дива́кова Т.С.**  
Влияние полиморфных вариантов генов рецепторов, активирующих пролиферацию пероксисом PPAR $\alpha$  и PPARGC1A, на развитие синдрома поликистозных яичников
- Колбасова Е.А., Киселева Н.И., Дорошенко Е.М., Курбат М.Н., Новгородская Я.И.**  
Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови у женщин с хирургической и естественной менопаузой
- Педиатрия**
- Домбялова Э.С., Иванова Л.Г., Баркун Г.К.**  
Синдром вегетативных дисфункций как маркер артериальной гипертензии у детей
- Инфекционные и паразитарные болезни**
- Трихлеб В.И.**  
Лабораторные показатели у больных малярией
- Кужель Д.К., Бекиш В.Я., Зорина В.В.**  
Генотоксическое и цитотоксическое воздействие мари́т кошачьего сосальщика на соматические клетки хозяина
- Ляховская Н.В.**  
Ротавирусная инфекция: клинические особенности, эффективность терапии
- Нервные болезни**
- Солкин А.А.**  
Эффективность использования интервальной нормобарической гипокситерапии у пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде
- Кожные и венерические болезни**
- Драгун Г.В., Сохар С.А., Абдель Малак Валид**  
Акантолитическая вульгарная пузырчатка, вегетирующая форма Аллопо
- Гигиена и экология**
- Трейлиб В.В., Половинкин Л.В., Гомолко Т.Н., Дроздова Е.В.**  
Сравнительная оценка токсичности и опасности смазочно-охлаждающих технологических составов на альтернативных тест-моделях
- 78 Ruzhilo O.S., Divakova T.S.**  
The influence of polymorphous gene variants of receptors activating proliferation of peroxisomas PPAR $\alpha$  and PPARGC1A on the development of polycystic ovary syndrome
- 84 Kolbasova E.A. Kiseleva N.I., Doroshenko E.M., Kurbat M.N., Novogrodskaya Y.I.**  
The content of free amino acids in blood sera of women with surgical and natural menopause
- Pediatrics**
- Dombyalova E.S., Ivanova L.G., Barkun G.K.**  
Vegetative dysfunction syndrome as a marker of arterial hypertension in children
- Infectious and parasitic diseases**
- Trikhleb V.I.**  
Laboratory indicators in patients with malaria
- 106 Kuzhel D.K., Bekish V.Y., Zorina V.V.**  
The genotoxic and cytotoxic influence of catliver fluke maritas on host somatic cells
- 116 Lyakhovskaya N.V.**  
Rotaviral infection: clinical features, efficacy of treatment
- Nervous diseases**
- 125 Solkin A.A.**  
The efficacy of interval normobaric hypoxytherapy use in patients with ischemic stroke in the recovery period
- Skin and venereal diseases**
- 131 Dragun G.V., Sokhar S.A., Abdel Malak Walid**  
Pemphigus vulgaris acantholysis, pemphigus vegetans Hallopeau type
- Hygiene and ecology**
- 137 Treylib V.V., Polovinkin L.V., Gomolko T.N., Drozdova E.V.**  
Comparative estimation of toxicity and danger of lubricating and cooling technological compositions on alternative test models

**Судебная медицина****Денисенко А.Г., Яблонский М.Ф.**

Значение иммунологических критериев давности наступления смерти

**Стоматология****Кабанова А.А., Кабанова С.А., Богдан Н.Ю., Чернина Т.Н.**

Пластика передней стенки верхнечелюстной пазухи

**Чернявский Ю.П., Шупилкин Н.В.**

Эффективность obturации системы корневого канала с использованием ручного и механического эндодонтического инструментария

**Карпук И.Ю., Новиков Д.К., Карпук Н.А., Семенова И.В.**

Роль гранулоцитов в патогенезе развития аллергии на зубопротезные материалы и метод ее диагностики

**Фармация****Крылов Е.Ю., Лесничая О.В., Круглова М.С.**

Фармакоэкономический анализ иммуногистохимической диагностики HER2-статуса и таргетной терапии при раке молочной железы

**Педагогика и психология высшей школы****Пузанова О.Г.**

Кокрановские обзоры как информационный ресурс доказательной первичной профилактики в здравоохранении

**Юбилей**

Из плеяды классических анатомов (75 лет профессору Павлу Марковичу Трясучёву)

**Новости****Правила для авторов****Forensic medicine****143 Denisenko A.G., Yablonsky M.F.**

The importance of the immunological criteria of the remoteness of death

**Dentistry****148 Kabanova A.A., Kabanova S.A., Bogdan N.Y., Chernina T.N.**

Plasty of the anterior wall of the maxillary sinus

**153 Chernyavsky Y.P., Shupilkin N.V.**

The efficacy of the root canal system obturation with the use of handworked and mechanical endodontic instrumentation

**163 Karpuk I.Y., Novikov D.K., Karpuk N.A., Semenova I.V.**

The role of granulocytes in the pathogenesis of the development of an allergy to dentoprosthetic materials and its diagnosis method

**Pharmacy****168 Krylov E.Y., Lesnichaya O.V., Kruglova M.S.**

Pharmacoeconomic analysis of immunohistochemical diagnosing of HER2-status and target therapy in breast cancer

**Pedagogics and psychology of higher school****174 Puzanova O.G.**

Cochrane systematic reviews as an information resource of evidence-based primary prevention in health care

**Jubilee****182** From the pleiad of classic anatomists (to the 75-th anniversary of Professor Pavel Markovich Tryasuchyov)**184 News****185 Instructions for authors**

## ГЕЛЬМИНТОЗЫ ПРИ БЕРЕМЕННОСТИ

ПАШИНСКАЯ Е.С.\*, ЛОГИШИНЕЦ И.А.\*, ПОБЯРЖИН В.В.\*, БЕКИШ В.Я.\*, СОБОЛЕВСКАЯ И.С.\*\*

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
кафедра медицинской биологии и общей генетики,  
кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии*

**Резюме.** Гельминты оказывают негативное влияние на течение беременности и состояние новорожденных. Гельминтозы сопровождаются патологическими изменениями в организме беременных женщин и способствуют развитию анемии, артериальной гипотензии, аллергических реакций. Инвазия гельминтами может стать причиной раннего токсикоза, многоводия, угрозы прерывания беременности и преждевременных родов. При обследовании беременных женщин чаще всего выявляется аскаридоз и энтеробиоз.

*Ключевые слова:* гельминтозы, беременность, лечение.

**Abstract.** Helminths have a negative impact on the course of pregnancy and the state of the newborns. Helminthiasis is accompanied by pathological changes in the organism of pregnant women, and contribute to the development of anemia, arterial hypotension, allergic reactions. Helminths invasion can cause early toxicosis, hydramnion, the threat of pregnancy termination and premature birth. On the examination of pregnant women ascariasis and enterobiasis are detected most often.

*Key words:* helminthiasis, pregnancy, treatment.

**П**роблема гельминтозов нередко обсуждается как в специальной литературе, так и в научно-популярных изданиях и до настоящего времени не перестает быть актуальной. Практически каждый человек в течение своей жизни хотя бы раз инвазируется гельминтами. Рост заболеваемости гельминтозами является следствием высокого загрязнения окружающей среды яйцами паразитов в результате сброса сточных

вод, возросшей миграции населения, увеличения численности домашних животных в городских квартирах, низкого социально-экономического уровня жизни, недооценки негативного влияния данной группы заболеваний на здоровье человека [2]. Гельминты являются одной из самых древних и многочисленных форм жизни на нашей планете. В организме человека могут паразитировать более 340 их видов, принадлежащих к трем основным классам: сосальщики (трематоды), ленточные (цестоды) и круглые черви (нематоды). Только популяция нематод составляет не менее 500 тысяч видов и по своей численности занимает второе место среди всех представителей животного мира. Для гельминтов человеческий организм – бла-

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра медицинской биологии и общей генетики. Раб.тел.: 8 (0212) 37-00-30 – Пашинская Екатерина Сергеевна.

гоприятная среда обитания и размножения. По данным ВОЗ, более 16 миллионов смертей в год, а это около трети всех случаев, обусловлено инфекционными и паразитарными заболеваниями. Так, только два вида нематод – аскариды и трихинеллы вызывают ежегодно заболевание у 1,2 миллиарда человек на разных континентах нашей планеты. Несмотря на то, что в нашей стране большое внимание уделяется вопросам профилактики и лечения паразитарных заболеваний, проблема гельминтозов остается актуальной. Целью настоящей работы является обобщение материалов исследований и привлечение усиленного внимания к данной проблеме со стороны санитарных служб, врачей и общественности.

По данным литературы, на территории Республики Беларусь частота встречаемости различных гельминтозов неодинакова [14, 17]. По числу регистрируемых случаев эти заболевания можно разделить на 3 группы: I группа – гельминтозы, имеющие широкое распространение (аскаридоз, энтеробиоз, трихоцефалез), II группа – регистрируются десятки случаев ежегодно (гименолепидоз, стронгилоидоз, дифиллоботриоз, описторхоз, тениаринхоз, тениоз, трихинеллез), III группа – официальной статистики не существует (эхинококкоз, токсокароз, фасциолез, анизакиоз, церкариоз).

На I группу приходится 99,94% всех случаев ежегодно выявляемых инвазий гельминтами. Уровень заболеваемости аскаридозом составляет 1119,95 случаев на 100 тыс. населения, трихоцефалезом – 517,97, энтеробиозом – 1442,52. Поправочные коэффициенты гельминтозов, отнесенных к II группе, следующие: 1,3 – при тениаринхозе, 4 – при гименолепидозе, 15 – при описторхозе [13, 14]. Известно, что на территории Беларуси сформировались природные очаги трихинеллеза, описторхоза и дифиллоботриоза [15]. Для трихинеллеза и тениоза (цистицеркоза) характерны тяжелые клинические проявления, а стронгилоидоз может длиться годами и заканчиваться летально [17]. По гельминтозам III группы и связанной с ними пато-

логии официальной статистики в Беларуси не существует. Специальные исследования свидетельствуют не только о наличии, но и о широком распространении патологических состояний, обусловленных малоизвестными гельминтами. Так, токсокарозом поражено до 28,3% обследованных [18]. Дерматиты церкариозной этиологии в зоне озера Нарочь выявляются в среднем у 4,2% отдыхающих [7]. Эхинококкоз широко распространен среди домашних свиней и может явиться причиной смерти зараженных людей. В Беларуси ежегодно выявляются десятки тысяч случаев фасциолеза крупного рогатого скота, что создает постоянную потенциальную угрозу распространения этой инвазии среди людей [17].

В современной литературе сведения о распространенности гельминтозов среди беременных немногочисленны. Чаще всего у женщин во время беременности выявляются нематодозы (аскаридоз и энтеробиоз). Так, Ф.Г. Даянов и соавт. [6] обнаружили аскарид у 14% обследованных беременных женщин, а остриц – у 2%. Л.М. Богатырева-Панченко и соавт. [3] в ходе изучения влияния гельминтозов на течение беременности и родовой акт выявили аскаридоз у 35,2% женщин, энтеробиоз – у 12,2%. По данным R. Rodrigues-Garcia, аскаридоз регистрируется у 13,9% беременных, энтеробиоз – у 26% [36]. При обследовании женщин в г. Энтебба было выявлено, что из 2500 человек 45% были больны анкилостомозом, 37% – аскаридозом, а у 18% была обнаружена *Schistosoma mansoni* [31, 32]. Проведенный Т.А. Гасановой [4] анализ соматического здоровья взрослого населения показал, что среди женщин с нарушением репродуктивной функции или с отягощенным акушерским анамнезом имеется высокая пораженность токсокарозом. Регистрируются также случаи завозных анкилостомозов.

### **Общие проявления гельминтозов у беременных**

В результате изучения клинического течения гельминтозов у беременных

выявлен ряд общих симптомов, характерных для инвазии гельминтами, независимо от их вида. Часто возникает симптомокомплекс сходный с таковым при раннем токсикозе беременных. У трети больных наблюдается тошнота, у четверти – рвота и боль в эпигастральной области, не зависящие от приема пищи, у части – слюнотечение, а у некоторых женщин – обморочные состояния, боль в области сердца. Результаты многолетних исследований показали, что у 45-50% женщин, страдающих тениозом и тениаринхозом, выявляется стойкая артериальная гипотензия на протяжении всей беременности. Снижение артериального давления у беременных женщин связано с влиянием продуктов жизнедеятельности крупных тениид на нервную систему пациенток [3]. Известны случаи проявления транзиторной лихорадки при тениозе, тениаринхозе, дифиллоботриозе, гименолипедозе и трихинеллезе [9].

Кишечные гельминтозы способствуют высвобождению Th2-цитокинов, которые подавляют Th1-цитокины [16], приводя к снижению местной и общей сопротивляемости организма хозяина. Этот процесс, в свою очередь, облегчает внедрение вторичной инфекции [10]. Патогенетический токсический эффект круглых червей проявляется уменьшением продукции инсулиноподобного фактора роста и увеличением продукции фактора некроза опухоли- $\alpha$ , а также снижением синтеза коллагена [16]. В<sub>12</sub>-дефицитная (мегалобластная) анемия чаще отмечается при дифиллоботриозе [5]. При анкилостомозах существенное значение имеет хроническая микрокровопотеря [38]. В I триместре у 30% беременных с анкилостомозом, стронгилоидозом и трихоцефалезом наблюдается гипохромная анемия, с увеличением срока гестации она прогрессирует [33]. Развитие анемии приводит к снижению роста плода, повышению перинатальной смертности и заболеваемости у новорожденных [24, 29, 38, 39].

В результате миграции личинок круглых червей в малый круг кровообраще-

ния и воздухоносные пути при аскаридозе и стронгилоидозе могут развиваться приступы бронхиальной астмы. При стронгилоидозе наблюдается стеаторея. У беременных с гельминтозами могут возникать преждевременные роды, самопроизвольное прерывание беременности на ранних сроках. Иногда гельминтозы могут быть причиной невынашивания беременности. Подобная патология беременности наиболее часто встречается при трихоцефалезе (14,8%) и аскаридозе (10%) [3, 5, 6, 37]. По данным М.М. Шехтмана [19, 20, 21] с гельминтозами связаны наблюдающиеся в послеродовом периоде кровотечения у каждой шестой родильницы, не находящие объяснения акушерской патологией. У 30% беременных с диагнозом «трихоцефалез» и «аскаридоз» выявляются нарушения углеводного обмена (гипер- и гипогликемия). Локализация паразитов в гепатобиллиарной системе женщин, заболевших аскаридозом, приводит к спонтанным абортам или преждевременным родам [34]. У серопозитивных по токсокарозу женщин чаще наблюдаются осложнения во время беременности в виде раннего токсикоза, тошноты, рвоты, отеков, дерматозов, угрозы прерывания беременности, многоводия. При оценке новорожденных детей этих матерей по шкале Апгар наиболее часто встречаются низкие показатели [8]. При энтеробиозе возможно поражение мочевыводящих путей, ведущее к азотемии. Гельминтозы сопровождаются значительной эозинофилией, что считается достоверным признаком их наличия при лабораторной диагностике.

Известно также, что дети, родившиеся от матерей, перенесших во время беременности шистосомоз и своевременно пролеченных антигельминтиками, на протяжении пяти лет могут отставать в интеллектуальном развитии. У них наблюдается большая предрасположенность к инфекционным заболеваниям и более тяжелое их течение за счет снижения иммунной активности [22, 37].

Выяснено, что при трематодозах печени через желчные протоки проис-

ходит потеря аминокислот с желчью [22, 35]. О.Н. Араповой было выяснено, что у женщин с хроническим описторхозом основными осложнениями беременности являлись: угроза прерывания, встречающаяся в 2,1 раза чаще, чем у здоровых беременных женщин, токсикозы первой и второй половины беременности, поздний гестоз во второй половине беременности, преждевременное излитие околоплодных вод, преждевременная отслойка плаценты, слабость родовой деятельности [1]. Чаще угроза прерывания беременности наблюдалась при сроке инвазии до одного года и свыше 5 лет. Автором также было показано, что хронический описторхоз у беременных существенно сказывается на развитии плода и состоянии новорожденных [1]. Дети, рожденные женщинами с хроническим описторхозом, в 10% случаев были недоношенными, а это в 2 раза выше, чем у здоровых матерей. Маловесные новорожденные с задержкой внутриутробного развития составили 16%, тогда как в контроле – 8%. Показатель перинатальной смертности в группе матерей с обострением воспалительного процесса в печени в 3 раза превышал результаты здоровых женщин.

Известно, что при глистной инвазии наблюдается нарушение свертываемости крови путем изменения ферментативной функции печени [36]. Одним из негативных воздействий гельминтов на организм беременных женщин является формирование гиповитаминозов [36, 37]. Дефицит витаминов, обладающих антиоксидантными свойствами, обеспечивающих устойчивость организма к негативным воздействиям, способствует снижению иммунитета и может привести к нарушению закладки систем органов у плода.

Инвазия гельминтами оказывает токсический эффект на эмбрион. Так, в экспериментах на мышах показано, что трипсиновый и  $\alpha$ -химотрипсиновый ингибиторы из тканей *A. suum* и *A. lumbricoides* обладают эмбриотоксическим и тератогенным действиями, достоверно повышая число погибших эмбрионов и

вызывая рост числа зародышей с расщелиной неба, микрогнатией, сращением ребер, грыжей спинного и головного мозга [25, 26, 27, 28]. Введение гомогената из тегументов аскарид беременным мышам на ранних стадиях органогенеза приводит к снижению числа живых эмбрионов, росту количества резорбций, уменьшению оксификации скелета, а также увеличению числа эмбрионов с экзенцефалией, краниомегалией и внутренней гидроцефалией [25, 26, 27, 28]. Изучение беременных самок после сенсibilизации показало снижение массы тела, увеличение уровней вагинальных гемморагий, внутриматочных резорбций и смертности [27].

Имеются экспериментальные данные о гено- и цитотоксическом действии метаболитов трихинелл на соматические и эмбриональные клетки хозяина [11]. Установлено, что экспериментальный трихинеллез сопровождается увеличением количества апоптотических клеток, а также повышением однопочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК в клетках костного мозга самок мышевидных грызунов и в клетках их эмбрионов. При заражении трихинеллами в костном мозге беременных животных и в клетках их эмбрионов отмечается повышение числа полихроматофильных эритроцитов с микроядрами [11]. При заражении животных трихинеллами наблюдается рост пред- и постимплантационной гибели эмбрионов, уменьшение средней массы эмбрионов и их краниокаудального размера. Метаболиты трихинелл нарушают антенатальное развитие потомства мышевидных грызунов, приводя к снижению массы и численности новорожденных, а также повышают индекс гибели животных в постнатальном периоде [11].

## Лечение

Терапии гельминтозов у беременных уделяется мало внимания. Между тем, гельминты могут нанести существенный вред здоровью беременной. Поэтому следует считать обоснованным положе-



ние, выдвинутое М.А. Петровым-Маслаковым, о том, что в случае обнаружения гельминтов обязательно их изгнание с учетом особенностей организма каждой беременной [12]. Вопрос о применении того или иного средства и способа дегельминтизации должен решаться индивидуально с учетом характера глистной инвазии, срока беременности, переносимости тех или иных медикаментов, противопоказаний к назначению тех или иных глистогонных средств.

Современная фармакология располагает значительным арсеналом химических веществ, применяемых против гельминтов. Подавляющее большинство этих средств противопоказаны при беременности, тем не менее, имеются препараты, которые не мешают нормальному протеканию беременности и развитию плода. Так, для лечения аскаридоза и энтеробиоза у беременных используется пиперазина адипинат. Данный препарат избирательно парализует мышцы аскарид и других нематод, обездвиженные гельминты выводятся из кишечника благодаря перистальтике. Действует он на половозрелых и неполовозрелых особей обоего пола [5].

В научной литературе встречаются сообщения о применении для лечения гельминтозов у беременных альбендазола и мебендазола [23, 24, 29, 30, 32]. Так, в 2005 году Alison M. Elliott et al. [39] проводили лечение анкилостомоза и аскаридоза альбендазолом женщин Уганды, находящихся на 2 и 3 триместрах беременности. Препарат назначался в дозировке 400 мг в сутки в два приема после еды. В свою очередь, J.L. Ndibazza et al. [31] также применяли альбендазол и пиперазин для лечения у беременных паразитозов. У пролеченных альбендазолом женщин не наблюдалось преждевременных родов, низкого веса плодов, перинатальной смертности и тератогенных эффектов после примененного лечения [33, 34, 35]. Однако инфекционисты и гельминтологи согласны с одним выводом: при применении антгельминтных средств для лечения беременных женщин нужно четко рассчи-

тать дозу применяемого лекарственного средства. Рекомендуется также сочетанное применение витаминных комплексов, содержащих железо, фолиевую кислоту, витамины группы А, Е, В, С при проведении дегельминтизации [6, 22, 23, 38, 39].

### Заключение

Таким образом, проблема гельминтозов остается достаточно актуальной. Широкое распространение, ежегодная регистрация новых случаев требуют усиленного внимания к данной проблеме со стороны санитарных служб и врачей. Своевременное выявление и грамотный подбор препаратов для проведения противогельминтной терапии позволит сократить число случаев тяжелого течения глистных инвазий и их осложнений у беременных и плода.

### Литература

1. Арапова, О.Н. Хронический описторхоз у беременных женщин: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.11 / О.Н. Арапова. – Тюмень, 2010. – 18 с.
2. Бодня, Е.И. Проблема профилактики паразитозов в современных условиях // Новости медицины и фармации. – 2005. – № 20-22. – С. 9.
3. Богатырева-Панченко, Л.М. Влияние гельминтозов на течение беременности, родовой акт, плод: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01 / Л.М. Богатырева-Панченко. – Харьков, 1972. – 15 с.
4. Гасанова, Т.А. Микробиоценозы при воспалительных заболеваниях репродуктивных органов женщин и перинатальной патологии: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.01 / Т.А. Гасанова. – Саратов, 2006. – 47 с.
5. Давыдова, Ю.В. Беременность и гельминтозы / Ю.В. Давыдова // Медицинские аспекты здоровья женщины. - № 5. - 2009.- С. 56-60.
6. Даянов, Ф.В. Аскаридоз беременных и его лечение: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01 / Ф.В. Даянов. – Горький, 1967. – 24 с.
7. Колосовский, Б.С. К вопросу о шистосоматидных дерматитах в Нарочанской зоне отдыха / Б.С. Колосовский, Т.М. Солонец, Т.Е. Дороженкова // Здравоохранение Беларуси. – 1995. – № 8. – С. 32–34.
8. Куропатенко, М.В. Токсокароз у беременных женщин / М.В. Куропатенко, Т.И. Шпилева

- // Актуальные вопр. мед. биологии и паразитологии: материалы юбилейн. науч.-практ. конф., посвящ. 200-летию каф. биологии им. акад. Е.Н. Павловского. – СПб., 2009. – С. 61.
9. Матвиенко, Н.А. Система мать–плацента–плод при высоком риске внутриутробного инфицирования : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.01 / Н.А. Матвиенко. – М., 2000. – 24 с.
  10. Озерецковская, Н.Н. Органная патология в острой стадии тканевых гельминтозов: роль эозинофилии крови и тканей, иммуноглобулинемии Е, G4 и факторов, индуцирующих иммунный ответ / Н.Н. Озерецковская // Мед. паразитол. и паразитар. болезни. – 2000. – № 3. – С. 3–8.
  11. Пашинская, Е.С. Повреждения наследственного аппарата соматических и эмбриональных клеток хозяина при трихинеллезе во время беременности: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 03.02.11 / Е.С. Пашинская. – Витебск, 2012. – 16 с.
  12. Петров-Маслаков, М.А. Бесплодие женщины: науч.-попул. очерк / М.А. Петров-Маслаков. – Ленинград.– Медицина.– 1958. – 48 с.
  13. Сергиев, В.П. Значение паразитарных болезней в патологии человека / В.П. Сергиев // Мед. паразитология и паразитарные болезни.– 1991.– N 5.– С. 3–6.
  14. Сергиев, В.П. Регистрируемая и истинная распространенность паразитарных болезней / В.П. Сергиев // Мед. паразитология и паразитарные болезни.– 1991.– N 2. – С. 3–5.
  15. Скрипова, Л.В. Ситуация по гельминтозам в Республике Беларусь и ближайшие задачи по ее улучшению / Л.В. Скрипова, Н.А. Романенко, В.Г. Жуковский // Мед. паразитология и паразитарные болезни.–1992.– N 5–6.– С. 27–29.
  16. Сухих, Г.Т. Иммунология беременности / Г.Т. Сухих, Л.В. Ванько. – М.: Изд. РАМН, 2003. – 398 с.
  17. Чистенко, Т.Н. Гельминты и их роль в патологии человека / Т.Н. Чистенко // Медицинские новости. – 1996. – №2. – С. 20-25.
  18. Чобанов, Р.Э. Экономическая эффективность мероприятий по борьбе с кишечными нематодами / Р.Э. Чобанов // Мед. паразитология и паразитарные болезни.–1984.– N 3.– С. 16–19.
  19. Шехтман, М.М. Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных / М.М. Шехтман. – М.: Триада-Х, 2003. – 814 с.
  20. Шехтман М.М. Лекарственная терапия соматических заболеваний у беременных и родильниц / М. Шехтман, О.В. Козина // Гинекология. – 2008.– № 6.– С.13-22.
  21. Шехтман, М.М. Гельминтозы у беременных / М. Шехтман, О.В. Козина // Гинекология.– 2008.– № 5. – С.49-51.
  22. A randomised controlled trial of the effects of albendazole in pregnancy on maternal responses to mycobacterial antigens and infant responses to bacille Calmette-Guérin (BCG) immunisation / A.M. Elliott [et al.] // BMC Infectious Diseases. – 2005. – Vol. 5. – P. 115–123.
  23. Bennett, A. Reducing intestinal nematode infection: efficacy of albendazole and mebendazole / A. Bennett, H. Guyatt // Parasitol Today. – 2000. – Vol. 16, № 2. – P. 71–74.
  24. Bialek, R. Parasitic infections in pregnancy and congenital parasitoses. II. Helminth infections / R. Bialek, J. Knobloch // Geburtshilfe Neonatol. – 1999. – Vol. 203, № 3. – P. 128–133.
  25. Blaszkowska, J. Embryotoxic and teratogenic action of trypsin inhibitor of *Ascaris lumbricoides* in mice / J. Blaszkowska // Acta Parasitologica. – 1998. – Vol. 43, № 2. – P. 103–108.
  26. Blaszkowska, J. The effect of *Ascaris suum* homogenate and its proteolysis inhibitors on chicken embryos / J. Blaszkowska // Helminthologia. – 1998. – Vol. 35, № 1. – P. 37–42.
  27. Blaszkowska, J. The effect of *Ascaris tegumental* homogenate and  $\alpha$ -chymotrypsin inhibitor isolated from the nematode on mouse pregnancy / J. Blaszkowska // Helminthologia. – 1999. – Vol. 36, № 4. – P. 225–234.
  28. Blaszkowska, J. Disturbance of mouse pregnancy after injection of *Ascaris* homogenate during early organogenesis / J. Blaszkowska // Wiad. Parazytol. – 2000. – Vol. 46, № 3. – P. 369–378.
  29. Christian, P. Antenatal anthelmintic treatment, birth weight, and infant survival in rural Nepal / P. Christian, S.K. Khatry, K.P. Jr. West // Lancet. – 2004. – Vol. 364. – P. 981–983.
  30. Effect of mebendazole therapy during pregnancy on birth outcome / N.R. De Silva [et al.] // Lancet. – 1999. – Vol. 353. – P. 1145–1149.
  31. Effects of Deworming during Pregnancy on Maternal and Perinatal Outcomes in Entebbe, Uganda: A Randomized Controlled Trial / J.L. Ndibazza [et al.] // Clinical Infectious Diseases. – 2010. – Vol. 50. – P. 531–540.
  32. Haider, B.A. Effect of administration of antihelminthics for soil transmitted helminths during pregnancy (Review) / B.A Haider, Q. Humayun, Z.A. Bhutta // Clinical Infectious Diseases. – 2009. – Vol. 23. – P. 1231–1236.
  33. Highlights of human toxocariasis / J.F. Magnaval [et al.] // Korean J. Parasit. – 2001. – Vol. 39. – P. 1–11.
  34. Management of biliary ascariasis in pregnancy / O.J. Shan [et al.] // World. J. Surg. – 2005. – Vol. 29, № 10. – P. 1294–1298.
  35. Prenatal allergic sensitization to helminth antigens in offspring of parasite-infected mothers / G.J. Weil [et al.] // Clinical Trials. – 1983. – Vol.

71. – P. 1124–1129.
36. Prevalence and risk factors have contacted intestinal parasitoses in pregnant women and their attitude to weight at a birth of the baby / R. Rodriguez-Garcia [et al.] // *Jinaecol. Obstet. Meh.* – 2002. – Vol. 70. – P. 338–343.
37. Prenatal immune priming with helminth infections: arasitespecific cellular reactivity and Th1 and Th2 cytokine responses in neonates / D.S. Pit [et al.] // *Allergy.* – 2000. – Vol. 55. – P. 732–739.
38. Santico, R. Effects of chronic parasitosis on women's health / R. Santico // *Int. J. Gynaecol. Obstet.* – 1997. – Vol. 58, № 1. – P. 129–136.
39. The impact of helminths on the response to immunization and on the incidence of infection and disease in childhood in Uganda: design of a randomized, double-blind, placebo-controlled, factorial trial of deworming interventions delivered in pregnancy and early childhood / A.M. Elliott [et al.] // *Clinical Trials.* – 2007. – Vol. 4. – P. 42–57.

*Поступила 02.04.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

**Сведения об авторах:**

Пашинская Е.С. - к.б.н., ассистент кафедры медицинской биологии и общей генетики УО «ВГМУ»;  
Логишинец И.А. - к.б.н., доцент кафедры медицинской биологии и общей генетики УО «ВГМУ»;  
Побяржин В.В. - к.б.н., доцент кафедры медицинской биологии и общей генетики УО «ВГМУ»;  
Бекиш В.Я. - д.м.н., профессор, зав. кафедры медицинской биологии и общей генетики УО «ВГМУ»;  
Соболевская И.С. - к.б.н., старший преподаватель кафедры гистологии, цитологии и эмбриологии УО «ВГМУ».

---

---

© ВОЛКОВА М.В., КУНДЕР Е.В., 2013

## РАННИЙ АРТРИТ: АКТУАЛЬНОСТЬ, ИММУНОПАТОЛОГИЯ, ДИАГНОСТИКА

ВОЛКОВА М.В.\*, КУНДЕР Е.В.\*\*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»\*

ГУО «Белорусская медицинская академия последипломного образования»\*\*

**Резюме.** В обзоре обобщены современные знания об иммунопатогенезе ранних артритов в контексте обнаружения специфических иммунологических изменений при раннем ревматоидном артрите. Проанализированы актуальные тенденции диагностики и дифференциальной диагностики ранних стадий воспалительного процесса в суставах, возможность использования и аналитические характеристики классификационных критериев ревматоидного артрита для ранних стадиях заболевания. Суммированы сведения о чувствительности и специфичности лабораторных маркеров при раннем ревматоидном артрите.

**Ключевые слова:** *ранний артрит, ранний ревматоидный артрит, патогенез, иммуноглобулины, ферментативные свойства.*

**Abstract.** In this review current knowledge about immunopathogenesis of early arthritis in the context of specific immunological changes detection in early rheumatoid arthritis is generalized. We have analyzed urgent trends in diagnosis and differential diagnosis of early stages of the inflammatory process in the joints, and the possibility to use classification criteria for rheumatoid arthritis and their analytical characteristics for early stages of the disease. Also we have summarized the data about sensitivity and specificity of laboratory markers for early rheumatoid arthritis.

**Key words:** *early arthritis, early rheumatoid arthritis, pathogenesis, immunoglobulins, enzymatic properties.*

Ранние стадии воспалительных ревматических заболеваний находятся в фокусе пристального внимания современных ревматологов. Ранним артритом принято считать воспалительный процесс в суставах длительностью до 6 месяцев, при этом суставной синдром характеризуется припухлостью суставов в сочетании с болевыми ощущениями и скованностью движений [35].

Особое место в группе ранних артритов занимает ранний ревматоидный

артрит. Ранняя стадия воспалительного поражения суставов является тем критическим периодом, когда максимально ранняя диагностика и дифференциальная диагностика ревматоидного артрита, позволяющая верифицировать заболевание на начальном этапе, является принципиально важным моментом. Возможности современной ревматологии позволяют существенно повлиять на отдаленные исходы ревматоидного артрита, начав лечение в максимально ранние сроки. Концепция раннего ревматоидного артрита включает так называемое «окно возможности» - период существования артрита, когда адекватная терапия заболевания является наиболее эффективной, может радикально

---

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра госпитальной терапии. E-mail: margovolkova@gmail.com – Волкова Маргарита Васильевна.

изменить характер течения болезни, существенно улучшить прогноз, значительно сократить все виды расходов, связанные с этим заболеванием.

Целью данного обзора является определить особенности иммунопатогенеза ранних артритов и современные методы их диагностики.

### **Определение, эпидемиология, социально-экономическая значимость**

В настоящее время не существует единой классификации артритов в зависимости от времени начала заболевания. Зарубежные исследователи вводят такие термины, как «ранний артрит» («early arthritis»), «ранний воспалительный артрит» («early inflammatory arthritis») и «ранний ревматоидный артрит (pРА)» («early rheumatoid arthritis»), длительность которых составляет не более 6 месяцев от начала первых симптомов, однако данные термины могут использоваться и для описания артрита длительностью до одного года [35]. Большое значение в концепции ранних артритов имеет pРА. При описании когорт пациентов с pРА используется термин «очень ранний РА» («very early rheumatoid arthritis») при длительности симптомов не более 12 недель и «ранний РА» или «ранний установившийся РА» (в течение 1-2 лет от начала заболевания) [31].

В девяностых годах XX-го столетия для решения задачи ранней диагностики и лечения артрита во всем мире сформировались когорты пациентов с ранними артритом, а также были созданы клиники раннего артрита, функционирование которых позволило усовершенствовать систему диагностики pРА.

Значимость проблемы раннего артрита подчеркивает создание в 2007 году рекомендаций EULAR (European League Against Rheumatism) по ведению пациентов с ранним артритом [35]. На французской когорте ESPOIR было установлено, что выполнение указанных рекомендаций сопровождается значительным снижением риска рентгенологической прогрессии

артрита в течение 1 года (OR 1,98 (95%CI: 1,08-3,62)) и существенно лучшим функциональным статусом пациентов на протяжении 2 лет (OR 2,36 (95%CI: 1,17-4,67)) [34].

Огромное внимание к проблеме ранних артритов обусловлено, несомненно, их социально-экономической значимостью. Известно, что в целом ревматические заболевания занимают одно из ведущих мест по степени негативного влияния на современное общество [6], в то же время рост распространенности ревматических болезней наблюдается во всех странах мира. Согласно результатам международных эпидемиологических исследований когорт пациентов с ранним воспалительным артритом распространенность данной патологии среди всего взрослого населения составляет 115-271 случай на 100000 лиц [41].

Среди хронических аутоиммунных заболеваний костно-мышечной системы одним из наиболее распространенных и, несомненно, значимых является РА. В начале XXI века распространенность РА в разных странах мира составляет от 0,22% до 0,9%, в среднем 0,5% и встречается в 20-50 случаях на 100000 человек в год, преимущественно у женщин старше 40 лет [48]. В Российской Федерации распространенность РА в среднем составляет 0,61%, а длительность заболевания у пациентов с впервые выявленным РА составляет около 7 лет [8].

В Республике Беларусь в 2011 году отмечен рост абсолютного количества лиц с заболеваниями костно-мышечной системы (869714 человек по сравнению с 866486 человек в 2010 году). Наблюдается рост заболеваемости РА (249,1 на 100000 населения в 2011 году по сравнению с 238,5 на 100000 населения в 2010 году, или в абсолютных цифрах 19303 случая в 2011 году по сравнению с 18819 случаев в 2010 году) [1].

Анализируя распространенность ранних артритов, необходимо принимать во внимание и величину данного показателя для реактивного артрита (ReA), которая составляет в популяции от 30 до 200 случаев на 100 тыс. населения [22]. Частота раз-

вития РеА на фоне потенциально триггерных инфекций в среднем равна 1-4% [22]. Заболеваемость урогенными артритами составляет 4,6-13 на 100 тыс. населения, а постэнтероколитическими – 5-14 случаев на 100 тыс. населения [22].

Актуальность ревматических заболеваний не ограничивается только их растущей распространенностью, а определяется также влиянием на продолжительность и качество жизни, показатели нетрудоспособности.

Известно, что РА приводит к повышению частоты смертности пациентов, сокращая продолжительность жизни в среднем на 3-10 лет [48]. Факторами риска высокой смертности при РА являются пожилой возраст, белая раса, низкая масса тела, высокие уровни СОЭ и СРБ, высокие значения индекса DAS28, ревматоидные узелки и использование преднизолона. Наоборот, лечение базисным препаратом - метотрексатом позволяет снизить смертность на 40% [15]. Причинами летальных исходов чаще всего становятся инфекции, поражение почек и желудочно-кишечного тракта, кардиоваскулярная патология, лимфопролиферативные заболевания.

Увеличение смертности пациентов с РА связано в большинстве случаев с высоким риском развития при данной патологии кардиоваскулярных осложнений, а именно раннего атеросклероза, приводящего к ишемической болезни сердца, инфаркту миокарда, инсультам и тромбозам. Кроме традиционных факторов риска (курение, повышенный индекс массы тела и т.д.), в реализации кардиоваскулярной патологии при РА большую роль играет воспаление, т.к. хронический системный воспалительный процесс непосредственно участвует в развитии поражения миокарда, клапанного аппарата и сосудов.

Провоспалительные цитокины, циркулирующие в высоких концентрациях в крови пациентов с ревматическими заболеваниями, способны активировать клетки эндотелия, стимулировать продукцию молекул адгезии, селектинов, факторов роста, снижать продукцию оксида азота.

Это состояние называется дисфункцией эндотелия и является начальным этапом атеросклеротического процесса. Дополнительными факторами риска кардиоваскулярной патологии при РА являются высокая активность заболевания, серопозитивность, физическая нетрудоспособность, деструктивные процессы в суставах, экстраартикулярные проявления заболевания, использование глюкокортикоидов.

РА, как и другие ревматические заболевания, оказывает значительное негативное влияние и на качество жизни пациентов. Оно страдает, прежде всего, из-за влияния самого заболевания, риска развития сопутствующей патологии (кардиоваскулярные проблемы, склонность к интеркуррентным инфекциям, остеопороз), а также лечения (необходимость постоянного приема лекарственных препаратов, частое развитие побочных эффектов).

Ревматические заболевания занимают лидирующие позиции по показателям нетрудоспособности. Так, в 2004 году в Российской Федерации болезни костно-мышечной системы заняли 2 место по числу случаев нетрудоспособности и 3 место по количеству дней нетрудоспособности [5], а по показателю первичного выхода на инвалидность ревматологические заболевания заняли 3 место после болезней сердечно-сосудистой системы и онкопатологии.

В Республике Беларусь в 2011 году отмечен рост показателей временной нетрудоспособности, связанной с болезнями костно-мышечной системы (по числу случаев нетрудоспособности на 100 работающих 8,84 в 2011 году по сравнению с 8,44 в 2010 году; по числу дней временной нетрудоспособности 87,48 в 2011 году по сравнению с 83,09 в 2010 году) наблюдается также рост показателей первичной инвалидности. Так, в 2011 году первичная инвалидность составила 4,93 по сравнению с 4,63 в 2010 году. Увеличилось количество инвалидов трудоспособного возраста и составило 2,99 в 2011 году по сравнению с 2,94 в 2010 году [1].

При РА трудовой прогноз напрямую связан с клиническими особенностями за-

болевания и эффективностью проводимой терапии. В отсутствии лечения в течение 5 лет около 50%, а через 10-15 лет почти 90% пациентов с РА становятся инвалидами [2]. Ранние стадии РА являются критическими в отношении структурных изменений в суставах. Установлено, что костные эрозии развиваются в первые 6 месяцев заболевания приблизительно у 40% пациентов и более чем у 70% пациентов в первые два года от начала симптомов [52].

При рРА факторами риска неблагоприятного трудового прогноза являются: устойчивый полиартрит, высокая активность, серопозитивность, выраженные функциональные нарушения, появление эрозий в течение первого года болезни, системные проявления, слишком молодой или пожилой возраст дебюта РА, плохие социально-экономические условия жизни. Прогноз при РА столь же неблагоприятен, как при сахарном диабете 1 типа, лимфогранулематозе 4 степени, одновременном поражении 3 коронарных артерий [4]. Перспективы улучшения прогноза при РА напрямую связаны с началом адекватной базисной терапии на раннем, додеструктивном этапе заболевания.

Отличаются высокими значениями и стоимостными показателями РА. Складываясь из прямых (оплата диагностических исследований, стационарного и амбулаторного лечения, заработная плата медицинского персонала, оплата немедицинского обслуживания пациентов) и непрямых (недопроизведенная продукция вследствие нетрудоспособности) расходов, стоимость РА составляет, например, в Италии 1600 миллионов евро, при этом расходы на одного пациента зависят от активности болезни и функционального статуса в каждом конкретном случае и составляют от 3718 до 22946 евро [23].

Таким образом, ранний артрит представляет собой актуальную проблему современной ревматологии, а верификация диагноза РА на ранних стадиях позволяет своевременно назначить адекватную терапию, включая базисные средства патогенетической направленности, что значительно

но изменяет характер течения заболевания, снижает темпы рентгенологической прогрессии болезни, существенно улучшает прогноз заболевания и, в конечном итоге, способствует достижению клинико-лабораторной ремиссии.

### **Иммунопатогенетические особенности ранних стадий ревматоидного артрита**

РА является гетерогенным заболеванием, в основе патогенеза которого лежит сложное сочетание генетически обусловленных и приобретенных дефектов нормальных регуляторных механизмов, ограничивающих патологическую активацию иммунной системы в ответ на потенциально патогенные, а нередко и физиологические стимулы.

Многообразие иммунопатогенетических механизмов обуславливает широкий диапазон клинических, патологических и иммунологических проявлений, при сочетании которых формируется понятие о РА как о клинико-иммунологическом синдроме. Несмотря на интенсивные исследования, РА по-прежнему остается заболеванием с неизвестной этиологией. Существуют серьезные основания предполагать, что даже если удастся доказать роль какого-либо инфекционного агента в развитии некоторых форм РА, его элиминация с помощью вакцинации, антибактериальных или противовирусных препаратов вряд ли позволит «излечить» заболевание, т.к. потенциальный этиологический агент вероятнее всего принимает опосредованное участие в патогенезе заболевания, например, посредством активации иммунопатологического процесса, за счет «молекулярной» мимикрии или других, пока неизвестных механизмов.

Предполагается, что самый ранний этап в иммунопатогенезе РА определяется не специфическим иммунным распознаванием «артритогенного» агента, а связан с неспецифической воспалительной реакцией, которая индуцирована различными стимулами. В дальнейшем в результате «рекрутирования» иммунных клеток в по-

лости сустава происходит формирование эктопического лимфоидного органа, клетки которого запускают синтез аутоантител к компонентам синовиальной оболочки.

Ведущим механизмом персистирующего воспаления при РА является подавление апоптоза клеток воспаления. Так, высвобождаемый фибробластами ИФН- $\beta$ , стимулирует выживание Т-клеток посредством повышения уровня противоапоптотического митохондриального протеина Bcl-X<sub>L</sub> [46]. Существуют и другие фибробласт-ассоциированные механизмы, способствующие выживанию Т-клеток при РА.

В связи с формированием концепции рРА внимание исследователей привлекают особенности РА на ранних стадиях, которые могут помочь в идентификации мишеней для новых лекарственных препаратов патогенетической направленности и максимально быстро и эффективно повлиять на исход болезни.

Однако, например, в ходе сравнительного исследования состояния синовиальной оболочки при ранней и развернутой стадии РА, включающего изучение экспрессии ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6, а также инфильтрации синовиальной оболочки CD4+, CD8+ Т-лимфоцитами, CD22+ В-лимфоцитами, CD38+ плазматическими клетками, тучными клетками, макрофагами и фибробластами, различий получено не было [11].

Аналогичные результаты были получены и при исследовании цитокинового спектра при рРА по сравнению с развернутой стадией. Экспрессия ИФН- $\gamma$ , ИЛ-10 и ИЛ-12 mRNA в мононуклеарных клетках синовиальной жидкости не различалась у пациентов с рРА и развернутым РА [37]. В то же время при изучении роли цитокинов в патогенезе рРА установлено, что такие цитокины, как фактор роста фибробластов или эпидермальный фактор роста, могут обеспечивать экспансию стромальной ткани, что способствует персистенции воспаления и приводит к деструкции суставов. Другая группа цитокинов, какие как ИЛ-2, ИЛ-15, G-CSF, GM-CSF, могут ингибировать апоптоз лейкоцитов, что, в

свою очередь, вызывает повреждение тканей, характерное для рРА [49].

Среди новых маркеров рРА наибольшее внимание привлекают цитокины, продуцируемые активированными В-клетками, APRIL (TNFSF 13a) - лиганд, индуцирующий пролиферацию, и BAFF (TNFSF 13b) - фактор, активирующий В-клетки. Обнаружена сильная положительная взаимосвязь между инфильтрацией синовиальной оболочки плазматическими клетками и уровнем APRIL в синовиальной жидкости пациентов с РА [54]. BAFF, как и APRIL, является фундаментальным В-клеточным фактором выживания. При рРА отмечается повышение сывороточного уровня BAFF по сравнению с развернутым РА [24].

Не менее важным механизмом в патогенезе рРА является вовлечение Toll-like рецепторов - интегрального компонента врожденного иммунитета. Toll-like рецепторы были описаны как семейство распознавательных рецепторов, способных различать антигены микробного происхождения и собственные антигены [50]. Было показано, что иммунные комплексы, содержащие хроматин, активируют В-клетки через лиганд Toll-like рецептора Toll-like receptor ligand (TLR) 9. Иммунные комплексы инициируют синтез РФ посредством взаимодействия В-клеточного рецептора и TLR9 [18].

Ведущую роль в иммунопатогенезе РА играют В-лимфоциты, продуцирующие аутоантитела, прежде всего, РФ и АЦЦП, обеспечивающие отложение иммунных комплексов в суставах. Эти клетки также являются одними из ведущих антиген-презентирующих факторов и обеспечивают активацию Т-лимфоцитов посредством экспрессии молекул ко-стимуляции. В-лимфоциты продуцируют хемокины, которые стимулируют инфильтрацию лейкоцитами синовиальной оболочки, формирование эктопических лимфоидных структур, ангиогенез и синовиальную гиперплазию [33].

Однако участие В-лимфоцитов в ранней стадии РА остается недостаточно из-



ученным. Представляет интерес обнаруженное достоверное снижение pre-switch В-клеток памяти (IgD+ CD27+) в периферической крови пациентов с очень ранним артритом (с продолжительностью болезни менее 6 недель) по сравнению с контролем [10]. Вероятно, данный феномен связан с миграцией субпопуляций В-лимфоцитов в синовиальную оболочку, обеспечивающей развитие синовита.

Таким образом, на сегодняшний день не установлено существенных различий между иммунопатогенетическими событиями на ранних и более поздних стадиях РА, однако продолжается поиск биологических маркеров ранних стадий РА, которые являются потенциальными мишенями для высокоэффективной патогенетической терапии.

### **Классификационные критерии раннего ревматоидного артрита, характеристика клинических особенностей.**

#### **Дифференциальная диагностика**

Долгое время диагноз РА выставлялся на основании классификационных критериев ACR 1987 года [51], которые, фактически, являются описанием развернутой клинической картины достаточно далеко зашедшего серопозитивного РА и не годятся для решения задач ранней диагностики заболевания. В 2010 году были разработаны новые классификационные критерии РА, акцентированные на раннюю диагностику болезни [9]. При апробации критериев EULAR/ACR 2010 на когорте пациентов с ранними артритами их чувствительность составила 74%, специфичность 66% [28].

Сравнительный анализ аналитических характеристик критериев 1987 и 2010 годов не позволяет сделать однозначные выводы. Некоторые авторы указывают на более высокую чувствительность критериев 2010 года (80%) по сравнению с критериями 1987 года (56%) для пациентов с рРА [47]. В других исследованиях получены несколько другие аналитические характеристики для критериев EULAR/

ACR 2010: чувствительность 51%, специфичность 90%, однако они значимо не отличались от аналогичных характеристик критериев ACR 1987 года [26]. Результаты приведенных исследований позволяют сделать вывод об отсутствии абсолютных критериев РА, что подразумевает необходимость анализа результатов клинического обследования, а также инструментальных и лабораторных исследований в каждом конкретном случае. Однако иногда диагноз верифицируется лишь в ходе динамического наблюдения за пациентом, что не исключает при этом назначения лекарственных препаратов патогенетического действия.

Дифференциальная диагностика ранних артритов подразумевает, прежде всего, исключение рРА, т.к. данное заболевание отличается агрессивным течением и наихудшим прогнозом, а терапия, назначенная на начальных этапах болезни, может существенно повлиять на исходы заболевания.

С типичной клинической картины (симметричный полиартрит суставов кистей) РА дебютирует лишь не более чем в 60% случаев [3]. Часто суставной синдром бывает асимметричным, возникают теносиновиты сухожилий сгибателей и разгибателей, поражаются околосуставные ткани. Характерными симптомами рРА являются положительный симптом перекрестного сжатия, утренняя скованность, сопровождающаяся невозможностью сжать пальцы в кулак и сгибательная контрактура суставов кистей.

Особенно сложные диагностические ситуации возникают при моно- или олигоартрите, асимметричном артрите, артралгии без признаков синовита, обнаружении урогенитальной инфекции при клинике РА, отсутствии изменений при лабораторном и инструментальном обследовании.

В контексте ранней диагностики РА были разработаны рекомендации для врачей общей практики [30] направлять на консультацию к ревматологу больных с подозрением на РА при наличии хотя бы одного из следующих симптомов: 3 и

более припухших суставов; утренняя скованность в суставах в течение 30 минут и более; вовлечение пястно- и плюснефаланговых суставов с положительными симптомами «сжатия» кистей и стоп.

В Институте ревматологии РАМН также разработан алгоритм ранней диагностики РА [7], при этом рекомендуется подозревать РА даже у пациентов с 1-2 припухшими суставами.

Согласно результатам наблюдения за пациентами с ранним артритом в рамках действующей в Российской Федерации программы РАДИКАЛ (Ранний Артрит: Диагностика, Исход, Критерии, Активное Лечение) установлено, что РА может быть вставлен при первичном обследовании примерно у 57% пациентов, а 1/3 всех случаев раннего артрита классифицируется как НА [7].

Термин НА был введен Лейденской клиникой раннего артрита в Нидерландах, когда возникла необходимость описывать случаи воспалительного артрита, который не соответствовал критериям ни одного заболевания [21]. В настоящее время диагноз НА остается диагнозом исключения и это, безусловно, влияет на терапевтическую стратегию, порой затрудняя выполнение современной ревматологической стратегии «*treat to target*», то есть достижения ремиссии заболевания с помощью доступных в настоящее время терапевтических средств. Поэтому все случаи НА должны рассматриваться как потенциальные случаи персистирующего воспалительного артрита, включая РА. Частота встречаемости НА в когортах ранних артритов варьирует от 23% до 81%. Частота трансформации НА в РА составляет от 13% до 54%, а 20-60% случаев НА заканчиваются выздоровлением [32].

На этапе ранней диагностики артрита важно дифференцировать также оРА, т.к. своевременная эрадикация инфекции и адекватная противовоспалительная терапия являются условиями, предотвращающими хронизацию заболевания. Несмотря на частую обращаемость пациентов с данной патологией к врачу, зачастую

выставляется синдромный диагноз, а диагностические критерии РеА при первом обследовании не используются. С другой стороны, существующие критерии диагностики РеА являются неоднозначными и требуют дальнейшего совершенствования.

Особенно неоднозначной является ситуация с определением триггерной инфекции, поскольку методы, указанные в критериях, имеют различные аналитические характеристики, результаты, полученные методом ПЦР, могут варьировать в зависимости от метода экстракции ДНК, а распространенность хламидийной инфекции в популяции составляет около 80% [25].

Вследствие этих причин, данные о частоте встречаемости и распространенности РеА являются недостаточными, а возможности диагностики данного заболевания ограничены.

На ранних стадиях артрит требует дифференциальной диагностики также с системными заболеваниями соединительной ткани (системной красной волчанкой, системной склеродермией, дерматомиозитом), инфекционными артритами, артритами при онкопатологии, микрокристаллическими артритами, остеоартрозом.

Для ранней диагностики воспалительных артропатий современный ревматолог использует следующие средства: классификационные критерии конкретных нозологических форм, анализ которых возможен только на основании результатов тщательного клинического обследования; инструментальная диагностика (традиционная рентгенография, магнитно-резонансная томография и ультразвуковое исследование суставов); лабораторная диагностика (биохимическое, иммунологическое, иммуногенетического исследования), инвазивные методы (артроцентез, артроскопия, биопсия синовиальной оболочки).

Несмотря на широкий арсенал диагностических средств, наличие разработанных критериев и международных рекомендаций, в ранней диагностике и

дифференциальной диагностике артритов существуют объективные трудности. Важнейшим инструментом в практике ревматолога, существенно повышающим вероятность постановки правильного диагноза, является лабораторное обследование пациента.

### **Лабораторная диагностика. Биомаркеры раннего ревматоидного артрита**

Концепция ранних артритов предполагает максимально быструю диагностику суставного синдрома для верификации нозологической формы с определением чувствительных и высокоспецифичных лабораторных показателей (биомаркеров). Кроме подтверждения диагноза, в задачи лабораторной диагностики входит мониторинг активности и тяжести патологического процесса, что позволяет судить о характере течения заболевания, эффективности проводимой терапии, а также прогнозировать развитие и исход заболевания.

Основными биомаркерами рРА являются РФ и АЦЦП.

РФ представляет собой аутоантитела различных классов (IgA, IgM, IgG), направленные против Fc-фрагмента IgG. РФ является наиболее описанным РА-ассоциированным маркером. При наличии РФ в сыворотке крови РА называют серопозитивным, при его отсутствии – серонегативным.

На сегодняшний день убедительно доказано, что РФ недостаточно специфичный показатель (специфичность IgM РФ составляет 80-93%, чувствительность 50-90%). РФ обнаруживается у 60-90% пациентов с развернутым РА и менее чем у 50% пациентов с рРА [16]. Данный маркер может обнаруживаться при заболеваниях легких, аутоиммунных болезнях щитовидной железы, онкологической патологии, системных заболеваниях соединительной ткани, системных васкулитах. Кроме того, серопозитивными по РФ являются 3-5% здоровых лиц, а у пожилых людей значения серопозитивности увеличиваются и составляют 10-30% [17].

В настоящее время РФ продолжает оставаться биомаркером РА, входит в состав классификационных критериев заболевания. Однако Европейский комитет ESCISIT (European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics) обращает внимание, что РФ может рассматриваться лишь как один из нескольких прогностических маркеров для обнаружения пациентов с персистирующим и/или эрозивным артритом, а также РФ не рекомендуется использовать в качестве диагностического маркера РА, в первую очередь, за счет его низкой специфичности. В настоящее время определение РФ целесообразно на этапе скрининга пациентов с суставным синдромом.

Большое значение в иммунопатогенезе рРА имеют механизмы гуморального иммунитета, в частности продукция иммуноглобулинов и антител – биомаркеров заболевания. Наиболее перспективными для диагностики являются АЦЦП – аутоантитела, относящиеся к классу IgG, направленные против протеинов, содержащих несвойственную человеческому организму аминокислоту цитруллин. АЦЦП представлены тремя генерациями: АЦЦП-1, АЦЦП-2 и АЦЦП-3. К ним относятся также АТ к цитруллинированному виментину, цитруллинированному фибриногену, цитруллинированной  $\alpha$ -энолазе, цитруллинированному коллагену II типа, АТ к РА-33 – гетерогенному ядерному нуклеопротеину А2 [55].

В настоящее время процесс цитруллинирования рассматривается как общий признак воспаления и может снижаться под действием глюкокортикоидов, независимо от других противовоспалительных механизмов последних, однако остается неясным, почему антитела к цитруллинированным пептидам обнаруживаются преимущественно при РА.

Цитруллин образуется из типичной для человеческого организма аминокислоты – аргинина в ходе метаболического превращения на фоне повышения экспрессии ферментов, катализирующих данную реакцию – пептидиларгининдезимираз

(PADI), существующих в нескольких разновидностях: PADI 1, PADI 2, PADI 3, PADI 4, PADI 5, PADI 6 [38].

Реакция превращения L-аргинина в цитруллин происходит с участием воды, а продуктом реакции кроме протеина, содержащего L-цитруллин, является аммиак. Представляют интерес исследования, посвященные изучению происхождения антител к цитруллинированным пептидам. Было обнаружено, что периодонтальный эпителий, в котором процесс цитруллинирования является физиологическим, в случае развития периодонтита гистологически сходен с воспаленной синовиальной оболочкой при РА, а процессы цитруллинирования, запускаемые при периодонтите могут играть роль в этиологии РА [54].

В роли аутоантигенов для АЦЦП могут выступать любые цитруллинсодержащие белки. Одним из важнейших аутоантигенов, индуцирующих выработку антител к цитруллинированным белкам, является филаггрин. Существует ассоциация между перинуклеарным фактором и профиллагрином, а антиперинуклеарный фактор может реагировать с цитруллинсодержащими пептидами [14].

При РА выявлено высокое содержание цитруллинированного фибронектина, участие которого в патологическом процессе состоит в накоплении во внеклеточном пространстве, например, синовиальной оболочки, где он подвергается цитруллинированию. Для цитруллинированного фибронектина характерно изменение характера взаимодействия с рецепторами, что приводит к модификации ангиогенеза и апоптоза [20].

При серонегативных вариантах РА рекомендуется определять уровень антител к цитруллинированному фибриногену, при этом чувствительность метода составляет 55,8%, а специфичность – 92,6%, а уровень данных антител является предиктором быстрых темпов суставной деструкции [12].

Физиологической мишенью для АЦЦП является цитруллинированный виментин – естественный белок челове-

ческого организма, обнаруженный в синовиальной ткани и способный активно цитруллинироваться [19]. Виментин относится к цитоплазматическим белкам, стабилизирующим клеточную архитектуру. При увеличении концентрации виментина происходит повышение секреции ФНО- $\alpha$  и уменьшается продукция ИЛ-10. Таким образом, виментин, вмешиваясь в баланс про- и противовоспалительных цитокинов, участвует в развитии воспаления, а его концентрации коррелируют с активностью РА [19].

Доказано, что уровень АЦЦП при РА является наибольшим по сравнению с другими заболеваниями суставов, при этом чувствительность метода по различным данным составляет 68-82%, а специфичность для РА равна 96%, что превышает аналогичные показатели в отношении IgM РФ и IgA РФ. При рРА повышенный уровень АЦЦП наблюдается в 90% случаев [36].

Убедительно доказано наличие корреляции между АЦЦП и деструктивными изменениями в суставах при РА, а высокие уровни АЦЦП при рРА являются предикторами быстрой рентгенологической прогрессии заболевания [27].

АЦЦП могут являться прогностическим маркером развития РА, появляясь за несколько лет до развития клинической симптоматики. Исследование крови пациентов с НА на наличие АЦЦП и РФ может быть использовано для прогнозирования трансформации НА в РА.

Несмотря на то, что АЦЦП на сегодняшний день продолжают считаться наиболее специфичным маркером РА, результаты большого числа исследований позволяют внести некоторые коррективы в значения аналитических характеристик данного диагностического показателя. В частности, в итальянской когорте пациентов с РА чувствительность АЦЦП составила 77%, а специфичность 96%. Определение антител к цитруллинированному мутированному виментину (anti-MCV) имело более низкие аналитические характеристики (чувствительность 61% и специфичность

95%); кроме этого, при cut-off (значении показателя, при котором результат исследования оценивается как положительный), рекомендованном производителями тест-систем (>20Е/мл) anti-MCV-позитивными оказались пациенты, инфицированные вирусом Эпштейна-Барра и вирусом гепатита С [29].

Появляются публикации об обнаружении АЦЦП у курильщиков, у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких [13], воспалительными заболеваниями кишечника [40], туберкулезом и вирусным гепатитом [44]. Низкое содержание АЦЦП выявлено при СКВ [42], инфекционных артритах, псориатическом артрите [45], остеоартрозе, фибромиалгии, синдроме Шегрена [39].

### Заключение

Таким образом, при РА основными биомаркерами являются РФ и АЦЦП. Однако продолжается поиск новых лабораторных показателей, которые будут высокоспецифичными для данного заболевания. Наибольшее значение имеют исследования, направленные на новые, ранее не известные механизмы патогенеза. В последние годы в медицине активно развивается направление, связанное с изучением ферментативных свойств сыворотки крови и поликлональных иммуноглобулинов.

Верификация диагноза на ранних стадиях суставного синдрома дает возможность управления патологическим процессом. Активно изучаются особенности иммунопатогенеза ранних стадий суставного синдрома и проводится поиск новых способов дифференциальной диагностики ранних артритов и способов прогнозирования исходов недифференцированного артрита в ревматоидный артрит.

### Литература

1. Здравоохранение в Республике Беларусь: офиц. стат. сб. за 2011 г. – Минск: ГУ РНМБ, 2012. – 304 с.
2. Каратеев, Д.Е. Основные тенденции и вариативность эволюции ревматоидного артрита: результаты многолетнего наблюдения / Д.Е. Каратеев // Научно-практическая ревматология. – 2004. – №1. – С. 8–14.
3. Каратеев, Д.Е. Современные принципы ведения больных ранним артритом // Д.Е. Каратеев, Е.Л. Лучихина, Г. Тогизбаев // Русский медицинский журнал – 2008. - Т.16 - №24 – С. 1610-1615.
4. Насонов, Е.Л. Ревматоидный артрит: терапевтические проблемы / Е.Л. Насонов, Н.В. Чичасова // Врач. – 1999. – № 5. – С. 7–10.
5. Насонова, В.А. Ревматические болезни в России в начале XXI века. / В.А. Насонова, О.М. Фоломеева, Ш.Ф. Эрдес // Научно-практическая ревматология – 2003. – № 1. – С. 6–10.
6. Пфлюгер, Б. Оценка глобального бремени костно-мышечных заболеваний / Б. Пфлюгер // Научно-практическая ревматология. – 2001. - №4. – С. 4–9.
7. Ранняя диагностика ревматоидного артрита в клинической практике на современном этапе (результаты наблюдений за московской когортой больных ранним артритом в рамках программы РАДИКАЛ) / Д.Е. Каратеев [и др.] // Тер. Архив. – 2008. – №5. – С. 8–13.
8. Распространенность ревматоидного артрита в России (по данным эпидемиологического исследования) / Е.А. Галушко [и др.] // Тер. Архив. – 2010. - №5. – С. 9–14.
9. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/European League Against Rheumatism collaborative initiative / D. Aletaha [et al.] // Arthritis Rheum. - 2010. – Vol. 62. – P. 2569–2581.
10. Alterations on peripheral blood B-cell subpopulations in very early arthritis patients / R.A. Moura [et al.] // Rheumatology. – 2010. – Vol. 49. – P. 1082–1092.
11. Analysis of the synovial cell infiltrate in early rheumatoid synovial tissue in relation to local disease activity / P.P. Tak [et al.] // Arthritis Rheum. – 1997. – Vol. 40. – P. 217–225.
12. Antibodies to citrullinated human fibrinogen (ACF) have diagnostic and prognostic value in early arthritis / M.M. Nielen [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2005. – Vol. 64. – P. 1199–1204.
13. Anti-citrullinated peptide antibodies in the serum of heavy smokers without rheumatoid arthritis. A differential effect of chronic obstructive pulmonary disease? / V. Ruiz-Esquide [et al.] // Clin. Rheumatol. – 2012. – Vol. 31. – P. 1047–1050.
14. Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin / R.M. Hoet [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 1991. – Vol. 50. – P. 611–618.
15. Associations of disease activity and treatment with mortality in men with rheumatoid arthritis: results

- from the VARA registry / T.R. Mikuls [et al.] / *Rheumatology (Oxford)*. – 2011. – Vol. 50. – P. 101–109.
16. Auto-antibodies and autoreactive T-cells in rheumatoid arthritis: pathogenetic players and diagnostic tools / G. Steiner [et al.] // *Clinical Reviews in Allergy and Immunology*. – 2007. – Vol. 32. – P. 23–35.
  17. Cannella, A.C. Early rheumatoid arthritis: pitfalls in diagnosis and review of recent clinical trials / A.C. Cannella, J.R. O'Del // *Drugs*. – 2006. – Vol. 66. – P. 1319–1337.
  18. Chromatin-IgG complexes activate B cells by dual engagement of IgM and Toll-like receptors / E.A. Leadbetter [et al.] // *Nature*. – 2002. – Vol. 416. – P. 603–607.
  19. Citrullinated vimentin stimulates proliferation, pro-inflammatory cytokine secretion, and PADI4 and RANKL expression of fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis / L. Fan [et al.] // *Scand. J. Rheumatol.* – 2012. – Vol. 41. – P. 354–358.
  20. Citrullination of fibronectin in rheumatoid arthritis synovial tissue / X. Chang [et al.] // *Rheumatology*. – 2005. – Vol. 44 (11). – P. 1374–1382.
  21. Comparison of long term outcome of patients with rheumatoid arthritis presenting with undifferentiated arthritis or with rheumatoid arthritis: an observational cohort study / J. Van Aken [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2006. – Vol. 65. – P. 20–25.
  22. Concepts and epidemiology of spondyloarthropathies / J. Sieper [et al.] // *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* – 2006. – Vol. 20. – P. 401–407.
  23. Cost effectiveness analysis of disease-modifying antirheumatic drugs in rheumatoid arthritis. A systemic review literature / M. Benucci [et al.] // *Int. J. Rheumatol.* – 2011. – Vol. 22. – P. 845–849.
  24. Cytokine pattern in very early rheumatoid arthritis favours B-cell activation and survival / R.A. Moura [et al.] // *Rheumatolog.* – 2011. – Vol. 50. – P. 278–282.
  25. Diagnosing reactive arthritis: role of clinical setting in the value of serologic and microbiologic assays / J. Sieper [et al.] // *Arthritis Rheum.* – 2002. – Vol. 46. – P. 319–327.
  26. Diagnostic accuracy of ACR/EULAR 2010 criteria for rheumatoid arthritis in a 2-year cohort // S.Varache [et al.] // *J. Rheumatol.* – 2011. – Vol. 38. – P. 1250–1257.
  27. Diagnostic accuracy of the anti-citrulline antibody assay for rheumatoid arthritis / N. Bizzaro [et al.] // *Clin. Chem.* – 2001. – Vol. 47. – P. 1089–1093.
  28. Diagnostic performance of the ACR/EULAR 2010 criteria for rheumatoid arthritis and two diagnostic algorithms in an early arthritis clinic (REACH) / C. Alves [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2011. – Vol. 70. – P. 1645–1647.
  29. Diagnostic value of anti-mutated citrullinated vimentin in comparison to anti-cyclic citrullinated peptide and anti-viral citrullinated peptide 2 antibodies in rheumatoid arthritis: An Italian multicentric study and review of the literature / E. Bartoloni [et al.] // *Autoimmun Rev.* – 2012. – Vol. 11. – P. 815–820.
  30. Early referral recommendation for newly diagnosed rheumatoid arthritis: evidence based development of a clinical guide / P. Emery [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2002. – Vol. 61. – P. 290–297.
  31. Early rheumatoid arthritis: concept / L.M. Mota [et al.] // *Rev. Assoc. Med. Bras.* – 2010. – Vol. 56. – P. 227–229.
  32. Early treatment in early undifferentiated arthritis / I. Olivieri [et al.] // *Autoimmun. Rev.* – 2012. – Vol. 11. – P. 589–592.
  33. Ectopic lymphoid structures support on going production of class switched autoantibodies in rheumatoid synovium / F. Humby [et al.] // *PLoS Med.* – 2009. – Vol. 6. – P. 229–237.
  34. Effect of adherence to European treatment recommendations on early arthritis outcomes: data from the ESPOIR cohort / C. Escalas [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2012. – Vol. 71. – P. 1803–1808.
  35. EULAR recommendations for the management of early arthritis: report of a task force of the European Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics (ESCISIT) / B. Combe [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2007. – Vol. 66. – P. 34–45.
  36. Expression and activity of citrullinating peptidylarginine deiminase enzymes in monocytes and macrophages / E.R. Vossenaar [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2004. – Vol. 63. – P. 373–381.
  37. Expression of interferon-gamma (IFN-gamma), IL-10, IL-12 and transforming growth factor-beta (TGF-beta) mRNA in synovial fluid cells from patients in the early and late phases of rheumatoid arthritis / A. Bucht [et al.] // *Clin. Exp. Immunol.* – 1996. – Vol. 103. – P. 357–367.
  38. Fisher, B.A. Inhibiting citrullination in rheumatoid arthritis: taking fuel from the fire / B.A. Fisher, P.J. Venables // *Arthritis Res. Ther.* – 2012. – Vol. 14. – P. 108.
  39. Gottenberg J.E., Migot S., Nicaise-Rolland P. et al. Prevalence of anti-cyclic citrullinated peptide and anti-keratin antibodies in patients with primary Sjogrens syndrome / J.E. Gottenberg [et al.] // *Ann. Rheum. Dis.* – 2004. – Vol. 34. – P. 456–458.
  40. Haga, H. G. Prevalence of IgA class antibodies to cyclic citrullinated peptide in patients with inflammatory bowel disease (IBD) / H. J. Haga, O. Palm, E. Peen // *Clin. Rheumatol.* – 2011. – Vol. 30. – P. 955–957.
  41. Hazes, J.M. The epidemiology of early

- inflammatory arthritis // J.M. Hazes, J.J. Luime // Nat. Rev. Rheumatol. – 2011. – Vol. 7. – P. 381–390.
42. Hoffmann I.E.A., Peene I., Cebebauer L., et al. Presence of rheumatoid factor and antibodies to citrullinated peptides in systemic lupus erythematosus / I.E. Hoffmann [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2005. – Vol. 64. – P. 330–332.
43. Kwiatkowska, B. Reactive arthritis / B. Kwiatkowska, A. Filipowicz-Sosnowska // Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej. – 2009. – Vol. 119. – P. 60–65.
44. Lima, I. Antibodies against cyclic citrullinated peptides in infectious diseases--a systematic review / I. Lima, M. Santiago // Clin. Rheumatol. – 2010. – Vol. 29. – P. 1345–1351.
45. Anti-citrullinated peptide antibodies may occur in patients with psoriatic arthritis / B. Vander Cruyssen [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2005. – Vol. 64. – P. 1145–1149.
46. Presence of lymphocyte aggregates in the synovium of the patients with early arthritis in relationship to diagnosis and outcome: is it a constant feature over time? / M.G. van de Sande [et al.] // Ann. Rheum. Dis. – 2011. – Vol. 70. – P. 700–703.
47. Reneses, S. Comparison of the 1987 ACR criteria and the 2010 ACR/EULAR criteria in an inception cohort of patients with recent-onset inflammatory polyarthritis / S. Reneses, L. Pestana, A. Garcia // Clin. Exp. Rheumatol. – 2012. – Vol. 30. – P. 417–420.
48. Rheumatoid arthritis / L. Carmona [et al.] // Best. Pract. Res. Clin. Rheumatol. – 2010. – Vol. 24. – P. 733–745.
49. Synovial fluid leukocyte apoptosis is inhibited in patients with very early rheumatoid arthritis / K. Raza [et al.] // Arthritis Res. Ther. – 2006. – Vol. 8. – P. R120.
50. Takeda, K. Toll-like receptors / K. Takeda, T. Kaisho, S. Akira // Ann. Rev. Immunol. – 2003. – Vol. 21. – P. 335–376.
51. The American Rheumatism Association 1987 revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis / F.C. Arnett [et al.] // Arthritis Rheum. – 1988. – Vol. 31. – P. 315–324.
52. The course of radiologic damage during the first six years of rheumatoid arthritis / H.M. Hulsmans [et al.] // Arthritis Rheum. – 2000. – Vol. 43. – P. 1927–1940.
53. The differential expressions of 78-kDa glucose-regulated protein of infiltrating plasma cells in peripheral joints with the histopathological variants of rheumatoid synovitis / W. Dong [et al.] // Arthritis Res. Ther. – 2009. – Vol. 11. – P. R4.
54. The periodontium of periodontitis patients contains citrullinated proteins which may play a role in ACPA (anti-citrullinated protein antibody) formation / W. Nesse [et al.] // J. Clin. Periodontol. – 2012. – Vol. 39 – P. 599–607.
55. The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis / E.J. Kroon [et al.] // Arthritis Rheum. – 2000. – Vol. 43. – P. 1831–1835.

Поступила 23.04.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Волкова М.В. – ассистент кафедры госпитальной терапии УО «ВГМУ»;

Кундер Е.В. – д.м.н., доцент, профессор кафедры кардиологии и ревматологии ГУО «БелМАПО».



## ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ СПОРТСМЕНОВ ЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА

ОСОЧУК С.С.\* , МАРЦИНКЕВИЧ А.Ф.\*\*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
Научно-исследовательская лаборатория,\*  
кафедра общей и клинической биохимии\*\*

**Резюме.** В работе были исследованы физико-химические свойства мембран эритроцитов спортсменов циклических видов спорта и лиц, не занимающихся регулярными физическими нагрузками. Установлено, что у спортсменов микровязкость мембран эритроцитов статистически значимо ( $p < 0,05$ ) ниже, а микрополярность и расстояние между поверхностью мембраны эритроцита и донорами энергии выше, чем у лиц, не занимающихся спортом. Полученные результаты указывают на существенное влияние физической нагрузки на физико-химические свойства мембран эритроцитов.

**Ключевые слова:** физико-химические свойства, мембрана эритроцита, микрополярность, микровязкость, пирен.

**Abstract.** Physicochemical properties of erythrocytes membranes in sportsmen engaged in cyclic kinds of sport and those in persons who do not go in for sports have been studied in this paper. Statistically significant ( $p < 0,05$ ) reduction of microviscosity of erythrocytes membranes, increase of micropolarity and distance between the surface of erythrocyte membrane and energy donors were observed in sportsmen. The results obtained indicate a significant influence of physical activity on physicochemical properties of erythrocytes membranes.

**Key words:** physicochemical properties, erythrocyte membrane, micropolarity, microviscosity, pyrene.

Одним из наиболее важных факторов, лимитирующих работоспособность, является доставка кислорода к работающим мышцам. По этой причине эритроцит представляет собой объект тщательного изучения исследователей при разработке технологий увеличения выносливости спортсменов и лиц военизированных подразделений. К настоящему времени разработаны технологии увеличения количества эритроцитов и содержания гемоглобина. Некоторые из этих методов

запрещены ВАДА (Всемирная антидопинговая ассоциация) к использованию. Вместе с тем разработка новых способов оптимизации транспорта кислорода является актуальной и необходимой. В связи с этим следует обратить пристальное внимание на мембрану эритроцита как на один из факторов, оказывающих существенное влияние на транспорт кислорода.

Известно, что физическая нагрузка сопровождается значительной гипертермией и тканевой гипоксией [1, 2], что способно привести к изменениям состава и физико-химических свойств мембран эритроцитов у спортсменов и, как следствие, к изменению ее функциональной активности. В свою очередь, скорость трансмембранного переноса кислорода

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Научно-исследовательская лаборатория. Раб.тел.: 8 (0212) 36-59-38 – Осочук Сергей Стефанович.



определяется белками-переносчиками аквапоринами [3], а функциональная активность мембранных белков контролируется составом и вязкостью приобелкового (аннулярного) липидного пула мембраны, через их конформационные изменения и пространственную ориентацию [4]. Аннулярный липидный пул постоянно обменивается с общим липидным пулом мембраны [5]. Поскольку в эритроците отсутствует синтез белков и липидов, восстановление мембраны обеспечивается липидтранспортной системой (ЛТС) [6], что позволяет рассматривать мембрану и ЛТС как единый взаимосвязанный механизм. Учитывая такую особенность, становится теоретически возможным оказание влияния на состав и физико-химические свойства мембран эритроцитов посредством изменения пищевого режима и фармакологической коррекции состояния ЛТС. Косвенным подтверждением данного предположения могут служить факты влияния патологических состояний на физико-химические свойства и состав мембран эритроцитов [7, 8].

В связи с вышеизложенным, целью работы было исследование физико-химических свойств мембран эритроцитов у спортсменов циклических видов спорта.

### Методы

Для определения вязкости мембран эритроцитов использовался метод флуоресцентных зондов, основанный на измерении интенсивности испускания энергии. В качестве зонда использовался пирен, плоская молекула которого способна избирательно проникать в гидрофобные полости мембраны: либо в виде мономера, либо в форме возбужденного димера (эксимера). Исследуя отношение интенсивности испускания эксимеров пирена к мономерам (т. н. коэффициент эксимеризации, КЭ), можно сделать вывод о вязкостных свойствах мембраны: при увеличении вязкости КЭ будет снижаться вследствие стерических факторов, препятствующих встраиванию эксимеров;

возрастание вязкости будет сопровождаться ростом КЭ.

Известно [9, 10], что пирен имеет высокую чувствительность к полярности микроокружения, что проявляется в изменении структуры спектра флуоресценции в области первого и третьего пика испускания мономеров. Таким образом, для характеристики полярности микроокружения использовалось отношение интенсивности пиков мономеров пирена при 374 и 394 нм.

При длине возбуждения 286 нм пирен способен поглощать энергию в ходе безызлучательного переноса от триптофановых остатков белка, что применимо для оценки вязкости приобелкового липидного окружения. При 337 нм возбуждаются непосредственно сами молекулы пирена, что позволяет отслеживать изменения в общей вязкости мембраны.

На основании анализа уравнения Штерна-Фольмера возможна оценка эффективности переноса энергии с белковых триптофанилов на пирен и доступности их тушению [11], что может быть использовано как перспективный диагностический критерий конформационных состояний белковой молекулы. Помимо указанного, стерические модификации могут выражаться и в изменении среднего расстояния между триптофанилами и бислоем фосфолипидов, что также может быть оценено при помощи метода флуоресцентных зондов.

Для исследования была набрана контрольная группа из 38 человек в возрасте  $19,2 \pm 1,7$  лет, не занимающихся регулярными физическими упражнениями. Опытная группа состояла из 42 спортсменов легкоатлетического многоборья с уровнем спортивного мастерства от 1-го взрослого разряда до мастера спорта в возрасте  $18,6 \pm 3,0$  лет. Группы были однородны по возрасту (р-значение теста Вилкоксона 0,479).

Забор крови проводился натощак в вакуумные пробирки с цитратом натрия, с последующим центрифугированием при 1000 об/мин и отбором плазмы. Мембраны эритроцитов выделялись по методу Доджа [12] и стандартизовались по белку

до концентрации 100 мкг/мл. Стандартизованные мембраны объемом 2 мл титровались пиреном в концентрации 1, 2, 4, 6, 8 и 10 мкмоль/л с последующим снятием спектра флуоресценции при 286 и 337 нм. Интенсивность испускания мономеров и эксимеров пирена определялась в максимумах при 374, 394 и 470 нм.

Обработка данных производилась при помощи статистического пакета R v.2.15.2 [13]. Для оценки закона распределения использовался тест Шапиро-Уилка, на основании которого ( $p < 0,05$ ) было принято заключение о законе распределения исследуемых величин, отличном от нормального. Для парного сравнения использовался тест Вилкоксона, для множественного сравнения – дисперсионный анализ Крускала-Уоллиса.

### Результаты и обсуждение

Для выявления гендерных отличий было проведено сравнение исследуемых показателей у мужчин и женщин отдельно для спортсменов и лиц, не занимающихся спортом. При помощи теста Вилкоксона достоверных отличий изучаемых показателей между мужчинами и женщинами контрольной группы выявлено не было. Вместе с тем, согласно непараметрическому Н-критерию Крускала-Уоллиса ( $p > 0,05$ ) было принято решение о гомогенности исследуемых признаков относительно пола и уровня спортивного мастерства, на основании чего выборка спортсменов считалась извлеченной из одной генераль-

ной совокупности и в дальнейшем исследовалась без разбиения.

В ходе исследования было установлено, что микровязкость аннулярного липида статистически значимо была меньше у спортсменов, причем данная тенденция сохранялась при всех концентрациях пирена (табл. 1).

Микровязкость общего липидного пула у спортсменов также была снижена по сравнению с контрольной группой (табл. 2). Известно, что снижению микровязкости могут способствовать полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) [14].

В связи с этим можно предположить, что количество ПНЖК у спортсменов будет выше, чем у лиц, не занимающихся спортом. В свою очередь, учитывая высокую предрасположенность ПНЖК к перекисному окислению липидов (ПОЛ), можно также предположить возможность более высокой активности перекисной модификации мембран у спортсменов по сравнению с лицами, не занимающимися спортом. Известно, что увеличение микровязкости мембранных липидов ассоциировано с ухудшением функциональной активности мембран и, в частности, с ухудшением проницаемости мембраны для электролитов и кислорода [15], влекущим за собой тканевую гипоксию и связанную с ней активацию перекисного окисления липидов [16]. Учитывая этот факт можно предположить, что у спортсменов активность переноса кислорода через мембрану эритроцитов выше, чем у лиц, не занимающихся спортом и как следствие более активного использования кислорода и возможные отличия в

Таблица 1

### Микровязкость аннулярного липидного слоя

	МВА 1, мкмоль	МВА 2, мкмоль	МВА 4, мкмоль	МВА 6, мкмоль	МВА 8, мкмоль	МВА 10, мкмоль
Спортсмены	21,49±8,02	11,45±4,50	5,84±2,25	3,96±1,43	2,92±1,05	2,38±0,77
Контроль	24,64±7,35	13,30±3,78	7,12±2,95	4,64±1,57	3,48±1,18	2,74±0,89
p	0,01565	0,002155	0,001374	0,01029	0,005856	0,0239

Примечания: МВА 1 ... 10 - микровязкость аннулярного пула при различных концентрациях пирена.

Таблица 2

**Микровязкость общего липидного фонда**

	МВО 1, мкмоль	МВО 2, мкмоль	МВО 4, мкмоль	МВО 6, мкмоль	МВО 8, мкмоль	МВО 10, мкмоль
Спортсмены	12,64±3,64	7,45±2,40	4,25±1,32	3,01±0,91	2,43±0,68	2,06±0,51
Контроль	14,39±3,71	8,53±2,15	5,02±1,69	3,51±1,04	2,77±0,69	2,42±0,49
p	0,01744	0,003212	0,005507	0,00354	0,00354	0,0004184

Примечания: МВО 1 ... 10 - микровязкость общего липидного пула при различных концентрациях пирена.

Таблица 3

**Микрополярность аннулярного и общего липидных пулов**

	МПА 1, мкмоль	МПА 2, мкмоль	МПА 4, мкмоль	МПА 6, мкмоль	МПА 8, мкмоль	МПА 10, мкмоль
Спортсмены	0,05807 ± 0,01630	0,1022 ± 0,0303	0,1984 ± 0,0633	0,2828 ± 0,0928	0,3822 ± 0,1158	0,4503 ± 0,1234
Контроль	0,04955 ± 0,01266	0,08560 ± 0,01938	0,1598 ± 0,04100	0,2365 ± 0,06301	0,3161 ± 0,08730	0,3900 ± 0,1070
p	0,01565	0,007024	0,00188	0,0122	0,006416	0,02452
	МПО 1, мкмоль	МПО 2, мкмоль	МПО 4, мкмоль	МПО 6, мкмоль	МПО 8, мкмоль	МПО 10, мкмоль
Спортсмены	0,07789 ± 0,02190	0,1346 ± 0,04016	0,2360 ± 0,07300	0,3326 ± 0,1012	0,4049 ± 0,1133	0,4727 ± 0,1227
Контроль	0,06651 ± 0,01653	0,1109 ± 0,02482	0,1917 ± 0,04769	0,2706 ± 0,06332	0,3362 ± 0,07522	0,3793 ± 0,08058
p	0,01029	0,002466	0,003212	0,003108	0,005176	0,0004701

Примечания: МПА 1 ... 10, МПО 1 ... 10 - микрополярность аннулярного и общего липидного пула при различных концентрациях пирена.

количестве ПНЖК, более высокую активность перекисной модификации мембраны.

Сравнение микрополярности аннулярного и общего (табл. 3) липидных пулов спортсменов и лиц, не занимающихся спортом, косвенно подтверждает высказанную гипотезу о более высокой активности перекисной модификации мембран эритроцитов у спортсменов. Было выявлено, что при всех концентрациях пирена микрополярность аннулярного липидного пула у спортсменов выше, чем у лиц, не занимающихся спортом.

Поскольку одним из инициаторов роста микрополярности является ПОЛ, спо-

собное вводить в молекулы липидов высокополярные группы – гидроперекисные, гидроксильные и карбонильные [17], полученные отличия могут быть обусловлены именно этим процессом. Однако избыточная активация ПОЛ способна привести к существенным изменениям метаболизма, не согласующимся с высокой работоспособностью спортсменов.

На основании этого можно предположить, что высокая микрополярность эритроцитарной мембраны обусловлена не только высокой активностью ПОЛ, но и рядом иных не выявленных в настоящей работе факторов.

Исследование доступности триптофанилов тушению выявило, что у спортсменов этот показатель был ниже, чем у лиц, не занимающихся спортом, что указывает на конформационные изменения белковой молекулы, препятствующие свободному переносу энергии с ароматического кольца триптофанилов на пирен (табл. 4).

Также выявленный факт может быть объяснен возможным возникновением стерического барьера в непосредственной близости от белка, обусловленного ПОЛ. Так или иначе, экранирование триптофаниловых остатков указывает на увеличение стабильности белковой глобулы за счет внутрибелковых гидрофобных взаимодействий [18].

Анализируя графическое представление уравнения Штерна-Фольмера (рис.

1), можно получить сведения о количестве доноров энергии, доступных для тушения и о среднем расстоянии между донором и акцептором.

Анализ полученных данных свидетельствует о неизменности доли доноров первого рода ( $p=0,8368$ ), что, при первом приближении, может быть трактовано в пользу высказанной ранее версии о перекисной модификации мембраны или наличии неизвестных факторов, препятствующих переносу энергии. В таком контексте снижение доступности белка тушение не может быть обусловлено только конформационными изменениями.

Расстояние  $\theta$  между поверхностью бислоя и донорами первого рода было достоверно выше в контрольной группе

Таблица 4

**Тушение флуоресценции триптофанилов пиреном**

	$F_0/(F_0-F)$ 1, мкмоль	$F_0/(F_0-F)$ 2, мкмоль	$F_0/(F_0-F)$ 4, мкмоль	$F_0/(F_0-F)$ 6, мкмоль	$F_0/(F_0-F)$ 8, мкмоль	$F_0/(F_0-F)$ 10, мкмоль
Спортсмены	4,31±0,98	2,88±0,69	2,08±0,25	1,79±0,18	1,64±0,14	1,54±0,13
Контроль	5,22±1,77	3,19±0,46	2,29±0,28	1,91±0,14	1,75±0,14	1,62±0,099
p	0,004568	0,0009596	0,0001396	0,0002118	0,0003576	0,001374

Примечания:  $F_0/(F_0-F)$  1 ... 10 – эффективность передачи энергии с триптофанилов при различной концентрации пирена.

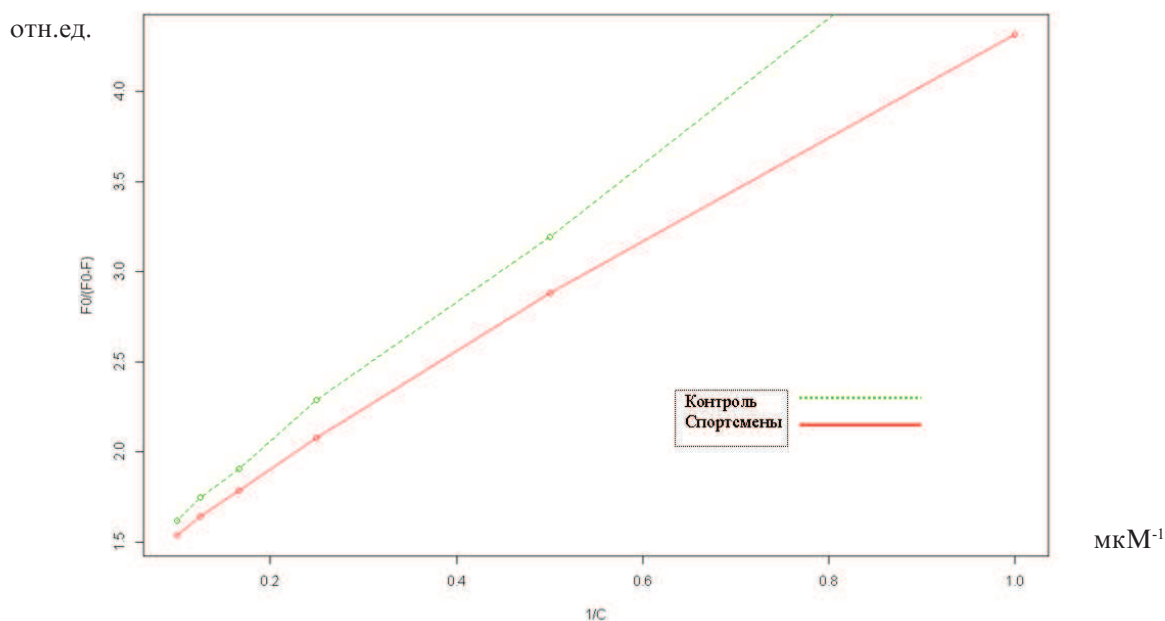


Рис. 1. Тушение флуоресценции триптофанилов пиреном у спортсменов и контрольной группы.

( $p=0,01089$ ), что говорит о погружении белковой молекулы в толщу мембраны (рис. 2). Учитывая снижение доступности тушения доноров первого рода и их неизменное количество, а также отличия  $\theta$ , существует вероятность, что в мембранах эритроцитов спортсменов белок претерпевает внутримолекулярные, не затрагивающие внешние слои, конформационные перестройки.

Рассматривая данный факт с точки зрения адаптации, можно предположить, что внутримолекулярные перестройки аквапорина-1, представляющего собой трансмембранный белок (канал), способны оптимизировать процесс переноса кислорода и увеличить эффективность работы эритроцита за счет уменьшения площади соприкосновения канала с липидной фазой [19].

Вместе с тем, необходимо отметить, что уменьшение глубины погружения белковых молекул в липидный бислой мембраны может быть обусловлено наличием высокополярных групп, указывающих на активную пероксидацию интегральных белков [20] и/или их олигомеризацию [21].

Исследование механизмов, лежащих в основе выявленных отличий физико-химических свойств мембран эритроцитов спортсменов и лиц, не занимающихся спортом,

может позволить разработать новые методы мониторинга и коррекции работоспособности спортсменов, что и является предметом наших дальнейших исследований.

### Заключение

В результате проведенных исследований можно сделать следующие выводы:

1. У спортсменов циклических видов спорта микровязкость общего и аннулярного липидного пулов эритроцитарной мембраны достоверно ниже, чем у лиц, не занимающихся спортом.

2. Микрополярность аннулярного и общего липидных пулов мембран эритроцитов спортсменов выше, чем у лиц, не занимающихся спортом.

3. Степень погруженности белков в билипидный слой мембран эритроцитов у спортсменов ниже, чем у лиц, не занимающихся спортом.

4. Выявленные отличия могут быть обусловлены более активной перекисной модификацией белково-липидных комплексов мембран эритроцитов спортсменов, а также отличиями в спектре жирных кислот, что требует подтверждения в ходе дальнейших исследований.

отн.ед.

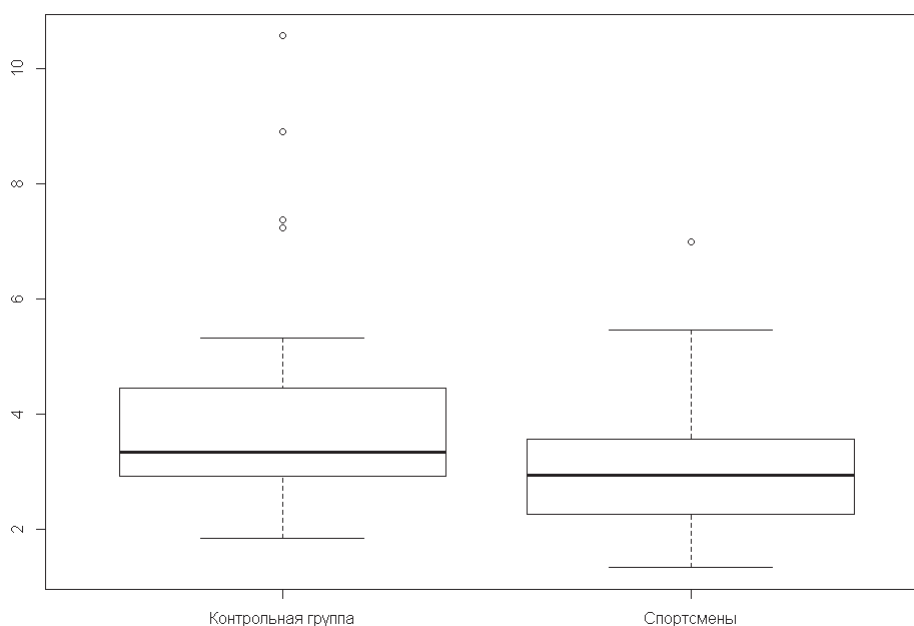


Рис. 2. Расстояние  $\theta$  между поверхностью бислоя и донорами первого рода у контрольной и опытной групп.

## Литература

1. Агарков, Ф.Т. К вопросу о повышении тепловой устойчивости организма человека средствами мышечной тренировки / Ф.Т. Агарков, А.С. Павлов // Косм. биология и медицина. - 1975. - №5. - С.75-80.
2. Павлов, А.С. Функциональное напряжение организма спортсменов и неспортсменов при различных степенях гипертермии / А.С. Павлов, Т.А. Митрофанова, В.А. Романенко // Материалы VI респ. науч.-теорет. конф. по вопр. физич. воспитания и спорта среди детей и молодежи. - Ташкент: Уз. Медицина, 1977. - Ч.1. - С. 168-170.
3. Исследование механизмов кислородного обмена эритроцитов человека / Э.П. Титовец [и др.] // Биофизика. - 2009. - Т. 10. - С. 425-441.
4. Lee, A.G. Lipid-protein interactions in biological membranes: a structural perspective / A.G. Lee // *Biochimica et Biophysica Acta Biomembranes*. - 2003. - Vol. 1612. - P. 1-40.
5. Введение в биомембранологию: учеб. пособие МГУ / А.А. Болдырев [и др.]. - 1990. - 208 с.
6. Обоснование применения эссенциальных фосфолипидов при хронических заболеваниях печени: динамика электрических и вязкоупругих параметров эритроцитов / С.А. Курилович [и др.] // Эксперим. и клин. гастроэнтерология. - 2010. - №11. - С. 44-52.
7. Лоншакова, В. И. Изменение микровязкости мембран эритроцитов и лимфоцитов при почечноклеточном раке / В. И. Лоншакова // Молодёжь и наука: сборник материалов VI Всерос. науч.-техн. гонф. студентов, аспирантов и молодых учёных [Электронный ресурс]. - Красноярск: Сиб. федерал. ун-т, 2011. — Режим доступа: <http://conf.sfu-kras.ru/sites/mn2010/section9.html>.
8. Ишутина, Н.А. Изменение микровязкости мембран эритроцитов крови у беременных, инфицированных вирусом герпеса / Н.А. Ишутина, Н.Н. Дорофиенко, И.А. Андриевская // Бюл. физиологии и патологии дыхания. - 2006. - Вып. 23. - Прил. - С. 16-17.
9. Мельников, Г.В. Влияние полярности микроокружения пирена на интенсивность его твердофазной люминесценции при комнатной температуре / Г.В. Мельников, Т.И. Губина, О.А. Дячук // Журн. физ. химии. - 2006. - Т. 80, № 7. - С. 1319-23.
10. Гурарий, Е.Я. Пирен как флуоресцентный зонд для оценки полярности пенополиуретановых мембран / Е.Я. Гурарий, С.Г. Дмитриенко, В.К. Рунов // Хим. физика. 1999. --Т.18, № 2. - С. 30-35.
11. Lakowicz, J.R. Principles of Fluorescence Spectroscopy / R. J. Lakowicz. -N.Y. : Springer Science, 2006. - 960 p.
12. Dodge, J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of erythrocytes / J. Dodge, C. Mitchell, D. Hanahan // *Arch Biochem Biophys*. - 1963. - Vol. 100, N 1. - P. 119-130.
13. The R Project for Statistical Computing [Electronic resource]. - Mode of access: <http://www.r-project.org/>. - Date of access : 20.04.2013.
14. Whitcomb, R.W. Effects of long-chain, saturated fatty acids on membrane microviscosity and adrenocorticotropin responsiveness of human adrenocortical cells in vitro / R.W. Whitcomb, W.M. Linehan, R.A. Knazek // *J Clin Invest*. - 1988. - № 81(1). - P. 185-188.
15. Коломийцева, А.Г. Липиды сыворотки крови и мембран эритроцитов у беременных с поздними токсикозами / А.Г. Коломийцева, Т.С. Черненко // Акушерство и гинекология. - 1986. - №4. - С. 22-26.
16. Hochachka, P.W. The brain at high altitude: hypo metabolism as a defance against chronic hypoxia? / P.W. Hochachka, C.M. Clarc, W.D. Brown // *J Cered-Blood-From-Metab*. - 1994. - Vol. 14, №4. - P.671-679.
17. Бутусова, В.Н. Структурно-функциональные свойства эритроцитарных мембран при дислипидопротеинемиях: автореф. дис. ... канд.мед. наук / В.Н. Бутусова. - Новосибирск, 2007. - 24 с.
18. Структурное состояние мембранных белков эритроцитов человека при взаимодействии с лигандами  $\beta 1$ -адренорецепторов — добутамином и атенололом / В.В. Жирнов [и др.] // Доп. НАН України. - 2008. - № 11. - С. 176-181.
19. Дергунов, А.Д. Белок-липидные взаимодействия и функционирование мембраносвязанных ферментов / А.Д. Дергунов, А.С. Капреляниц, Д.Н. Островский // Успехи биол. химии. - 1984. - Т. 25. - С. 89-110.
20. Hicks, M. A spectrophotometric method for the determination of lipid hydroperoxides / M. Hicks, J.M. Gebicki // *Anal Biochem*. - 1979. - № 99. - P. 249-253.
21. Добрецов, Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов / Г.Е. Добрецов. - М.: Наука, 1989. - 277 с.

Поступила 27.05.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

## Сведения об авторах:

Осочук С.С. - д.м.н., доцент, заведующий Научно-исследовательской лабораторией УО «ВГМУ»;

Марцинкевич А.Ф. - аспирант кафедры общей и клинической биохимии УО «ВГМУ».

© ГУСАКОВА Е.А., ГОРОДЕЦКАЯ И.В., 2013

## ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕННОГО ТИРЕОИДНОГО СТАТУСА НА УСТОЙЧИВОСТЬ ОРГАНИЗМА В РАЗЛИЧНЫЕ СТАДИИ СТРЕСС-РЕАКЦИИ

ГУСАКОВА Е.А.\*, ГОРОДЕЦКАЯ И.В.\*\*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра общей физической и коллоидной химии,\*  
кафедра нормальной физиологии\*\*

**Резюме.** В опытах на 130 беспородных крысах-самцах доказана реализация защитного эффекта йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) во все стадии стресс-реакции, вызванной «свободным плаванием в клетке» (СПК) в течение 1 часа. Введение мерказолила (25 мг/кг 20 дней) упреждало увеличение относительной массы надпочечников (ОМН), усугубляло снижение относительной массы селезенки (ОМС), тимуса (ОМТ), повреждение слизистой оболочки желудка (СОЖ) и вызывало уменьшение времени плавания животных в стадию тревоги стресс-реакции (через 1 час после СПК), устраняло нормализацию указанных параметров в стадию резистентности (через 48 часов после СПК) и определяло их наибольшие изменения и гибель крыс в стадию истощения (10 дней СПК по 1 часу). Введение L-тироксина (1,5-3,0 мг/кг 28 дней) *per se* увеличивало время плавания; в стадии тревоги и истощения - ограничивало повышение ОМН, уменьшение ОМС и ОМТ, повреждение СОЖ и определяло более высокое время плавания; в стадию резистентности - способствовало наибольшей стабилизации изученных параметров и предотвращало гибель крыс. Полученные данные свидетельствуют о важном значении ЙТГ в формировании адаптации организма на всех стадиях стресс-реакции.

*Ключевые слова:* тиреоидный статус, устойчивость организма, стресс.

**Abstract.** In the experiments on 130 mongrel male rats realization of the protective effect of iodine-containing thyroid hormones (ITH) at all stages of stress reaction caused by «free swimming in a cage» (FSC) for 1 hour was proved. The administration of mercazolil (25 mg/kg, 20 days) forestalled the increase in the relative weight of the adrenals (RWA), aggravated the decline in the relative weight of the spleen (RWS), thymus (RWT), damage to the gastric mucosa (GM), and resulted in the reduction of animals' swimming time at the alarm stage of stress reaction (1 hour after FSC), eliminated the normalization of these parameters at the stage of resistance (48 hours after FSC) and specified their greatest changes and the death of rats at the stage of exhaustion (10 days of FSC for 1 hour). The administration of L-thyroxin (1,5-3,0 mkg / kg for 28 days) *per se* increased the time of swimming, at the stages of alarm and exhaustion it limited the increase of RWA, the reduction of RWS and RWT, damage of GM and specified the higher swimming time, at the stage of resistance – helped to maximally stabilize the studied parameters and prevented the death of rats. The obtained data testify to the importance of ITH in the formation of adaptation of an organism at all stages of stress reaction.

*Key words:* thyroid status, body resistance, stress.

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г.Витебск,  
пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный  
ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра нормальной физиологии. Тел.моб.: +375 (29)  
512-40-15 – Городецкая Ирина Владимировна.

Известно, что при воздействии экстремальных раздражителей наблюдаются следующие соматические и вегетативные проявления стресс-реакции: изменение относительной массы надпочечников (ОМН), селезенки (ОМС), тимуса (ОМТ); повреждение слизистой оболочки желудка (СОЖ); снижение физической выносливости животных [1-5].

В то же время установлено, что малые, близкие к физиологическим, дозы йодсодержащих тиреоидных гормонов (ЙТГ) ограничивают указанные нарушения, как это было показано при остром (иммобилизационном [1], холодом [2], теплом [6]) и хроническом (скученное содержание животных [7]) стрессе.

Однако для понимания механизма антистрессорного действия ЙТГ целесообразно выяснить, в какую стадию стресс-реакции реализуется их защитное влияние.

Цель настоящего исследования – установить влияние ЙТГ на устойчивость организма в различные стадии стресс-реакции.

### Методы

Опыты поставлены на 130 половозрелых белых беспородных белых крысах-самцах массой 220–250 г в осенне-зимний период. Тиреоидный статус изменяли внутрижелудочным введением в 1% крахмальном клейстере мерказолила (ООО «Фармацевтическая компания «Здоровье», Украина) (в дозе 25 мг/кг массы тела в течение 20 дней) или введением L-тироксина (Berlin-Chemie AG, «Менарини Групп», Германия) в течение 28 дней в дозах от 1,5 до 3,0 мкг/кг массы тела, условно названных нами малыми.

Контрольные животные, так же, как и подвергнутые затем стрессу без применения препаратов, получали 1% крахмальным клейстер таким же образом в течение такого же срока.

Стресс моделировали по методике «свободное плавание в клетке» (СПК) [8] в течение 1 часа. В эксперимент крыс брали после 24-часовой пищевой депривации. Животные плавали в стандартной пласти-

ковой клетке (50x30x20 см), заполненной водой (22°C) на высоту 15 см и закрытой сверху сеткой. В клетку помещали по 5 особей. Расстояние от сетки до поверхности воды составляло 5 см. Крыс забивали декапитацией под уретановым наркозом (0,1 г/100 г массы тела) через 1 час, 48 часов после СПК и после стрессирования по 1 часу в течение 10 дней. Каждая экспериментальная группа включала 10 голов.

Общую устойчивость организма оценивали по изменениям относительной массы органов-маркеров стресса (надпочечников, селезенки, тимуса), определяемой как отношение абсолютной массы органов к массе тела; состояния СОЖ, изучаемого визуально в отраженном свете под малым увеличением по тяжести поражения (средний балл по 4-балльной шкале: 1 балл – эрозии, 2 балла – единичные язвы, 3 балла – множественные язвы, 4 балла – пенетрирующие или прободные язвы), частоте поражения (ЧП) (отношение числа животных, имевших дефекты слизистой, к общему количеству крыс в группе), множественности поражения (МП) (отношение числа повреждений у всех крыс к числу животных в группе), индексу поражения (ИП) (сумме тяжести, частоты и множественности поражения) [9]; физической выносливости, которую исследовали по времени плавания крыс с прикрепленным к основанию хвоста грузом, составлявшим 5% от массы тела, в воде комнатной температуры до опускания на дно.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы «Статистика 6.0» с использованием модулей «Основные статистики и таблицы», «Непараметрические статистики», «Дисперсионный анализ (ANOVA)». Поскольку после первоначального определения характера распределения признака (Shapiro-Wilk, s test) было установлено, что он отличался от нормального, при попарном сравнении использовали непараметрический метод (Mann-Whitney U test).

Результаты представляли в виде Me (LQ; UQ) (Me – медиана, (LQ; UQ) - интерквартильный интервал: верхняя гра-



нища нижнего квартиля (LQ) и нижняя граница верхнего квартиля (UQ)). Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

У интактных животных ОМН составила 0,17 (0,17; 0,25) мг/г, ОМС – 4,26 (3,97; 4,31) мг/г, ОМТ – 2,10 (1,99; 2,15) мг/г, время плавания – 13,53 (13,12; 14,2) минут. Введение 1% крахмального клейстера не оказало влияния на исследуемые показатели.

Плавание животных в клетках вызывало появление основных признаков стресса, выраженность которых зависела от стадии стрессовой реакции.

Через 1 час после СПК наблюдалось увеличение ОМН – на 47% ( $p < 0,05$ ) и времени плавания – на 15% ( $p < 0,01$ ), снижение – ОМС на 23% ( $p < 0,01$ ), ОМТ – на 22% ( $p < 0,01$ ) (рис. 1). Повреждение СОЖ развивалось у 70% животных и характеризовалось ТП 1 балл у 40%, 2 балла – у 20%, 3 балла – у 10% ( $p < 0,01$ ); МП – 1 поражение на крысу у 40%, 2 – у 30% ( $p < 0,01$ ); ИП – 2,8 (рис. 2).

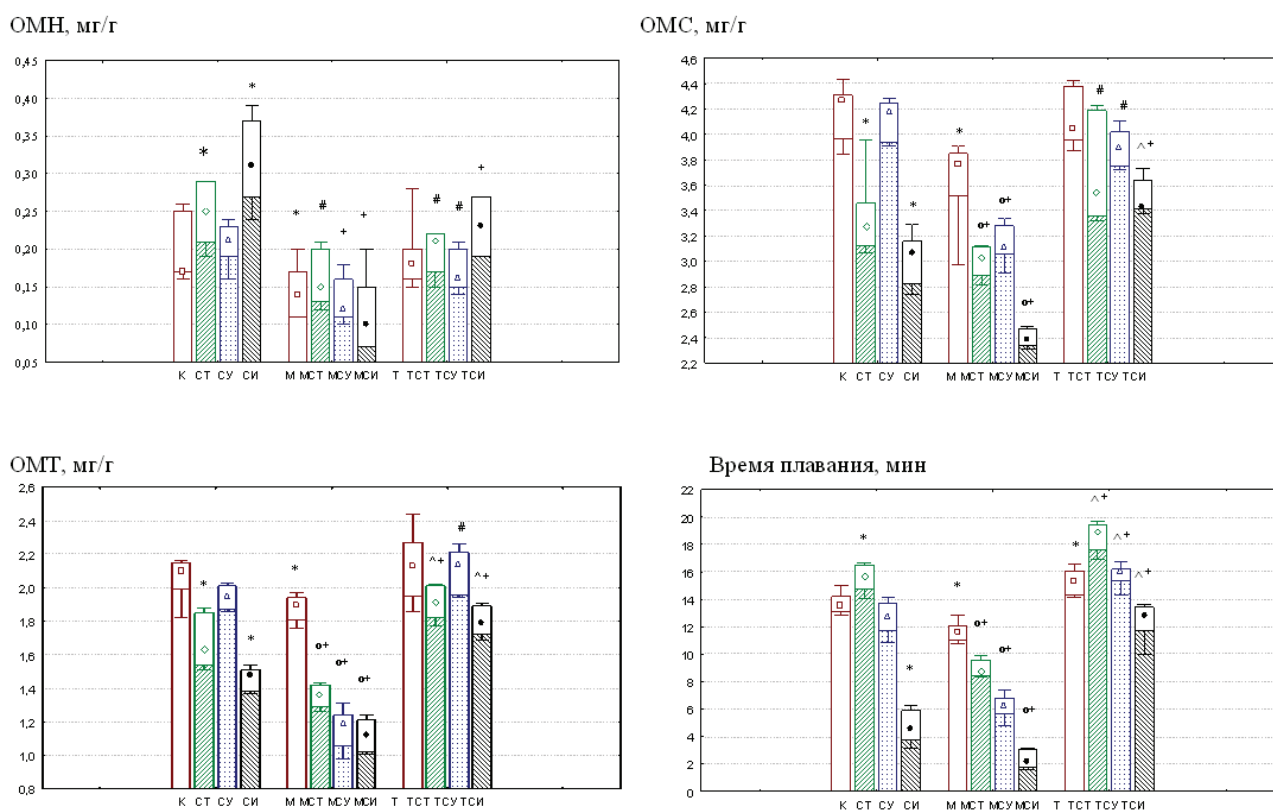


Рис. 1. Влияние тиреоидного статуса на изменения относительной массы надпочечников, относительной массы селезёнки, относительной массы тимуса и время плавания крыс в разные стадии стресс-реакции:

1. данные представлены в виде графиков «Boxandwhisker», где  $\square$ ,  $\diamond$ ,  $\Delta$ ,  $\circ$  - медиана;  $\square$  - (LQ; UQ) - верхняя граница нижнего квартиля и нижняя граница верхнего квартиля;  $\text{I}$  - минимальное и максимальное значения.
2. стадии стресс-реакции:  $\text{штрихованный квадрат}$  – тревоги;  $\text{пунктирный квадрат}$  – устойчивости;  $\text{затененный квадрат}$  – истощения.
3.  $p < 0,05$  по отношению: \* - к контролю; # - к соответствующей стадии стресса без препаратов; + - к контролю и соответствующей стадии стресса без препаратов; o - к группе животных, получавших мерказолил; ^ - к группе животных, получавших тироксин.
4. обозначения групп животных: К – контроль; СТ – стадия тревоги; СУ – стадия устойчивости; СИ – стадия истощения; М – мерказолил; МСТ – мерказолил и стадия тревоги; МСУ – мерказолил и стадия устойчивости; МСИ – мерказолил и стадия истощения; Т – тироксин; ТСТ – тироксин и стадия тревоги; ТСУ – тироксин и стадия устойчивости; ТСИ – тироксин и стадия истощения.

Совокупность обнаруженных соматических и вегетативных изменений позволила охарактеризовать период в течение 1 часа после СПК как стадию тревоги стресс-реакции.

Через 48 часов после СПК относительная масса органов-маркеров стресса и время плавания животных достоверно не отличались от контроля ( $p > 0,05$ ). Однако ОМН и время плавания были ниже, чем в стадию тревоги, – на 23% ( $p < 0,05$ ) и 21% ( $p < 0,01$ ), тогда как ОМС и ОМТ, напротив, выше – на 9% ( $p < 0,01$ ) и 14% ( $p < 0,05$ ). Повреждение СОЖ наблюдалось также у 70% крыс с ТП 1 балл у 50% животных, 2

балла – у 20%; МП – 1 поражение на крысу у 40% животных, 2 – у 30%; ИП – 2,5. По отношению к контролю ТП и МП были большими ( $p < 0,01$ ), а по сравнению с предыдущим периодом исследования – такими же ( $p > 0,05$ ).

Следовательно, в период 48 часов после СПК изученные нами вегетативные и соматические параметры возвращались к исходным значениям (кроме повреждения СОЖ), что указывает на соответствие этого периода стадии резистентности стресс-реакции.

СПК по 1 часу в течение 10 дней характеризовалось наиболее значительны-

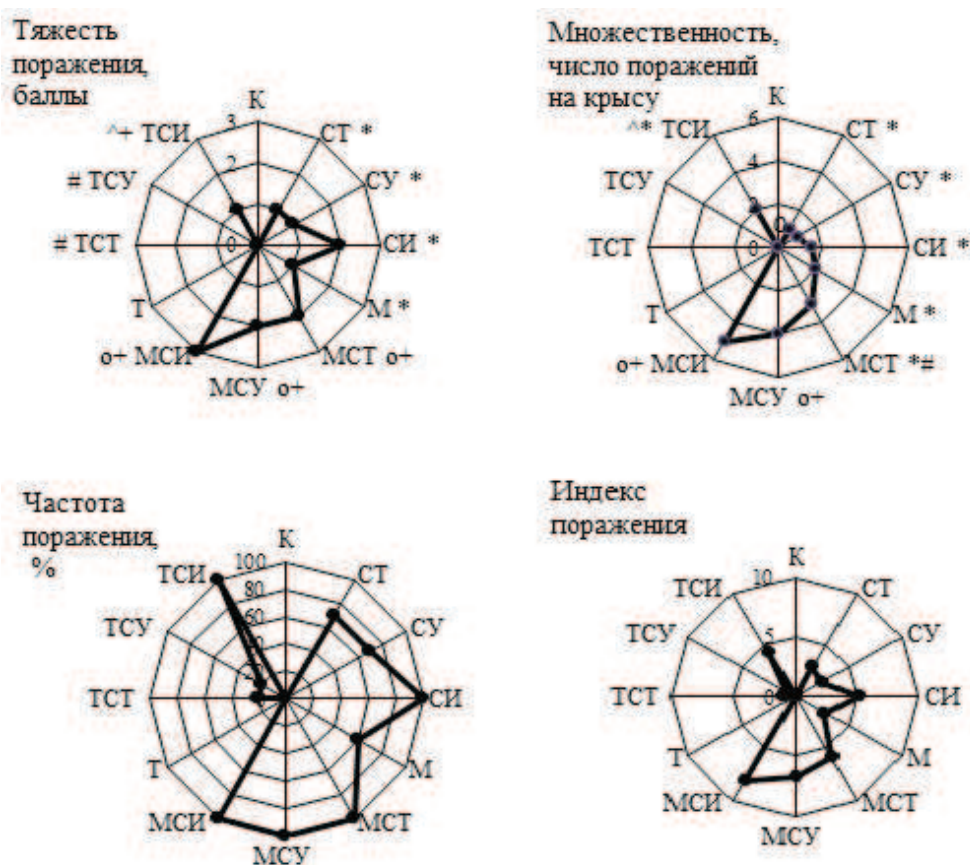


Рис. 2. Влияние измененного тиреоидного статуса на повреждение слизистой оболочки желудка в различные стадии стресс-реакции:

- 1)  $p < 0,05$  по отношению: \* - к контролю; # - к соответствующей стадии стресса без препаратов; + - к контролю и соответствующей стадии стресса без препаратов; о - к группе животных, получавших мерказолил; ^ - к группе животных, получавших тироксин.
- 2) обозначения групп животных: К – контроль; СТ – стадия тревоги; СУ – стадия устойчивости; СИ – стадия истощения; М – мерказолил; МСТ – мерказолил и стадия тревоги; МСУ – мерказолил и стадия устойчивости; МСИ – мерказолил и стадия истощения; Т – тироксин; ТСТ – тироксин и стадия тревоги; ТСУ – тироксин и стадия устойчивости; ТСИ – тироксин и стадия истощения.

ми: ростом ОМН – на 82% ( $p < 0,01$ ) (что на 35% ( $p < 0,05$ ) и 58% ( $p < 0,01$ ) выше, чем на предыдущих стадиях); снижением ОМС – на 28% ( $p < 0,01$ ) (на 6% ( $p < 0,05$ ) и 14% ( $p < 0,01$ ) меньше) и ОМТ – на 30% ( $p < 0,01$ ) (на 8% ( $p < 0,05$ ) и 22% ( $p < 0,01$ ) ниже). В отличие от стадии резистентности время плавания снижалось – на 67% ( $p < 0,01$ ) и было на 82% ( $p < 0,01$ ) и 61% ( $p < 0,01$ ) меньше по сравнению с предыдущими периодами. ТП и МП СОЖ были наибольшими – отмечались у всех крыс (т.е. на 30% чаще, чем на предшествующих стадиях исследования) и характеризовались ТП 1 балл у 20% крыс, 2 – у 50%, 3 – у 30% ( $p < 0,001$ ); МП – 1 поражение на животное у 50% крыс, 2 – у 20% и от 3 до 5 – у 30% ( $p < 0,001$ ). ИП составил 5,2, что в 1,9 и 2,1 раза выше, чем в стадии тревоги и резистентности. В отличие от предыдущих периодов наблюдалась гибель животных, достигшая к окончанию эксперимента 20%.

Следовательно, СПК в течение 10 дней вызывает наибольшие изменения изученных показателей внутренних органов, а также гибель животных, что позволяет отнести этот период к стадии истощения.

Таким образом, СПК приводит к появлению у крыс классической «триады» стресса – увеличению ОМН, снижению ОМС и ОМТ, ulcerации СОЖ, а также к падению физической выносливости, выраженность которых позволила выделить следующие стадии стресс-реакции: тревоги (появление указанных изменений), устойчивости (их нивелирование) и истощения (их максимальное проявление и гибель животных) соответственно через 1, 48 часов после СПК и стрессирования в течение 10 дней.

Изменение соматических и вегетативных компонентов стресс-реакции при действии факторов разной природы приводит к сдвигам в системах, регулирующих гомеостаз организма. Выраженность данных проявлений зависит от вида и продолжительности стрессового воздействия, пола животных и их генетически обусловленной устойчивости к стрессу [10, 11, 12, 13].

В наших опытах в условиях экспериментального гипотиреоза наблюдалось

уменьшение ОМН на 18% ( $p < 0,05$ ), ОМС – на 12% ( $p < 0,01$ ), ОМТ – на 10% ( $p < 0,05$ ), времени плавания – на 14% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ наблюдалось у 60% крыс с ТП 1 балл ( $p < 0,05$ ); МП – 2 поражения на животное у 30% крыс, 3 – у 20%, 4 – у 10% ( $p < 0,05$ ); ИП – 2,8.

Следовательно, мерказолил *per se* вызывает появление комплекса изменений, характерных для стресса (за исключением возрастания ОМН).

Через 1 час после СПК (по отношению к группе «Мерказолил») снижались: ОМС – на 17% ( $p < 0,01$ ), ОМТ – на 25% ( $p < 0,01$ ), время плавания – на 21% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ развивалось у всех животных, т.е. на 40% чаще и имело такую же МП ( $p > 0,05$ ) и большую ТП ( $p < 0,01$ ): 1 балл – у 20%, 2 – у 50%, 3 – у 30% крыс. ИП возрастал в 2,1 раза.

В результате по отношению к контролю все указанные показатели были меньшими: ОМС – на 29% ( $p < 0,01$ ), ОМТ и время плавания – на 35% ( $p < 0,01$ ). ТП и МП СОЖ, напротив, были большими ( $p < 0,001$ ). По сравнению со стадией тревоги у стрессированных эутиреоидных крыс относительная масса стресс-сенситивных органов была меньшей: ОМН – на 59% ( $p < 0,01$ ), ОМС – на 9% ( $p < 0,01$ ), ОМТ – на 13% ( $p < 0,05$ ), как и время плавания – на 50% ( $p < 0,01$ ). ТП и МП СОЖ, напротив, были большими ( $p < 0,05$ ), как и ЧП – на 30%, и ИП – в 2,1 раза.

Следовательно, угнетение функции щитовидной железы предотвращает возрастание ОМН, усугубляет снижение ОМС, ОМТ, повреждение СОЖ и вызывает падение физической выносливости в стадию тревоги стресс-реакции.

Через 48 часов после СПК, в отличие от стресса у эутиреоидных животных, не происходило увеличения ОМН (по отношению к группе «Мерказолил») и развивалось снижение ОМС и ОМТ – на 10% ( $p < 0,05$ ) и 33% ( $p < 0,01$ ), физической выносливости животных – на 40% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ было большим, чем в группе «Мерказолил»: ТП 1 или 2 балла у 30% крыс, 3 – у 40% ( $p < 0,01$ ); МП – по 1

или 4 поражения на животное у 30%, 5 или 6 – у 20% крыс ( $p < 0,05$ ); ЧП – в 1,5 раза; ИП увеличивался в 2,4 раза.

По отношению к контролю ОМН, ОМС, ОМТ были меньшими – на 29% ( $p < 0,05$ ), 22% ( $p < 0,01$ ) и 43% ( $p < 0,01$ ), время плавания – на 54% ( $p < 0,01$ ). ТП и МП СОЖ были большими ( $p < 0,001$ ). Такая же закономерность прослеживалась и по отношению к стадии резистентности у эутиреоидных крыс. Были меньшими: ОМН – на 53% ( $p < 0,05$ ), ОМС – на 8% ( $p < 0,01$ ), ОМТ – на 35% ( $p < 0,01$ ), время плавания – на 48% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ характеризовалось более существенными: ТП ( $p < 0,05$ ), МП ( $p < 0,01$ ), ЧП – в 1,4 раза, ИП – в 2,7 раза.

Следовательно, у гипотиреоидных животных через 48 часов после СПК не происходит нивелирования вызванных им соматических и вегетативных изменений в отличие от стадии резистентности у эутиреоидных крыс.

Ежедневное, в течение 10 дней, стрессирование животных, получавших тиреостатик, не вызывало (по отношению к группе «Мерказолил») увеличения ОМН ( $p > 0,05$ ) и сопровождалось падением ОМС и ОМТ – на 32% ( $p < 0,01$ ) и 37% ( $p < 0,01$ ), времени плавания – на 70% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ развивалось у всех животных, т.е. в 1,7 раза чаще, и характеризовалось более существенными: ТП – 2 балла у 20% и 3 – у 80% крыс ( $p < 0,001$ ); МП – 1, 4 или 6 поражений на животное у 20% крыс, 5 – у 30%, 7 – у 10% ( $p < 0,01$ ); ИП повышался в 2,9 раза. Погибало 40% крыс.

По сравнению с контролем все показатели изменялись наиболее значительно (за исключением ОМН, которая снижалась на 41%,  $p < 0,05$ ): ОМС и ОМТ уменьшались на 44% ( $p < 0,01$ ) и 47% ( $p < 0,01$ ), время плавания – на 84% ( $p < 0,01$ ). ТП и МП СОЖ также были наибольшими ( $p < 0,01$ ).

По отношению к стрессированным эутиреоидным животным в стадию истощения у гипотиреоидных крыс были меньшими: ОМН – на 123% ( $p < 0,01$ ), ОМС – на 16% ( $p < 0,01$ ), ОМТ и время плавания – на 17% ( $p < 0,01$ ). ТП и МП были большими

( $p < 0,05$ ), как и ИП – в 1,6 раза. Гибель животных была в 2 раза выше ( $p < 0,05$ ).

Следовательно, введение мерказолила определяет более значительные соматические и вегетативные изменения в стадию истощения стресс-реакции и большую смертность крыс.

Изменение относительной массы стресс-сенситивных органов при дисфункции щитовидной железы отмечали и другие авторы [15, 16, 17].

В нашем исследовании при введении малых, близких к физиологическим, доз L-тироксина не происходило изменения массы стресс-сенситивных органов и состояния СОЖ ( $p > 0,05$ ), а время плавания животных повышалось на 13% ( $p < 0,05$ ).

Через 1 час после СПК у крыс, получавших препарат, не наблюдалось возрастания ОМН и снижения ОМС ( $p > 0,05$ ) (по отношению к группе «Тироксин»). ОМТ незначительно падала – на 10% ( $p < 0,05$ ), время плавания увеличивалось на 27% ( $p < 0,01$ ).

Повреждение СОЖ развивалось у 20% животных, однако ТП (1 балл) и МП (2 или 3 поражения на крысу у 10% животных) достоверно не отличались от группы «Тироксин» ( $p > 0,05$ ). ИП составил 0,9.

По сравнению с контролем ОМН, параметры повреждения СОЖ были такими же ( $p > 0,05$ ), ОМС и ОМТ незначительно меньшими – на 17% ( $p < 0,05$ ) и 9% ( $p < 0,05$ ), время плавания, напротив, большим – на 40% ( $p < 0,01$ ).

По отношению к их величине у стрессированных эутиреоидных животных ОМН была ниже на 23% ( $p < 0,05$ ), ОМС и ОМТ выше – на 5% ( $p < 0,05$ ) и 13% ( $p < 0,05$ ), как и время плавания – на 25% ( $p < 0,01$ ). ТП СОЖ была меньшей ( $p < 0,05$ ), как и ЧП – в 3,5 раза, и ИП – в 3,1 раза, тогда как МП – такой же ( $p > 0,05$ ).

Следовательно, введение L-тироксина в малых дозах ограничивает возрастание ОМН, снижение ОМС и ОМТ, повреждение СОЖ и способствует большему увеличению физической выносливости животных в стадию тревоги стресс-реакции.

Через 48 часов после СПК по отношению к группе «Тироксин» ОМН, ОМС и ОМТ не изменялись ( $p > 0,05$ ), время плавания повышалось – на 6% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ отмечалось у 20% животных с такими же ТП – 1 балл ( $p > 0,05$ ) и МП – 1 или 3 поражения на крысу у 10% животных ( $p > 0,05$ ). ИП был равен 0,8.

Относительная масса стресс-сенситивных органов, ТП и МП не отличались от контроля ( $p > 0,05$ ), тогда как время плавания было больше – на 20% ( $p < 0,01$ ).

В отличие от стадии резистентности у эутиреоидных животных ОМН была ниже на 30% ( $p < 0,05$ ), а ОМС, ОМТ и время плавания выше – на 5% ( $p < 0,05$ ), 10% ( $p < 0,05$ ) и 25% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ регистрировалось в 3,5 раза реже, с такой же МП ( $p > 0,05$ ), но с меньшими ТП ( $p < 0,05$ ) и ИП – в 3,1 раза.

Следовательно, в течение 48-часового восстановительного периода после СПК L-тироксин в малых дозах обеспечивает более низкую ОМН и, напротив, более высокие ОМС, ОМТ и физическую выносливость, ограничивает повреждение СОЖ.

СПК по 1 часу в течение 10 дней у крыс, получавших L-тироксин, не изменяло ОМН ( $p > 0,05$ ) (по отношению к группе «Тироксин») и характеризовалось снижением ОМС, ОМТ и времени плавания – на 15% ( $p < 0,01$ ), 16% ( $p < 0,01$ ) и 19% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ наблюдалось у всех животных с ТП – 1 балл у 80% крыс, 2 – у 20% ( $p < 0,001$ ); МП – 1 или 2 поражения на животное у 30%, 3 – у 40% крыс ( $p < 0,001$ ). ИП возрастал до 4,3.

По сравнению с контролем ОМН была выше на 35% ( $p < 0,05$ ), ОМС, ОМТ и время плавания, напротив, ниже – на 20% ( $p < 0,01$ ), 15% ( $p < 0,05$ ) и 6% ( $p < 0,01$ ). ТП и МП СОЖ были большими ( $p < 0,001$ ).

По отношению к стрессированным в течение такого же срока эутиреоидным животным ОМН была меньше на 47% ( $p < 0,05$ ), ОМС больше – на 12% ( $p < 0,01$ ), как и ОМТ – на 15% ( $p < 0,01$ ), и время плавания – на 61% ( $p < 0,01$ ). Повреждение СОЖ, хотя и наблюдалось у всех крыс, характеризовалось меньшими ТП ( $p < 0,05$ ) и

ИП – в 1,2 раза. В отличие от аналогичной стадии стресс-реакции у животных, не получавших L-тироксин, и, особенно, у получавших мерказолил, крысы не погибали.

Следовательно, малые дозы L-тироксина ограничивают возрастание ОМН, снижение ОМС, ОМТ и физической выносливости, а также предотвращают гибель животных в стадию истощения стресс-реакции.

### Заключение

Стрессирование животных по методике СПК вызывает появление характерных для стресса изменений со стороны надпочечников, селезенки, тимуса, СОЖ и физической выносливости животных. Их выраженность зависит от стадии стресс-реакции. В стадию тревоги увеличиваются ОМН и время плавания, снижаются ОМС и ОМТ, повреждается СОЖ. В стадию устойчивости эти показатели возвращаются к исходным значениям (кроме повреждения СОЖ). В стадию истощения наблюдаются их наибольшие изменения, а также гибель животных.

Введение мерказолила *per se* приводило к развитию изменений, сходных со стрессорными (кроме возрастания ОМН). В стадию тревоги стресс-реакции у крыс, получавших мерказолил, отсутствует возрастание ОМН, становятся более выраженными снижение ОМС, ОМТ, повреждение СОЖ, физическая выносливость животных уменьшается. В период, соответствующий стадии резистентности у гипотиреоидных крыс, не происходит нивелирования изменений внутренних органов. В стадию истощения стресс-реакции они достигают наибольших значений, в результате чего наблюдается большая смертность животных.

Таким образом, экспериментальный гипотиреоз нарушает «технология» адаптации организма к стрессу, устраняет реакцию гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы, определяет большие снижение ОМТ и ОМС, повреждение

СОЖ в стадию тревоги; фактически устраняет стадию резистентности и провоцирует наибольшее падение резистентности и гибель животных в стадию истощения стресс-реакции.

Введение L-тироксина в малых дозах повышает физическую выносливость крыс. В стадию тревоги стресс-реакции L-тироксин лимитирует изменение относительной массы изученных органов, ограничивает повреждение СОЖ и определяет большее возрастание физической выносливости крыс. В стадию резистентности – обуславливает более низкую ОМН, но более высокие ОМС, ОМТ, физическую выносливость, а также нормализует состояние СОЖ, т.е. способствует наиболее эффективной адаптации. В стадию истощения L-тироксин ограничивает вегетативную патологию и падение физической выносливости, в результате чего предупреждает гибель животных.

Таким образом, при стрессе у крыс, получавших малые дозы L-тироксина, выраженность признаков фаз тревоги и истощения оказывается меньшей, тогда как фаза резистентности становится более совершенной, чем у стрессированных эутиреоидных крыс.

Полученные результаты расширят представление о значении ЙТГ в антистресс-системе организма – доказывают возможность реализации их защитного действия на всех стадиях стресс-реакции.

### Литература

1. Божко, А.П. Зависимость адаптационного эффекта коротких стрессорных воздействий от тиреоидного статуса организма / А.П. Божко, А.П. Солодков // Пробл. эндокринологии. – 1990. – Т. 36, № 5. – С. 74 – 78.
2. Божко, А.П. Защитный перекрестный кардиальный эффект адаптации к холоду / А.П. Божко, И.В. Городецкая // Теоретические и прикладные вопросы современной медицины и фармации: сб. науч. работ. – Витебск, 1996. – С. 15–17.
3. Chronic stress induces adrenal hyperplasia and hypertrophy in a subregion-specific manner / Y.M. Ulrich-Lai [et al.] // AJP. – 2006. – Vol. 291, №. 5. – P.965–973.
4. Морфофункциональные изменения в надпочечниках экспериментальных животных при хроническом иммобилизационном стрессе / И.Е. Голуб [и др.] // Современные наукоемкие технологии. – 2009. – № 9. – С. 82–84.
5. Беляева, О.А. Фармакологический анализ участия гамма - аминотерптической кислоты в эффектах антигипоксантов на тревожность и когнитивные функции при экспериментальном невротическом состоянии: автореф. дис. ... канд. биол. наук: 14.03.06; 14. 03. 06 / О.А. Беляева; Рос. Акад. Мед. наук. – С-Птб., 2010. – 26 с.
6. Божко А.П., Городецкая И.В. Повышение устойчивости организма к тепловому стрессу тиреоидными гормонами // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 1998. – № 2. – С. 80–83.
7. Городецкая, И.В. Интенсивность стресс-синдрома при хроническом стрессовом воздействии зависит от тиреоидного статуса организма / И.В. Городецкая, Н.А. Кореневская // Фундаментальные и прикладные проблемы стресса: материалы Междунар. науч.-практ. конф., Витебск, 10 июня 2010 г. / Вит. гос. ун-т им. П.М. Машерова; редкол. А.П. Солодков [и др.]. – Витебск, 2010. – С. 38–41.
8. Бондаренко, С.Н. Влияние различных методик стрессирования и адаптации на поведенческие и соматические показатели у крыс / С.Н. Бондаренко, Н.А. Бондаренко, Е.Б. Манухина // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1999. – Т. 128, № 8. – С157-160.
9. Виноградов, В.А. Влияние нейропептидов на экспериментальную дуоденальную язву у крыс / В.А. Виноградов, В.М. Полонский // Патол. физиол. и эксперим. терапия. – 1983. № 1. - С. 3-7.
10. Effect of different types of stress on adrenal gland parameters and adrenal hormones in the blood serum of male Wistar rats / M. Adžić [et al.] // Arch. Biol. Sci. – 2009. – Vol. 61, № 2. – P. 187–194.
11. Вишневская, Т.Я. Морфофизиология селезёнки кроликов при воздействии стресс-факторов / Т.Я. Вишневская, Л.Л. Абрамова // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2012. – Т. 4. – № 36-1. – С. 252–254.
12. Мороз, Г.А. Морфофункциональные особенности тимуса двенадцатимесячных крыс при многократно повторяющемся гипергравитационном воздействии / Г.А. Мороз // Морфология. – 2010. – Т. 4, № 3. – С. 23–27.
13. Взаимосвязь протеолитических и морфологических изменений слизистой оболочки при экспериментальной язве желудка / Л.В. Анисимова [и др.] // Крымский журн. эксперим. и клинической медицины. – 2011. – Т. 1, № 1. – С. 8-12.

14. Городецкая, И.В. Изменение физической выносливости животных при различных стрессах под влиянием малых доз йодтиронинов / И.В. Городецкая, А.П. Божко / тезисы докладов XI Бел. Общества физиологов, Минск, 21-22 сент. 2006 г. / Институт физиологии НАН Беларуси; редкол.: В.Н. Гурин [и др.]. – Минск, 2006. – С. 28–29.
15. Experimentally-induced hyperthyroidism is associated with activation of the rat hypothalamic-pituitary-adrenal axis / E.O. Johnson [et al.] // Eur. J. Endocrinol. – 2005. – Vol. 153, № 1. – P. 177–185.
16. Apoptosis, proliferation and spleen histomorphometry of adult female rats with thyroid and ovarian hypofunction / M.G. Gomes [et al.] / Arq. Bras. Endocrinol. Metabol. – 2008. – Vol. 52, № 6. – P. 1031–1038.
17. Abou-Rabia, N. Involution of the rat thymus in experimentally induced hypothyroidism / N. Abou-Rabia, M.D. Kendall // Cell Tissue Res. – 1994. – Vol. 277, № 3 – P. 447–455.

*Поступила 23.01.2013 г.  
Принята в печать 05.09.2013 г.*

**Сведения об авторах:**

Гусакова Е.А. - ассистент кафедры общей и физколлоидной химии УО «ВГМУ»;  
Городецкая И.В. - д.м.н., профессор кафедры нормальной физиологии УО «ВГМУ».



© ВЫХРИСТЕНКО Л.Р., 2013

## ПЕРОРАЛЬНАЯ НИЗКОДОЗОВАЯ АЛЛЕРГОВАКЦИНА АВ-1П ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ: ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗОПАСНОСТЬ

ВЫХРИСТЕНКО Л.Р.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК

**Резюме.** Целью работы было изучение эффективности и безопасности гомеопатического лекарственного средства «Аллерговакцина пероральная низкодозовая АВ-1П» (ЧУП «Диалек», Минск), содержащего бытовые аллергены, у пациентов с atopической бронхиальной астмой в сравнении со стандартной фармакотерапией.

Проведено рандомизированное открытое проспективное исследование в параллельных группах с участием 55 пациентов с atopической бронхиальной астмой. Пероральную аллерговакцину получали 33 пациента основной группы, стандартную фармакотерапию астмы - 22 пациента группы сравнения.

Прием пероральной аллерговакцины способствовал снижению ( $p=0,03$ ) симптомов бронхиальной астмы (опросник АСТ), сокращению потребности в  $\beta_2$ -агонистах на 30,5% ( $p<0,001$ ) и ингаляционных глюкокортикостероидах на 50% ( $p=0,1$ ), уменьшению числа обострений астмы, улучшению качества жизни пациентов с астмой (опросник AQ20), ( $p<0,001$ ). Отличные результаты получены у 16% пациентов, хорошие - у 71%, удовлетворительные - у 13%, неудовлетворительных результатов не было. Комплексное лечение, включающее прием аллерговакцины и фармакотерапию астмы, было более эффективным по сравнению с обычной фармакотерапией ( $p<0,05$ ). Доказана безопасность пероральной низкодозовой аллерговакцины.

Пероральная низкодозовая аллерговакцина АВ-1П является эффективным, безопасным и удобным для применения лекарственным средством. Прием пероральной низкодозовой аллерговакцины АВ-1П совместно с фармакотерапией существенно повышает эффективность лечения atopической бронхиальной астмы.

**Ключевые слова:** низкодозовая пероральная аллерговакцина, atopическая бронхиальная астма, эффективность, безопасность.

**Abstract.** The main purpose of this research was to study the efficacy and safety of the homeopathic medicinal agent «Low-dose oral allergovaccine AV-1P» (producer – «Dialek», Minsk) containing home dust mite allergens for the use in treatment of patients with atopical bronchial asthma compared with standard pharmacotherapy.

A randomized, open prospective parallel-group study of 55 patients suffering from atopical bronchial asthma was performed. The studied group included 33 patients who received low-dose oral allergovaccine AV-1P, the second group was composed of 22 patients who got standard drug treatment for atopical bronchial asthma.

As a result oral intake of allergovaccine helped reduce ( $p=0,03$ ) bronchial asthma symptoms (inquiry form AST), contributed to the decrease in the need for  $\beta_2$ -agonists by 30,5% ( $p<0,001$ ) and inhaled glucocorticosteroids by 50% ( $p=0,1$ ), reduction in the quantity of asthma exacerbations, improvement in the quality of asthmatic patients life (inquiry form AQ20), ( $p<0,001$ ). Excellent results were obtained in 16% of cases, good - in 71%, satisfactory - in 13%; there were no unsatisfactory results. Complex treatment, including allergovaccine administration and pharmacotherapy for asthma was more effective than standard pharmacotherapy alone in atopical bronchial asthma ( $p<0,05$ ). The study proved the high safety of low-dose oral allergovaccine.

Thus low-dose oral allergovaccine AV-1P is an effective, safe and convenient drug to be used. The intake of low-dose oral allergovaccine AV-1P combined with pharmacotherapy significantly improves the efficacy of treatment for atopical bronchial asthma.

**Key words:** low-dose oral allergovaccine, atopical bronchial asthma, efficacy, safety.



В последние десятилетия во всем мире отмечается рост распространенности аллергических заболеваний. По данным ВОЗ, около 300 млн. людей страдают астмой [1]. Наиболее эффективным методом противорецидивного лечения аллергических заболеваний является специфическая аллерговакцинация (САВ) [2]. Для достижения иммунологической толерантности к аллергену используется парентеральное, сублингвальное, реже пероральное введение лечебных аллерговакцин. В сравнении с парентеральной САВ, пероральный метод обладает рядом достоинств: увеличивает безопасность лечения, способствует удешевлению его стоимости, является безболезненным, удобным для больного. Эффективность пероральной САВ значительно варьирует от 55 до 95%, что связано с отсутствием специальных форм пероральных аллерговакцин, приемом их различных доз, недостаточной изученностью механизмов действия [3, 4, 5]. Приоритетным направлением совершенствования САВ является разработка мукозальных аллерговакцин и их дальнейшее исследование в крупных выборках пациентов [2, 6]. В период с 2006 г. по 2011 г. нами проведена работа по созданию низкодозовой пероральной аллерговакцины, результатом которой явилась ее регистрация в 2011 г. Цель исследования - изучение эффективности и безопасности гомеопатического лекарственного средства «Аллерговакцина пероральная низкодозовая АВ-1П» у пациентов с аллергической бронхиальной астмой (АБА) в сравнении со стандартной фармакотерапией.

### Методы

Дизайн исследования – рандомизированное открытое проспективное исследование

в параллельных группах. Исследование проведено в аллергологическом отделении Витебской областной клинической больницы в соответствии с программой, одобренной комитетом по этике. В исследовании приняли участие 55 испытуемых с АБА легкого персистирующего и среднетяжелого течения, с контролируемыми, частично-контролируемыми и неконтролируемыми симптомами (по критериям GINA-2008, GINA-2011), сенсibilизацией к бытовым и клещевым аллергенам. 1-ю группу составили пациенты, получавшие пероральную аллерговакцину АВ-1П и стандартную фармакотерапию астмы, утвержденную протоколами [7, 8]; 2-ю группу составили пациенты, которым назначалась только стандартная фармакотерапия.

#### *Краткая характеристика программы.*

Длительность исследования составила 7 месяцев (из них продолжительность приема пероральной аллерговакцины – 6 месяцев).

Критерии включения в исследование: наличие АБА, сенсibilизации к аллергенам, входящим в состав аллерговакцины АВ-1П, наличие клинико-анамнестического подтверждения релевантности аллергенов; возраст пациентов – 18-55 лет; получение информированного согласия на добровольное участие в исследовании.

Критерии исключения испытуемых: противопоказания для САВ (период обострения и тяжелое течение астмы; обострения сопутствующих тяжелых заболеваний, злокачественные новообразования, острые инфекционные заболевания и обострение хронической инфекции; период беременности и лактации), нарушение испытуемым режима приема аллерговакцины; нежелание пациента продолжать участие в исследовании.

#### *Характеристика аллерговакцины.*

Пероральная низкодозовая аллерговакцина АВ-1П (регистрационное удостоверение 1/12/1941, приказ МЗ РБ от 21.12.2011 № 1230, КЛС № 12 от 01.12.2011) имела следующий состав на 1 таблетку:

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК. E-mail: all-vgmu@mail.ru – Выхристенко Людмила Ростиславна.

Активные компоненты АВ-1П (в соотношении 2:1:1:1): аллерген из домашней пыли D4 - 0,02 мкг; аллерген из пера подушки D4 - 0,01 мкг; аллерген из пылевого клеща *D. pteronyssinus* D4 - 0,01 мкг; аллерген из библиотечной пыли D4 - 0,01 мкг. Вспомогательное вещество: микрокристаллическая целлюлоза – 120 мг. Аллергены, включенные в состав пероральной аллерговакцины, произведены ОАО «Биомед» им. И.И. Мечникова (Российская Федерация).

Способ применения и дозировка. Таблетки принимали вне зависимости от приема пищи. Таблетку помещали в ротовую полость и рассасывали в течение 1-2 минут, затем проглатывали, осуществляя прием по схеме:

1-й месяц лечения (фаза набора дозы): 1-я неделя - по 1 таблетке в день; 2-я-4-я недели - по 2 таблетки в день; со 2-го по 6-й месяцы лечения (фаза поддерживающих доз) - по 2 таблетки 2 раза в неделю (например, понедельник и пятница). Суммарная курсовая доза пероральной низкодозовой аллерговакцины составила 6,85 мкг - 685 PNU.

#### *Оценка эффективности терапии.*

Первичные конечные точки: контроль над симптомами астмы (опросник Asthma Control Test - АСТ [9]), снижение потребности в  $\beta_2$ -агонистах (АСТ) и ингаляционных глюкокортикостероидах (иГКС), включая иГКС+ $\beta_2$ -агонисты длительного действия. Использование пациентами иГКС учитывали по разработанной нами шкале: ингаляции по 1-2 дозе 2 раза в день - 3 балла, по 1-2 дозе 1 раз в день - 1,5 балла; иГКС+ $\beta_2$ -агонисты длительного действия по 1-2 дозе 2 раза в день - 4 балла, по 1-2 дозе 1 раз в день - 2 балла. Учитывали ежедневную потребность в данных лекарственных средствах (ЛС) в течение месяца наблюдения перед визитом к врачу. Все показатели оценивались в динамике: исходно, через 3, 6 месяцев терапии и спустя 1 месяц после ее окончания.

Вторичные конечные точки: качество жизни (опросник AQ20 [10]), число

обострений астмы в период наблюдения, степень улучшения состояния пациентов по общепринятой 4-балльной шкале оценки эффективности САВ [11]: 0 - неудовлетворительный эффект - состояние пациента не изменилось или ухудшилось; 1 - удовлетворительный эффект, симптомы заболевания уменьшились незначительно; 2 - хороший эффект, симптомы заболевания уменьшились значительно; 3 - отличный эффект, симптомы заболевания отсутствуют или имеются незначительные симптомы при контакте с аллергенами.

Оценка безопасности аллерговакцины. В соответствии с международными стандартами [3, 4] учитывали частоту (в днях) побочных местных и общих реакций, выраженность (в баллах) общих реакций, возникших при приеме пероральной аллерговакцины АВ-1П.

#### **Результаты и обсуждение**

##### *Характеристика групп испытуемых.*

Лекарственное средство «Аллерговакцина пероральная низкодозовая АВ-1П» получала 1-я основная группа, которую составили 33 пациента (10 мужчин и 13 женщин, средний возраст 34,1+11,31). Завершили курс лечения 81,8% (27/33) пациентов 1-й группы, что, учитывая длительность лечения, демонстрирует высокий уровень комплайенса при приеме таблеток аллерговакцины. 2-ю группу сравнения (стандартная фармакотерапия) составили 22 пациента (6 мужчин и 16 женщин, средний возраст 45,6+10,4). Из исследования выбыли 6 пациентов (18,2%, 6/33) 1-й и 2 пациента (9%, 2/22) 2-й группы, с которыми была потеряна связь.

##### *Динамика контроля симптомов АБА.*

До лечения в обеих группах преобладали пациенты с неконтролируемым течением АБА (табл. 1). После 3-х месяцев лечения аллерговакциной АВ-1П удалось достичь контролируемого или частично контролируемого течения астмы в 72,4% случаев (у 21 из 29 пациентов) по сравне-

Таблица 1  
**Динамика уровня контроля над симптомами аллергической бронхиальной астмы (баллы) на фоне терапии АВ-1П по сравнению с фармакотерапией по данным АСТ-теста (медиана, интерквартильный размах 25%-75%)**

Группы, метод лечения	Уровень контроля астмы, баллы	Этапы исследования, число пациентов					P <sub>исх-3</sub>	P <sub>исх-6</sub>	P <sub>исх-7</sub>
		исходно	3 месяца	6 месяцев	7 месяцев				
1-я, АВ-1П	Неконтролируемая астма	16,12 (15,0-18,0) n=24	16,63 (15,5-18,0) n=8	17,6 (18,0-18,0) n=10	17,83 (18,0-18,0) n=6	0,03	0,1	0,02	
	Контролируемая и частично контролируемая астма	22,22 (21,0-23,0) n=9	21,71 (21,0-23,0) n=21	22,0 (20,0-24,0) n=17	21,43 (20,0-22,0) n=21	0,03	0,07	0,02	
	Общий результат АСТ	17,79 (16,0-20,0) n= 33	20,31** (18,0-22,0) n= 29	20,37** (18,0-22,0) n= 27	20,62** (20,0-22,0) n= 27				
2-я, фармако-терапия	Неконтролируемая астма	16,94 (16,0-18,5) n=16	18,22 (18,0-18,5) n=8	17,58 (17,0-18,0) n=12	17,67 (16,0-19,0) n=15	0,2	0,4	0,6	
	Контролируемая и частично контролируемая астма	20,7 (20,0-21,0) n=6	24,27 (20,0-22,0) n=12	21,0 (20,0-21,5) n=8	20,6 (20,0-21,0) n=5	0,1	0,4	0,6	
	Общий результат	17,95 (16,0-20,0) n=22	19,9** (18,0-21,5) n=20	18,95* (18,0-20,0) n=20	18,4 (17-19,5) n=20				
Отличие общего результата АСТ между 1-й и 2-й группами		P <sub>1-2</sub> =0,8	P <sub>1-2</sub> =0,23	P <sub>1-2</sub> =0,05	P <sub>1-2</sub> =0,001				

Примечания: P<sub>исх-3</sub> – различия числа пациентов по показателю контроля над симптомами астмы исходно и через 3 месяца терапии (критерий Фишера); P<sub>исх-6</sub> – различия того же показателя исходно и через 6 месяцев терапии; P<sub>исх-7</sub> – различия того же показателя исходно и через 7 месяцев, \* - p<0,05 и \*\* - p<0,001 - различия результата АСТ-теста в группе по сравнению с исходной величиной, P<sub>1-2</sub> – различия между группами.

нию с исходным уровнем (27,3%; 9/33), ( $p=0,03$ ). После окончания приема АВ-1П (через 6 месяцев) контролируемое течение АБА наблюдалось в 63% случаев (17/27), ( $p=0,07$ ). Спустя месяц положительные результаты лечения сохранялись в 77,8% случаев (21/27), существенно различаясь с исходным уровнем ( $p=0,03$ ).

Число пациентов 2-й группы, достигших контроля симптомов астмы через 3 месяца от начала лечения, также возросло и составило 60% случаев по сравнению с исходным уровнем (27,3%), ( $p=0,1$ ). Но в дальнейшем уровень контроля симптомов астмы снижался (через 6 месяцев - 40% случаев контролируемой или частично-контролируемой астмы) и через 7 месяцев был близок к исходному уровню ( $p>0,05$ ) и составил 25%. Анализ причин, вызвавших снижение контроля над проявлениями астмы у пациентов 2-й группы, выявил низкую приверженность пациентов к применению ЛС базисной терапии (иГКС, кромонов, антагонистов лейкотриеновых рецепторов). Значительная часть пациентов 2-й группы (33,3%, 9/27) получала только  $\beta_2$ -агонисты короткого действия. Полученные данные демонстрируют недостаточный объем и продолжительность базисной терапии в реальной клинической практике, не соответствующий современным клиническим рекомендациям [7, 8].

Отмечено возрастание общего результата АСТ на фоне приема АВ-1П: с 17,85 исходно до 20,43 балла через 6 месяцев ( $p<0,001$ ). У пациентов 2-й группы уровень контроля над симптомами АБА также увеличился: с 17,95 исходно до 19,9 балла ( $p<0,001$ ) через 3 месяца от начала лечения, через 6 месяцев – до 18,95 балла ( $p<0,05$ ), однако через 7 месяцев снизился до 18,4 балла, существенно не различаясь от исходного значения ( $p>0,05$ ). На этапе 7 месяца наблюдения выявлялись существенные различия между 1-й и 2-й группами: в группе АВ-1П АСТ - 21,61 балла, в группе сравнения - 18,4 балла ( $p_{1,2}=0,001$ ).

*Динамика потребности в  $\beta_2$ -агонистах, иГКС, частота обострений астмы.*

Прием аллерговакцины в течение 6 месяцев способствовал уменьшению потребности в  $\beta_2$ -агонистах ( $p<0,001$ ) на 30,5% (-25,0-0,0). Худшие результаты получены в группе сравнения - потребность в  $\beta_2$ -агонистах снизилась на 1,7% (0,0-0,0), ( $p=0,7$ ), различия между 1-й и 2-й группами достоверны ( $p_{1-2}=0,03$ ). Доза иГКС снизилась через 6 месяцев терапии в 1-й группе на 50% (50,0-50,0) по сравнению с исходной ( $p=0,1$ ), во второй - на 35,7% (0,0-100,0), ( $p=0,1$ ), межгрупповых различий выявлено не было ( $p_{1,2}=0,46$ ).

Выявлено, что в группе АВ-1П реже регистрировались обострения астмы: 5 из 27 против 12 из 20 пациентов группы сравнения ( $p_{1,2}=0,04$ ), что подтверждает профилактический эффект САВ, доказанный в многочисленных многоцентровых исследованиях [2, 3, 6].

*Динамика качества жизни пациентов с атопической бронхиальной астмой.*

Самый высокий показатель качества жизни по опроснику AQ20 равен 0 баллов, а самый худший – 20 баллов. До лечения качество жизни пациентов оценивалось в 9-14 баллов (табл. 2). После лечения в группе пациентов АВ-1П качество жизни значительно улучшилось ( $p<0,001$ ), примерно на 4 балла (с 11 до 7). Во 2-й группе (фармакотерапия) через 3 месяца качество жизни также возросло примерно на 3 балла ( $p<0,001$ ), но в дальнейшем приближалось к исходному уровню и через 6 и 7 месяцев было существенно ниже в сравнении с группой АВ-1П ( $p_{1,2}=0,02$  и  $p_{1,2}=0,005$  соответственно).

Степень улучшения состояния пациента после САВ пероральной аллерговакциной АВ-1П по оценке врача и пациента составила: отличный результат достигнут у 3-х пациентов (11%; 3/27), хороший – у 22 (82%; 22/27), удовлетворительный – у 2-х пациентов (7%; 2/27).

Таблица 2

**Изменения показателей качества жизни пациентов с аллергической бронхиальной астмой по вопроснику AQ20 в баллах (медиана, интерквартильный размах 25%-75%)**

Группы	Этапы исследования, число пациентов			
	До лечения	3 месяца	6 месяцев	7 месяцев
1-я, аллерговакцина АВ-1П	11,39 (9,0-14,0) n= 33	8,0* (5,0-10,0) n= 30	6,96* (4,0-10,0) n= 27	7,30* (5,0-10,0) n= 27
2-я, фармакотерапия	10,95 (8,0-14,0) n=22 p <sub>1-2</sub> =0,8	7,60* (5,0-10,0) n=20 p <sub>1-2</sub> =0,6	9,0** (7,0-11,0) n=20 p <sub>1-2</sub> =0,017	9,99 (8,0-12,0) n=20 p <sub>1-2</sub> =0,005

Примечания: \* -  $p < 0,001$ , \*\* -  $p < 0,01$  – различия в сравнении с исходной величиной,  $p_{1-2}$  – различия между группами.

*Безопасность применения аллерговакцины.*

Побочные реакции наблюдались у 9% пациентов (у 3 из 33 пациентов) на первой неделе приема аллерговакцины АВ-1П. Местные реакции (зуд слизистых оболочек ротовой полости, першение в горле) зарегистрированы у 2-х пациентов (6,0%), были типичными для сублингвальной и пероральной САВ [4], сохранялись в течение 2-х дней. Системная аллергическая реакция (зуд кожи) наблюдалась у 1-го пациента (3,0%), ее степень тяжести была минимальной и оценивалась в 1 балл, продолжительность составила 2 дня. Ни в одном случае не потребовалась отмена аллерговакцины, все симптомы купированы антигистаминными ЛС.

Таким образом, проведенное исследование доказывает эффективность и безопасность нового импортзамещающего лекарственного средства «Аллерговакцина пероральная низкодозовая АВ-1П». Доказано преимущество комплексной терапии, включающей стандартную фармакотерапию и прием аллерговакцины АВ-1П, которая оказывала более эффективное действие на симптомы АБА по сравнению с обычной фармакотерапией. Полученные данные согласуются с признанием САВ как единственного метода медицинского вмешательства, который потенциально

может влиять на естественный ход аллергического заболевания [6], и доказывают целесообразность включения новой пероральной аллерговакцины в протоколы лечения атопической бронхиальной астмы при наличии сенсibilизации к бытовым аллергенам.

### Заключение

Аллерговакцина пероральная низкодозовая АВ-1П повышала ( $p=0,03$ ) уровень контроля над симптомами астмы, который достигался в 77,8% случаев (исходно – в 27,3%), снижала потребность в ЛС неотложной терапии ( $\beta_2$ -агонистах) на 30,5%, ( $p < 0,001$ ), и поддерживающей терапии (иГКС) на 50% ( $p=0,1$ ), повышала качество жизни пациентов ( $p < 0,001$ ). Комплексное лечение, включающее прием аллерговакцины и фармакотерапию, было более эффективным по сравнению со стандартной фармакотерапией астмы.

Аллерговакцина пероральная низкодозовая АВ-1П обладала противорецидивной, профилактической эффективностью, поскольку уменьшила число обострений бронхиальной астмы, потребность в госпитализации и оказании неотложной помощи.

Аллерговакцина пероральная низкодозовая АВ-1П обладала высокой без-

опасностью, так как зарегистрированные побочные реакции в 9% случаев (у 3-х из 33 пациентов) были местными или легкими системными и не требовали отмены лечения.

### Литература

1. World Health Organization (WHO): Fact sheet No. 307 on Asthma. - 2011.
2. WHO Position Paper. Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases. - Allergy. - 1998. - Vol. 53. - Suppl.1. - P.1-42.
3. Allergen immunotherapy: a practice parameter second update / L. Cox [et al.] // J Allergy Clin Immunol. - 2007. - №120. - P. 25-85.
4. Sublingual Immunotherapy. World Allergy Organization Position Paper / J. Philippe [et al.] // WAO Journal. - 2009. - P. 233-281.
5. Новиков, Д.К. Современные методы специфической иммунотерапии аллергических заболеваний / Новиков Д.К., Выхристенко Л.Р. // Аллергология и иммунология. - 2003. - Т. 4, №2. - С. 37-50.
6. EAACI: A European Declaration on Immunotherapy. Designing the future of allergen specific immunotherapy // Clinical and Translational Allergy. - 2012. -P. 2-20.
7. Global Strategy for Asthma Management and Prevention 2011 (update). The GINA reports are available : www.ginasthma.org. - 106 p.
8. Клинический протокол диагностики и лечения бронхиальной астмы: приложение 3 к приказу М-ва здравоохранения Респ. Беларусь от 05.07.2012, № 768. - 20 с.
9. Development of the asthma control test: a survey for assessing asthma control / R.A. Nathan [et al.] // J Allergy Clin Immunol. - 2004. - Vol. 113, № 1. - P. 59-65.
10. Validation of a standardized version of the Asthma Quality of Life Questionnaire / E.F. Juniper [et al.] // Chest. - 1999. -Vol. 115, № 5. - P.1265-1270.
11. Адо, А.Д. Бронхиальная астма // Частная аллергология / А.Д. Адо, Н.В. Адрианова. - М.: Медицина, 1976. - С. 57-210.

*Поступила 07.03.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

### Сведения об авторах:

Выхристенко Л.Р. – к.м.н., доцент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ».

---

---

© САВЕЛИХИНА И.А., ОСТРОВСКИЙ Н.Н., 2013

## ОСОБЕННОСТИ НАРУШЕНИЙ ФУНКЦИИ ВНЕШНЕГО ДЫХАНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ОБСТРУКТИВНОЙ БОЛЕЗНЬЮ ЛЕГКИХ III СТАДИИ В ПРОЦЕССЕ КОМПЛЕКСНОГО ЛЕЧЕНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РОФЛУМИЛАСТА

САВЕЛИХИНА И.А., ОСТРОВСКИЙ Н.Н.

*ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет», Украина, кафедра физиотриии и пульмонологии с курсом профессиональных болезней*

**Резюме.** Представлены особенности нарушений функции внешнего дыхания (ФВД) у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких (ХОБЛ) III стадии, которые в составе базовой терапии получали препарат рофлумиласт. Обследован 151 больной ХОБЛ III стадии. Верификацию диагноза и его формулировку проводили по материалам приказа МОЗ Украины № 128 от 19.03.2007 г. «Об утверждении клинических протоколов оказания медицинской помощи по специальности «Пульмонология». Обследование проведено до начала и на 30, 90 и 180 день лечения с использованием общепринятых схем терапии в сочетании с препаратом рофлумиласт.

Анализ результатов показал, что наибольшая эффективность отмечается у пациентов с включением в комплексную терапию препарата рофлумиласт продолжительностью 180 дней, так как именно в этот период максимально увеличиваются показатели ФВД.

**Ключевые слова:** хронические обструктивные заболевания легких, рофлумиласт, функция внешнего дыхания.

**Abstract.** The peculiarities of the disturbances of external respiratory function (ERF) in patients with the third stage of COPD, who received roflumilast are presented. We examined 151 patients with the third stage of COPD. Verification of the diagnosis and its formulation were performed on the basis of the order of the Ukrainian Ministry of Health №128 dated 19.03.2007 «On the approval of clinical protocols of medical care provision in the specialty «Pulmonology». The examination was performed prior to and on the 30<sup>th</sup>, 90<sup>th</sup> and 180<sup>th</sup> days of standard treatment combined with roflumilast.

The analysis of aggregate results showed that the highest efficacy was observed in patients who took roflumilast during 180 days, for in this very period external respiratory function parameters maximally increase.

**Key words:** chronic obstructive pulmonary diseases, roflumilast, external respiratory function.

**П**остановка проблемы. Хроническая обструктивная болезнь легких (ХОБЛ) и в XXI веке остается одной из основных глобальных проблем здравоохранения, приводящих к высоким показателям инвалидизации и смертности [1]. Учитывая огромные масштабы проблемы и высокую частоту неблагоприятных

осложнений патологии, в настоящее время ведущие мировые эксперты прилагают максимальные усилия, направленные на профилактику и оптимизацию лечения данного заболевания. К сожалению, существует недостаточное количество фундаментальных знаний о клеточных, молекулярных и генетических причинах заболевания, но современная концепция патогенеза ХОБЛ рассматривает ее как хроническое воспалительное заболевание с преимущественным поражением дистальных отделов дыхательных путей, паренхимы легких и формиро-

**Адрес для корреспонденции:** 76018, Украина, г. Ивано-Франковск., ул. Галицкая 93., кв 18. E-mail: iryna.savelikhina@gmail.com – Савелихина Ирина Александровна.

ванием эмфиземы, результатом которого является бронхиальная обструкция [1, 2, 3]. ХОБЛ обусловлена долговременным вдыханием вредных газов и частиц, таких как сигаретный дым, а также хроническими воспалительными заболеваниями нижних дыхательных путей и легочной паренхимы, риск ХОБЛ увеличивается во время обострений [4].

ХОБЛ в первую очередь характеризуется наличием ограничения скорости воздушного потока в результате воспаления и ремоделирования дыхательных путей и часто ассоциируется с разрушением паренхимы легких и развитием эмфиземы. Все шире признается, что ХОБЛ выходит за пределы легких и что многие пациенты имеют несколько системных проявлений, которые могут дополнительно ухудшить функциональные возможности и качество жизни [5]. Кроме того, все чаще ХОБЛ связана с рядом других заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, остеопороз, диабет и метаболический синдром. Системные эффекты и сопутствующие заболевания у пациентов с ХОБЛ увеличивают как риск госпитализации и смертности так и затраты на их лечение [5]. ХОБЛ наряду с артериальной гипертензией, ишемической болезнью сердца (ИБС) и сахарным диабетом входит в группу ведущих хронических заболеваний, на их долю приходится более 30% среди всех других форм патологии человека [6].

Несмотря на определенные успехи, достигнутые в лечении ХОБЛ, от нее страдает больше 10% мирового населения в возрасте старше 40 лет. Бремя болезни особенно высоко в развивающихся странах [4]. По прогнозу ВОЗ на период до 2020 г. ХОБЛ станет не только одной из самых распространенных болезней человека, но войдет в число лидирующих причин смертельных исходов. В то же время ожидается снижение уровня летальности от инфаркта миокарда, онкологических заболеваний, туберкулеза [5, 6].

Эксперты ВОЗ подсчитали, что сегодня умеренно-тяжелую ХОБЛ имеют 80 млн людей [7]. Каждый час от ХОБЛ умирает более 250 людей – то есть каждые 15 секунд где-то на Земле от ХОБЛ умирает человек

[7]. Согласно эпидемиологическим данным, до 15% взрослого населения стран Европы и Северной Америки страдает ХОБЛ. В структуре смертности от различных причин данная патология занимает 4-е место. Согласно прогнозам экспертов ВОЗ к 2020 г. по распространенности ХОБЛ переместится с 12-го места на 5-е, а к 2030 г. уровень смертности по причине ХОБЛ возрастет вдвое [8, 9]. По данным ВОЗ, в 2002 г. в Европе от ХОБЛ умерло 260 тыс. человек. Эта патология стала причиной 2,7% всех смертей, хотя, как считают специалисты, смертность от ХОБЛ явно недооценивается. В России в 2004 г. от ХОБЛ умерло 37806 человек [10]. Эксперты ВОЗ отмечают, что за последние 30 лет уровень смертности от ХОБЛ в мире вырос на 163% [9]. Так, это заболевание встречается в 4-6% взрослого населения Европы. Причем количество больных в Великобритании составляет около 3 млн чел., в Германии - 2,7 млн, в Италии и Франции - по 2,6 млн и в Испании - 1,8 млн [11].

В Украине данной патологии принадлежит первенство среди болезней органов дыхания. По данным «Европейской белой книги легких» (2003), Украина находится в числе стран с наиболее высоким уровнем смертности по причине осложнений ХОБЛ [12]. По данным официальной статистики, в Украине заболеваемость ХОБЛ в 10 раз выше, чем при бронхиальной астме. В процентном отношении ХОБЛ (62,4%) намного опережает другие респираторные заболевания по продолжительности периодов нетрудоспособности в структуре бронхолегочной патологии (для сравнения бронхиальная астма - 21,4%, пневмония - 7,6%) [11, 13, 14, 15].

Соответственно, растет и смертность от ХОБЛ (41,2 на 100000 населения), что в 3,2 раза превышает этот показатель при пневмонии (12,8) и в 34 раза (1,2) при бронхиальной астме [11, 13]. Показатели смертности и инвалидности стремительно растут, прежде всего, среди мужчин в трудоспособном возрасте [10, 11, 13]. Установлено, что пациенты с ХОБЛ переносят от одного до четырех и более обострений заболевания в течение года [13]. Как показали недавно



проведенные исследования, именно частота обострений является одним из наиболее важных факторов, определяющих качество жизни больных ХОБЛ, темпы прогрессирования заболевания и экономические затраты [14].

ХОБЛ стала значительным бременем для бюджетов органов здравоохранения. Так, в США только прямые затраты на лечение больных с данной патологией в 2002 году составили более 18 миллиардов долларов, а общие расходы, связанные с этим заболеванием, - более 32 миллиардов [1, 4]. В европейских странах около 74% всех расходов, связанных с ХОБЛ, приходится на потерю трудоспособности пациентов и менее 20% - это прямые затраты на их лечение (около 12% на амбулаторный этап, и 7% - на стационарный) [11, 13].

Для ХОБЛ характерно бессимптомное или малосимптомное начало заболевания с последующим прогрессирующим увеличением тяжести состояния, а также неуклонно нарастающее снижение функции внешнего дыхания (ФВД), и это наиболее специфический и прогностический признак заболевания. К сожалению, часто эта патология диагностируется на поздних стадиях, когда самые современные лечебные программы не позволяют замедлить неуклонное прогрессирование болезни. Важную роль в патогенезе ХОБЛ играет воспаление. Несмотря на сложность и многогранность воспаления при ХОБЛ, в нем все же присутствуют ключевые звенья. Одним из них является фосфодиэстераза (ФДЭ) IV типа - фермент, который регулирует метаболизм циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) в провоспалительных и иммунных клетках, а также катализирует переход цАМФ в его неактивную форму - АМФ. Ингибиторы ФДЭ-4 тормозят разрушение цАМФ и способствуют поддержанию высоких внутриклеточных уровней цАМФ, снижают активность провоспалительных функций клеток [7, 16, 17]. Поэтому создание препарата ингибитора ФДЭ-4-рофлумиласта стало уверенным шагом в борьбе с воспалением при ХОБЛ.

Установлено, что ФДЭ-4 экспрессируется всеми ключевыми клетками воспа-

ления (нейтрофилами, моноцитами, макрофагами, Т-лимфоцитами, эозинофилами), а также гладкомышечными и эпителиальными клетками дыхательных путей, гладкими мышцами и эндотелием сосудов, фибробластами и нервными клетками. Это предопределяет многофакторный механизм действия ингибитора ФДЭ-4 рофлумиласта [7, 16, 17]. Рофлумиласт не предоставляет прямого бронходилатационного эффекта, однако за счет мощного противовоспалительного действия он улучшает функцию внешнего дыхания [7, 16, 17].

Эффективность и безопасность рофлумиласта уже сегодня подтверждена результатами ряда масштабных исследований. В двух 12-месячных плацебо-контролируемых исследованиях приняли участие 3 тыс. пациентов с тяжелым и очень тяжелым течением ХОБЛ (Calverley PMA et al., 2009). Объединенный анализ этих исследований показал, что добавление рофлумиласта к  $\beta_2$ -агонистам длительного действия в этой категории больных обеспечило достоверное снижение частоты обострений по сравнению с монотерапией бронходилататорами (на 21%) [16]. Еще 2 многоцентровых плацебо-контролируемых двойных слепых 6-месячных исследования III фазы с участием более 1600 пациентов со среднетяжелым и тяжелым течением ХОБЛ были посвящены изучению эффективности рофлумиласта в комбинации с сальметеролом и тиотропиумом [16, 17].

Эти клинические исследования доказали, что рофлумиласт обеспечивает существенное и статистически достоверное улучшение показателей функции легких у больных ХОБЛ, которые уже получают базовую терапию бронходилататорами длительного действия (Fabbri LM et al., 2009). Кроме того, как показывает анализ полученных результатов, добавление рофлумиласта к базовой терапии тиотропиумом сопровождалось снижением частоты средне тяжелых обострений на 23%, а при его комбинации с сальметеролом этот показатель составил 37%. В 4-недельном перекрестном исследовании (DC Grootendorst et al., 2007) рофлумиласт обеспечивал су-

щественное сокращение общего количества клеток в индуцированной мокроте больных ХОБЛ - на 34% по сравнению с плацебо ( $p=0,0023$ ), в том числе нейтрофилов на 35,5% ( $p=0,0017$ ) и эозинофилов на 50% ( $p=0,0005$ ). Кроме того, у пациентов группы рофлумиласта отмечено достоверное снижение уровней маркеров воспаления в мокроте - ИЛ-8, нейтрофильной эластазы, эозинофильного катионного белка,  $\alpha$ 2-макроглобулина [16, 17].

Уже через несколько месяцев после появления на мировом фармацевтическом рынке рофлумиласт был включен в международное руководство Глобальной инициативы по борьбе с ХОБЛ (GOLD, 2011), что подчеркивает уникальную значимость этого препарата. Это первый и пока единственный противовоспалительный препарат в арсенале врачей, специально разработанный для лечения ХОБЛ.

Как уже сказано выше, ХОБЛ – мультифакторное заболевание, в патогенезе которого ключевое значение имеет воспаление и нарушение функции внешнего дыхания (ФВД). Наиболее показательным современным методом диагностики патологии легких является спирометрическое исследование функции внешнего дыхания. Без проведения спирометрии невозможно говорить о диагностике и адекватном лечении ХОБЛ.

Спирометрия (основной метод функциональной диагностики при бронхообструктивных заболеваниях) позволяет получить данные, достаточные для оценки обструктивных, рестриктивных или смешанных нарушений внешнего дыхания, выявить признаки гиперинфляции легких [18].

Целью исследования было изучение особенности нарушений ФВД у пациентов с ХОБЛ III стадии в процессе комплексного лечения с использованием рофлумиласта.

## Методы

Обследован 151 пациент ХОБЛ III стадии. Верификацию диагноза и его формулировку проводили по материалам приказа МОЗ Украины № 128 от 19.03.2007 г. «Об утверждении клинических протоко-

лов оказания медицинской помощи по специальности «Пульмонология» [14]. Клиническое обследование и исследования ФВД проведено 151 пациенту до начала и на 30, 90 и 180 день лечения с использованием общепринятых схем терапии в сочетании с препаратом рофлумиласт.

Для изучения эффективности использования предложенных нами программ лечения ХОБЛ III стадии все обследованные были разделены на группы в зависимости от назначенного им лечения. I группа - 85 пациентов, которые получали традиционную базисную терапию без использования рофлумиласта. II группа - 66 пациентов, которым в составе базисной терапии назначали препарат рофлумиласт делиться на: II-а подгруппа - 31 пациент, которому в составе базисной терапии назначали препарат рофлумиласт 500 мкг 1 таблетка 1 раз в сутки курсом 30 дней. II-б подгруппу - 24 пациента, в составе базисной терапии получали препарат рофлумиласт 500 мкг 1 таблетка 1 раз в сутки курсом 90 дней, II-в подгруппу - 11 пациентов, в составе базисной терапии получали препарат рофлумиласт 500 мкг 1 таблетка 1 раз в сутки курсом 180 дней. Обследовано также 15 практически здоровых лиц (ПЗЛ). Базисная терапия включала: М-холинолитики длительного действия,  $\beta$ 2-агонисты короткого действия ингаляционные и системные глюкокортикостероиды.

## Результаты и обсуждение

Диагностическим критерием ХОБЛ III стадии является уменьшение  $30\% < \text{ОФВ1} < 50\%$  от должных в сочетании с  $\text{ОФВ1/ФЖЕЛ} < 70\%$  и улучшение  $\text{ОФВ1}$  не более, чем на 12% от должного после пробы с бронхолитиком, что указывает на неполную обратимость бронхообструкции. ФВД оценивали 151 пациенту путем проведения спирографии, которая осуществлялась с помощью аппарата «Spirosom» (г. Харьков, Украина).

Исследования показали, что до лечения показатели ФВД составляли: ФЖЕЛ, % -  $72,69 \pm 3,77$ , ОФВ1, % -  $38,11 \pm 3,43$ , МСВ25%

- 36,21±3,18, МСВ50% - 32,62±2,21, МСВ75% - 34,41±3,70, ОФВ1/ФЖЕЛ,% - 52,42±3,54. В процессе проведения исследований у пациентов I группы мы констатировали незначительное улучшение показателей ФВД на 30-й день лечения. Нами не отмечено положительной динамики показателей ФВД на 90-й и 180 день лечения, которые оказались не достоверными, что подробно представлено в таблице 1.

Оценивая данные спирограммы, мы зафиксировали ряд благоприятных изменений, в частности увеличение показателей ОФВ1 - в 1,2 раза ( $p > 0,01$ ) у лиц II-а подгруппы исследования (табл. 2) и в 1,18 раза у больных II-б подгруппы исследования ( $p > 0,01$ ) по сравнению с исходными данными до начала лечения (табл. 2), хотя данный параметр был - в 2,07 раза и - в 2,12 раза ( $p > 0,01$ ) ниже значений в группе контроля. Кроме этого показатель МШВ25 вырос - в 1,08 раза у пациентов II-а подгруппы исследования и в 1,22 раза у лиц II-б подгруппы исследования ( $p > 0,05$ ), что было в 1,9 и в 1,7 раза ниже в соответствующих группах исследования ( $p > 0,05$ ) от значений в группе контроля (табл. 2). МШВ50 увеличился - в 1,2 раза и в 1,4 раза в обследованных II-а и II-б подгрупп исследования ( $p > 0,05$ ). Показатель МШВ75 увеличился в 1,4 раза у больных II-а подгруппы исследования (табл. 2) и в 1,4 раза у лиц II-б подгруппы исследования ( $p > 0,05$ ), по сравнению с аналогичными данными до начала лечения пациентов с ХОБЛ III стадии (табл. 2).

Показатель ФЖЕЛ стал больше в 1,10 раза у больных II-а подгруппы исследования и в 1,04 раза у лиц II-б подгруппы исследования ( $p > 0,05$ ), по сравнению с аналогичными данными до начала лечения пациентов, но все же остался в -1,33 раза и - в 1,36 ниже по сравнению с ПЗЛ.

ОФВ1/ФЖЕЛ на момент завершения терапии вырос в 1,09 раза по сравнению с данными до лечения ( $p > 0,05$ ) при использовании рофлумиласта курсом 30 суток в лечении пациентов ХОБЛ III стадии (табл. 2).

Добавление к базисной терапии препарата рофлумиласт курсом 90 суток привело к лучшей динамике данного показателя, а

именно увеличение в 1,12 раза по сравнению с данными до лечения ( $p > 0,05$ ) (табл. 2).

Проведя анализ данных спирографии, мы зафиксировали положительные сдвиги при использовании препарата рофлумиласт курсом 180 суток при лечении ХОБЛ III стадии. Хотим отметить, что выявленные изменения на время повторного обследования имели более благоприятную динамику, по сравнению с таковой в первой группе исследования, так с использованными схемами медикаментозной коррекции II-а и II-б подгруппах исследования. Пролонгированный прием препарата рофлумиласт на фоне базисной терапии привел к увеличению, по сравнению с данными до проведения лечения, показателей ОФВ1 - в 1,28 раза ( $p > 0,01$ ), МШВ25 - в 1,28 раза ( $p > 0,05$ ), МШВ50 - в 1,52 раза ( $p > 0,05$ ), МШВ75 - в 1,43 раза ( $p > 0,05$ ) и ОФВ1/ФЖЕЛ - в 1,19 раза ( $p > 0,05$ ) по сравнению с данными до проведения лечения, ФЖЕЛ - в 1,07 раза ( $p > 0,05$ ).

Но данные параметры оставались ниже значений чем в группе контроля. Нами зафиксировано увеличение показателей ОФВ1 - в 1,28 раза ( $p > 0,01$ ), МШВ25 - в 1,24 раза ( $p > 0,05$ ), МШВ50 - в 1,5 раза ( $p > 0,05$ ), МШВ75 - в 1,3 раза ( $p > 0,05$ ), ФЖЕЛ - в 1,05 раза ( $p > 0,05$ ), ОФВ1/ФЖЕЛ - в 1,21 раза по сравнению с данными первой группы исследования, где не использовался препарат рофлумиласт (табл. 2).

Следовательно, такое выраженное влияние примененного препарата рофлумиласт, как компонента базисного лечения на восстановление и стабилизацию функции внешнего дыхания при ХОБЛ III стадии, по нашему мнению, объясняется характерным для выбранного нами препарата механизмом действия, направленным на главные звенья воспалительного процесса при ХОБЛ, что стало шагом вперед на пути к усовершенствованию лечения этого заболевания.

### Заключение

1. Для фазы ремиссии ХОБЛ III стадии характерно снижение функции внеш-

Таблица 1

**Показатели функции внешнего дыхания (%) у больных с хроническим обструктивным заболеванием легких III стадии в процессе лечения с использованием рофлумапта курсом 30, 90 и 180 суток, (M ± m)**

Показатели спирометрии	ПЗО, n=15	Больные П-а подгруппы исследования, n=31		p1	p2	Больные П-б подгруппы исследования, n=24		p1	p2	Больные П-в подгруппы исследования, n=11		p1	p2
		До лечения	После лечения			До лечения	После лечения			До лечения	После лечения		
ФЖЭЛ, %	102,27±0,25	68,27±3,02	74,96±3,41	<0,05	<0,05	72,19±3,33	75,02±4,71	<0,05	<0,05	69,76±3,22	75,06±3,14	<0,05	<0,05
ОФV <sub>1</sub> , %	97,39±0,22	39,12±2,59	47,01±2,06	<0,05	<0,05	38,85±4,04	45,89±3,43	<0,05	<0,05	37,25±3,09	47,68±3,76	<0,05	<0,05
МОС <sub>25</sub> , %	77,12±4,81	37,42±3,52	40,42±3,29	<0,05	<0,05	36,93±3,82	45,25±3,68	<0,05	<0,05	37,71±2,02	48,46±3,09	<0,05	<0,05
МОС <sub>30</sub> , %	63,52±2,68	34,28±2,15	43,19±2,62	<0,05	<0,05	33,72±2,57	48,02±2,24	<0,05	<0,05	34,38±3,15	52,31±3,12	<0,05	<0,05
МОС <sub>75</sub> , %	56,94±3,48	35,84±2,68	49,24±2,75	<0,05	<0,05	36,87±3,02	51,41±3,25	<0,05	<0,05	37,24±3,34	53,28±3,81	<0,05	<0,05
ОФV <sub>1</sub> /ФЖЭЛ, %	95,22±1,22	57,30±2,32	62,71±2,69	<0,05	<0,05	54,57±2,09	61,17±2,09	<0,05	<0,05	53,39±2,31	63,52±3,72	<0,05	<0,05

Примечания: p1 - достоверность разницы параметров между показателями до лечения и после проведенного лечения; p2 - достоверность разницы параметров между группами исследования и контролем.

Таблица 2

**Показатели функции внешнего дыхания (%) у больных с хроническим обструктивным заболеванием легких III стадии I группы исследования (без использования рофлумапта) (M ± m)**

Показатели спирометрии	ПЗО, n=15	До лечения		p1	p2	90-ый день лечения		p1	p2	180-ый день лечения		p1	p2
		До лечения	30-ый день лечения			p2	p1			p2	p1		
ФЖЭЛ, %	102,27±0,25	72,69±3,77	73,16±3,57	<0,05	<0,05	70,12±3,36	71,24±3,52	>0,05	<0,05	71,24±3,52	71,24±3,52	>0,05	<0,05
ОФV <sub>1</sub> , %	97,39±0,22	38,11±3,43	39,04±3,03	<0,05	<0,05	37,45±3,09	37,32±3,26	>0,05	<0,05	37,32±3,26	37,32±3,26	>0,05	<0,05
МОС <sub>25</sub> , %	77,12±4,81	36,21±3,18	36,91±3,97	<0,05	<0,05	35,91±2,88	36,18±3,12	<0,05	<0,05	36,18±3,12	36,18±3,12	<0,05	<0,05
МОС <sub>30</sub> , %	63,52±2,68	32,62±2,21	33,22±3,11	<0,05	<0,05	32,88±2,91	33,87±2,01	<0,05	<0,05	33,87±2,01	33,87±2,01	<0,05	<0,05
МОС <sub>75</sub> , %	56,94±3,48	34,41±3,70	34,91±2,56	<0,05	<0,05	34,61±3,91	34,05±3,27	<0,05	<0,05	34,05±3,27	34,05±3,27	<0,05	<0,05
ОФV <sub>1</sub> /ФЖЭЛ, %	95,22±1,22	52,42±3,54	52,64±3,14	<0,05	<0,05	53,40±3,71	52,38±3,38	>0,05	>0,05	52,38±3,38	52,38±3,38	>0,05	>0,05

Примечания: p1 - достоверность разницы параметров между показателями до лечения и после проведенного лечения; p2 - достоверность разницы параметров между группами исследования и контролем.

него дыхания (снижение ОФВ<sub>1</sub>, ФЖЕЛ, ОФВ<sub>1</sub>/ФЖЕЛ).

2. Пролонгация приема больными ХОБЛ III стадии рофлумиласта в составе базовой терапии до 90 дней по сравнению с 30-дневным курсом характеризуется более значимым улучшением показателей ФВД.

3. Лечение препаратом рофлумиласт, который включен в состав базисной терапии ХОБЛ, привел к наиболее видимому улучшению показателей ФВД именно в той группе пациентов, которые принимали его 180 дней, по сравнению с 30- и 90-дневным сроком лечения, а особенно по сравнению с группой пациентов, которым рофлумиласт не включили в состав базисной терапии.

### Литература

- Barnes, P.J. Systemic manifestations and comorbidities of COPD / P. J Barnes., B.R Celli // ERJ.-2009. - Vol. 33. -P. 1165-1185.
- Авдеев, С.Н. Современные подходы к диагностике и терапии легочной гипертензии у пациентов с хронической обструктивной болезнью легких / С.Н. Авдеев // Пульмонология. - 2009. - № 1. - С. 90-101.
- Кубышева, Н.И. Растворимые антигены ICAM-1 и ICAM-3 при хронической обструктивной болезни легких / Н. И. Кубышева [с соавт.] // Иммунология. - 2009. - №5 - С. 55-57.
- Kazuhiro, Ito. COPD as a Disease of Accelerated Lung Aging // FR, Ito Kazuhiro., Peter J. Barnes //Chest. - 2009. - Vol 135, No. 1.
- Barnes, P.J. Chronic Obstructive Pulmonary Disease: Effects beyond the Lungs / P.J. Barnes // PLoS Med 7(3): e1000220. doi:10.1371/journal.pmed.1000220.
- Чучалин, А.Г. Хроническое обструктивное заболевание легких и сопутствующие заболевания / А.Г. Чучалин // Здоров'я України.-2009.-№15-16. - С.37.
- Рофлумиласт может кардинально изменить подход к лечению пациентов с ХОБЛ / Ф. Мартинез [ и др.] По материалам 19-го Конгресса ERS, 13 сентября, г. Вена, Австрия // Здоров'я України.-2009.-№18. - С.12-13.
- Современные режимы антибактериальной терапии инфекций нижних дыхательных путей / Зайцев А.А. [И др.] // Леч. врач. - 2011. - № 9. <http://www.lvrach.ru/2011/09/7312597>.
- Butorac-Petanjek, V. Antibiotic therapy for exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) / V. Butorac-Petanjek [et al.] // Chemother. - 2010, 22 (5): 291-297.
- Фещенко, Ю.И. Актуальные вопросы диагностики и лечения хронического обструктивного заболевания легких [Материалы IV съезда фтизиатров и пульмонологов Украины, Киев 20-22 октября 2008 г.] / Ю.И. Фещенко // Укр. пульмон. журн. - 2008. - № 2. Приложение. - С.7-1.
- Фещенко, Ю.И. Ведущие специалисты проанализировали текущее состояние проблемы ХОБЛ в Украине и наметили пути ее решения / Ю.И. Фещенко, Л.А. Яшина // Здоровье Украины – декабрь 2010 - № 24 (253) - С. 31 - 33.
- Перцева, Т.А. Мышечная дисфункция при ХОБЛ: переоценка проблемы, новые возможности терапии / Т.А. Перцева // Здоров'я України.-2009. - №3/1. - С.17.
- Фещенко, Ю.И. Контроль над ХОЗЛ - возможен ли он сегодня? Ю.И. Фещенко, Л.А. Яшина, Т.А. Перечная // Здоровье Украины - декабрь 2010 - № 1 (13) - С. 10-11.
- Фещенко, Ю.И. ХОБЛ в Украине: проблемы и пути их решения // Ю.И. Фещенко // Здоровье Украины.-2009. - № 9/1. - С. 3-4.
- Зыков, К.А., Кларитромицин в лечении обострений хронической обструктивной болезни легких / К.А. Зыков, А.В. Аверьянов // Здоров'я України. -2008. - № 16/1. - С. 29-30.
- Рофлумиласт достоверно снижает частоту обострений ХОЗЛ: данные анализа исследований // Здоров'я України. - 2010. - №20 (249). - С.27.
- Яшина, Л.А. Рофлумиласт: терапия ХОЗЛ на максимальной глубине / Яшина Л.А., Дзюблик А.Я., Перцева Т.А. // Здоров'я України.-2011.-№2. (14). - С.12-13.
- Полянская, М.А. Спирометрия в вопросах и ответах / М.А. Полянская // Здоров'я України.-2009.-№2/1. - С.38-39.
- Приказ МЗ Украины № 128 от 19.03.2007 «Об утверждении клинических протоколов оказания медицинской помощи по специальности «Пульмонология».

Поступила 07.03.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Савелихина И.А. - магистр медицины кафедры фтизиатрии и пульмонологии с курсом профессиональных болезней ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет»;  
Островский Н.Н. - профессор, зав. кафедрой фтизиатрии и пульмонологии с курсом профессиональных болезней ГВУЗ «Ивано-Франковский национальный медицинский университет».

© СЕРГИЕВИЧ А.В., ЛИТВЯКОВ А.М., 2013

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СЫВОРОТОЧНОГО УРОВНЯ АРГИНАЗЫ I У ПАЦИЕНТОВ С ПСОРИАЗОМ И ПСОРИАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

СЕРГИЕВИЧ А.В., ЛИТВЯКОВ А.М.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра госпитальной терапии

**Резюме.** Аргиназа – фермент, который катализирует гидролиз L-аргинина с образованием орнитина и мочевины. Аргиназа может ингибировать синтез оксида азота (NO), конкурируя с NOS за L-аргинин. Обследованы пациенты с псориазом, псориатическим артритом и контрольная группа – здоровые люди. У пациентов с псориатическим артритом и псориазом сывороточный уровень аргиназы статистически значимо выше, чем в контрольной группе. Сывороточный уровень аргиназы I у пациентов с псориазом статистически значимо выше, чем у пациентов с псориатическим артритом. Сывороточный уровень аргиназы I наиболее сильно и статистически значимо коррелирует с быстро изменяющимися при изменении клинической ситуации показателями, отражающими воспалительный процесс, сопровождающийся гибелью клеток, содержащих аргиназу I. Дисфункция эндотелия и атеросклероз обеспечивают длительно стабильный уровень аргиназы I в сыворотке крови. Для пациентов с псориатическим артритом и кожный, и суставной процессы являются независимыми факторами, значительно увеличивающими уровень аргиназы I. Для пациентов с псориазом поражение кожного покрова – основной фактор, определяющий значительный подъем уровня аргиназы I.

*Ключевые слова:* псориаз, псориатический артрит, аргиназа I.

**Abstract.** Arginase is an enzyme, which causes hydrolysis of L-arginine with ornithine and urea formation. Arginase can inhibit nitrogen oxide (NO) synthesis, competing with NOS for L-arginine. Patients with psoriasis, psoriatic arthritis and the control group - healthy people have been examined. In patients with psoriatic arthritis and psoriasis the serum level of arginase is reliably higher than in the control group. The serum level of arginase I in patients with psoriasis is reliably higher than in patients with psoriatic arthritis. When a change of clinical situation occurs arginase I serum level most strongly and statistically significantly correlates with quickly altering indicators reflecting an inflammatory process, accompanied by the destruction of the cells containing arginase I. Endothelium dysfunction and atherosclerosis provide long stable level of arginase I in blood serum. For patients with psoriatic arthritis both dermal, and articular processes are the independent factors considerably enlarging the level of arginase I. For patients with psoriasis an integument lesion is a major factor determining significant rise in the level of arginase I.

*Key words:* psoriasis, psoriatic arthritis, arginase I.

**А**ргиназа – высококонсервативное семейство двухъядерных марганецсодержащих ферментов, которые

катализируют гидролиз L-аргинина с образованием орнитина и мочевины [1-8].

Существуют два различных изофермента аргиназы, которые закодированы отдельными генами, расположенными на различных хромосомах и имеющими независимую регуляцию [2, 4, 6, 9]. Аргиназа I состоит из 322 аминокислотных остатков, 11.5-kbp длиной, состоит из 8 экзонов. Аргиназа II состоит из 354 аминокислот-

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра госпитальной терапии. Тел.моб.: +375 (029) 216-30-80, e-mail: sergievich-st@rambler.ru – Сергиевич Александр Владимирович.

ных остатков [10]. Их аминокислотные последовательности идентичны на 59% [1]. Они подобны относительно ферментных свойств и содержанию марганца, субстрату, но отличаются субклеточной локализацией [5], распределением в тканях, регулированием экспрессии и иммунологической реактивностью. Тип аргиназа I, конститутивный цитозольный фермент, в большом количестве экспрессирован в печени и катализирует последний шаг цикла мочевины и ограниченно в нескольких других тканях [1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11]. Отсутствие активности аргиназы I приводит к тяжелой гиперамониемии и смерти вскоре после рождения [7].

Орнитин, продукт катаболизма l-аргинина к мочевины [3, 4, 6, 9, 12, 13] - общий субстрат для синтеза пролина, глутамата и полученных из полиамина путресцина аминокислот, спермитидина и спермидина в клетках млекопитающих [3, 4, 6, 9, 12], которые являются существенными для пролиферации клеток и регуляции клеточного цикла и которые поэтому являются проатеросклеротическими [6].

Орнитиндекарбоксилаза (ODC) - первый и управляющий скоростью синтеза фермент в синтезе полиаминов из орнитина [14]. Из l-орнитина синтезируется полиамин путресцин, из которого далее путем последовательной передачи полиаминной группы от S-аденозилметионина синтезируются аминокислоты спермитидина и спермидина, которые модулируют пролиферацию клеток и их дифференцирование, важны в пролиферации гладкомышечных клеток [1, 3, 4, 11]. Поскольку ODC и аргиназа I – со-локализованы в цитозоли [11, 14], орнитин, произведенный аргиназой I, с готовностью используется для синтеза полиаминов [14]. Поскольку полиамины являются существенными в пролиферации эндотелиальных клеток, увеличенный синтез полиаминов из аргинина может играть важную роль в заживлении раны и ангиогенезе [6, 14]. Полиамины, произведенные в аргиназном пути, могут использоваться как питательное вещество некоторыми инфекционными агентами [5].

Орнитинаминотрансфераза (OAT) - митохондриальный фермент, преобразовывает орнитин, произведенный или в цитозоли (аргиназа I), или в митохондриях (аргиназа II), в пирролин-5-карбоксилат (P5C), который впоследствии преобразован в глутамат дегидрогеназой P5C (митохондриальный фермент) или в пролин редуктазой P5C (цитозольный фермент) [1, 3, 11, 14]. OAT, редуктаза P5C и дегидрогеназа P5C присутствуют во многих тканях, что предоставляет возможность для синтеза и пролина, и глутамата. Пролин - основная аминокислота, необходимая для синтеза коллагена и образования внеклеточного матрикса, и, таким образом, увеличение синтеза пролина из аргинина может играть важную роль в сосудистой модернизации [11, 14].

Иммуногистохимические исследования показали, что большая часть аргиназ в кровеносных сосудах присутствует в эндотелии [9]. Сосудистые гладкомышечные клетки также обладают низкой аргиназной активностью. Интерлейкин 4 (ИЛ-4), ИЛ-13, фактор роста- $\beta$ , лизофосфатидилхолин и механическое напряжение способны увеличивать аргиназную активность [1, 9], выборочно вызывая экспрессию аргиназы I. Это контрастирует с результатами, полученными в эндотелиальных клетках, где найдены обе изоформы аргиназы. Недавние исследования вовлекли путь JakStat и цАМФ в индукцию аргиназы I в гладкой мускулатуре сосудов [1].

Повышенная экспрессия аргиназы I или аргиназы II увеличивает продукцию и пролина, и глутамата, и полиаминов из аргинина эндотелиальных клеток, указывая, что эти синтетические метаболические пути в эндотелиальных клетках обычно ограничиваются наличием субстрата – орнитина [2, 3, 14]. Кроме того, предсказанная продукция коллагена в ответ на стимулы, такие как фактор роста опухоли- $\beta$  и циклическое напряжение, зависит от формирования пролина [3].

Ряд признаков подтверждают роль аргиназы в росте гладкомышечных клеток [1]. Вместо того, чтобы модулировать NO синтез, аргиназа в сосудистых гладкомы-

шечных клетках увеличивает синтез полиаминов и пролина для пролиферации клеток и синтеза многих структурных белков, включая коллаген [1, 9, 15]. Способность аргиназы непосредственно стимулировать пролиферацию гладкомышечных клеток с помощью увеличенного синтеза полиаминов может также быть далее усилена аргиназа-опосредованной супрессией NO, который является известным ингибитором роста гладкомышечных клеток [1].

Таким образом, увеличенная экспрессия аргиназы в сосудистых гладкомышечных клетках может быть важным фактором в пролиферации и миграции гладкомышечных клеток, приводя к иницированию или прогрессии гиперплазии интимы и сосудистой неподвижности в ответ на повреждение или во время старения [9, 15]. Ген аргиназы был также идентифицирован как возможный кандидат, который влияет на чувствительность к атеросклерозу [1].

Рассмотрение биохимических свойств аргиназы и NOS поддерживает понятие, что аргиназа может ингибировать синтез оксида азота (NO), конкурируя с NOS за L-аргинин [3, 4, 8, 10, 12, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20].

NO, синтезируемый кератиноцитами, при высоких концентрациях считают ключевым ингибитором клеточной пролиферации и индуктором дифференцирования *in vitro*. В псориатических поражениях высокая мощность NO синтаз обеспечивается экспрессией индуцибельной NO синтазы (iNOS) (мРНК и белок в псориатических поражениях) [20]. Цитозольный фермент аргиназа I конкурирует с iNOS за общий субстрат L-аргинин [12, 19, 20]. iNOS и аргиназа I со-экспрессированы [20] и повышено продуцируются в кератиноцитах основного эпидермального слоя в пораженной коже пациентов с псориазом [12, 13, 20, 21].

В непораженной коже у пациентов с псориазом наблюдается небольшое увеличение уровня спермидина и отношения спермидин/спермин (индикатор активности пролиферации) [21], значительно увеличена концентрация L-орнитина по сравнению с кожей людей без псориаза [12]. В псориатических поражениях уровни полиаминов (пу-

тресцин, спермидин, спермин) и активность биосинтетических ферментов (орнитиндекарбоксилаза и декарбоксилаза S-аденозил-L-метионин) были значительно увеличены [12, 21], тогда как уровень L-цитрулина (образуется из L-аргинина под действием NOS) существенно не изменен. Эпидермальный [12] и сывороточный уровень аргинина уменьшен, а сывороточный уровень L-орнитина значительно увеличен [19]. Так как происходит одновременно увеличение уровня L-орнитина, ферментов, потребляющих его, и падение уровня L-аргинина, по-видимому, из-за увеличенного потребления, следовательно в коже у пациентов с псориазом высокая активность аргиназы I. Так как при этом выявляется сниженный уровень L-цитрулина, то, несмотря на экспрессию iNOS, сокращение доступного субстрата ограничивает продукцию NO [53].

Нами обнаружено недостаточно исследований, которые бы проводили сравнительное изучение сывороточного уровня аргиназы I у пациентов с псориазом (Пс) без поражения суставов и псориатическим артритом (ПсА).

Целью работы является изучение уровня аргиназы I в сыворотке крови пациентов с осложненным артритом и не осложненным артритом клиническим течением псориаза, определение возможной ассоциации между уровнем аргиназы I и проатерогенными изменениями ТИМ артерий в различных сосудистых регионах, тяжестью суставных поражений при ПсА, степенью поражения кожного покрова, активностью и длительностью заболевания.

## Методы

В исследование включены 58 пациентов с ПсА (средний возраст  $42,7 \pm 9,8$  лет): мужчин 31 (средний возраст  $44,2 \pm 8,2$  лет), женщин 27 (средний возраст  $41,0 \pm 11,3$  лет); 56 пациентов с Пс без поражения суставов (средний возраст  $38,1 \pm 13,3$  лет): мужчин 37 (средний возраст  $39,6 \pm 13,6$  лет), женщин 19 (средний возраст  $35,1 \pm 12,4$  лет). Контрольную группу составили 22 здоровых человека (средний возраст  $41 \pm 11$  лет).



У всех пациентов, после получения информированного согласия, выполнено ультразвуковое исследование в В-режиме с использованием высокочастотного датчика. Исследовались сонные артерии (общая сонная артерия, внутренняя сонная артерия, наружная сонная артерия, бифуркация) с обеих сторон; брюшная аорта (верхний, средний, нижний отдел), ветви брюшной аорты (верхняя брыжеечная артерия, чревный ствол, правая и левая подвздошные артерии). Оценивалась ТИМ по каждой из сонных артерий, брюшной аорте, ветвям брюшной аорты, рассчитывается средняя величина ТИМ по сонным и абдоминальным артериям [22]. У всех пациентов определена степень кожных поражений (индекс PASI) [23]. У пациентов с ПсА оценивались суставной индекс Ричи, индексы DAS, DAS 28 [23, 24]. Сывороточная концентрация аргиназы I определена с использованием набора BioVendor Human Arginase Liver Type ELISA Standards. Контрольные и исследуемые образцы введены в лунки микропластины, предварительно покрытые моноклональными антителами к человеческой аргиназе. После инкубации 60 минут и промывки моноклональные антитела к человеческой аргиназе с захваченной аргиназой конъюгировали с пероксидазой хрена, добавленной в лунки и выведенной в течение 60 минут. После следующей промывки оставшаяся конъюгированная пероксидаза хрена позволяет реагировать с растворимым субстратом. Реакция остановлена добавлением кислого раствора, и спектральная поглощательная способность получающегося желтого продукта измерена спектрофотометрически с использованием фильтров 450 нм. Спектральная поглощательная способность пропорциональна концентрации аргиназы. Стандартная кривая построена по полученным значениям спектральной поглощательной способности на концентрации Стандартов, концентрации исследуемых образцов определены, используя эту стандартную кривую.

Исследование проведено на базе ревматологического отделения УЗ «Витебская областная клиническая больница», кожного отделения УЗ «Витебский областной

клинический кожно-венерологический диспансер», отделения функциональной диагностики УЗ «Клиника Витебского государственного медицинского университета».

Статистическая обработка полученных результатов проводилась программами из пакета STATISTICA 6.0 (Mann-Whitney U Test, Descriptive Statistics, Spearman Rank Order Correlations).

### Результаты и обсуждение

Полученные результаты по содержанию аргиназы I в сыворотке крови пациентов с Пс и ПсА представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Сывороточный уровень аргиназы I у пациентов с ПсА меньше, чем с Пс. При применении Mann-Whitney U Test выявлено, что различия – достоверные,  $Z = 2,0127$ ;  $p = 0,0442$ .

Проведено сравнение уровня аргиназы I в сыворотке крови пациентов с ПсА и Пс с людьми из контрольной группы. Выявлено, что сывороточный уровень аргиназы в контрольной группе достоверно ниже, чем у пациентов с ПсА ( $Z = -1,9894$ ;  $p = 0,0466$ ) и у пациентов с Пс ( $Z = -4,2230$ ;  $p = 0,0000$ ).

Так как аргиназа I является цитозольным ферментом [1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11], следовательно в крови в большом количестве появляется при гибели клеток, например при асептическом или септическом воспалении, травме. В нашем исследовании площадь пораженного псориазическим процессом кожного покрова и активность воспаления значительно преобладали у пациентов с Пс над пациентами с ПсА. Индекс PASI в группе с ПсА составил 2,8 (1,1; 4,8), в группе с Пс 3,95 (3,15; 11,65). Mann-Whitney U Test показал  $Z = -2,2082$ ,  $p = 0,0272$ , то есть по степени поражения кожного покрова пациенты с Пс достоверно преобладают над пациентами с ПсА. По степени поражения печени, то есть по уровню печеночных ферментов пациенты с ПсА и Пс достоверно не различались (в клетках печени аргиназа I экспрессирована в большом количестве [1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11]). По сравнению с пора-

Таблица 1

**Сывороточная концентрация аргиназы I у пациентов с псориатическим артритом и псoriasisом**

	Mean	Median	Minimum	Maximum	Percentile 25%	Percentile 75%	Std.Dev.
Аргиназа I при ПсА	376,2114	213,7200	23,08000	1585,120	79,60000	535,4000	400,9555
Аргиназа I при Пс	495,3156	332,2800	85,28000	1627,240	217,7600	697,1400	400,5365

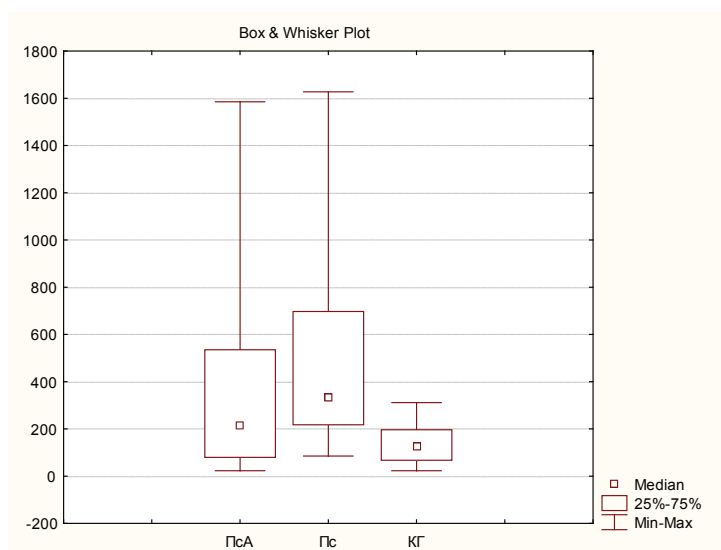


Рис. 1. Сывороточный уровень аргиназы I у пациентов с ПсА, Пс и в контрольной группе.

женным кожным покровом площадь и объем воспаленных суставных поверхностей незначительные и не оказывают большого влияния на сывороточный уровень аргиназы I у пациентов с ПсА. Мы считаем, что этим объясняется достоверно больший уровень аргиназы I у пациентов с Пс, чем у пациентов с ПсА.

Проведена оценка степени корреляции сывороточного уровня аргиназы I с субъективными (показатели качества жизни), объективными (активность заболевания, рентгенологическая стадия, функциональная недостаточность, возраст, длительность заболевания, индекс поражения кожи – PASI, индекс Ричи, индексы активности суставного синдрома – DAS, DAS28), инструментальными (толщина КИМ в сонных и брюшных артериях) и лабораторными показателями (ИЛ1 $\beta$ , ИЛ6, ФНО $\alpha$ , АЛТ, АСТ) показателями у пациентов с ПсА и Пс (табл. 2).

В группе пациентов с ПсА выявлено наличие статистически значимой положительной корреляции между аргиназой I и некоторыми интерлейкинами (ИЛ-6, ИЛ-1 $\beta$ ), показателями активности и степени поражения суставов (DAS, Ричи), функциональной недостаточностью суставов и индексом поражения кожного покрова (PASI). Между показателями активности суставного процесса (DAS и DAS28) возникло существенное различие. Мы полагаем, что это связано с существенно меньшим количеством суставов, которые используются для расчета индекса DAS28 по сравнению с DAS. Не выявлено статистически значимой корреляции для показателей качества жизни (рассчитывались по анкете SF-36), толщины КИМ артерий, рентгенологической стадии, возраста и длительности заболевания. Нельзя не отметить интересный момент – сывороточный уровень аргиназы I изменяется достаточно быстро, как и по-

Таблица 2

**Корреляции сывороточной концентрации аргиназы I с субъективными, объективными, инструментальными и лабораторными показателями у пациентов с псориатическим артритом и псориазом (Spearman Rank Order Correlations)**

	Псориатический артрит		Псориаз	
	Spearman	p-level	Spearman	p-level
Активность	0,0834	0,6338		
Стадия	0,1340	0,4429		
ФН	0,3472	0,0410		
Возраст	-0,1148	0,5113	0,3370	0,0445
Длительность	-0,0619	0,7239	0,1667	0,3313
PASI	0,3501	0,0392	0,3970	0,0165
DAS 28	0,1941	0,2638		
DAS	0,3585	0,0344		
Ричи	0,3656	0,0308		
ИЛ-6	0,3918	0,0392	-0,0430	0,8492
ФНО	0,0822	0,6438	0,2058	0,2841
ИЛ-1	0,4005	0,0472	0,1600	0,4769
Общая сонная	0,1377	0,4302	0,3832	0,0211
Внутренняя сонная	0,0917	0,6001	0,3141	0,0621
Наружная сонная	0,1228	0,4823	0,3141	0,0621
Бифуркация	0,0628	0,7201	0,3864	0,0199
Среднее по сонным	0,1162	0,5062	0,3536	0,0344
Аорта	0,1952	0,2611	0,3864	0,0199
Ветви аорты	0,1670	0,3377	0,3813	0,0218
Среднее по аорте	0,1906	0,2727	0,3813	0,0218
PF	-0,0972	0,5785	-0,2609	0,1244
RP	0,1229	0,4817	-0,0210	0,9031
BP	-0,0059	0,9730	-0,2295	0,1781
GH	-0,2275	0,1887	0,0630	0,7149
VT	-0,0279	0,8736	-0,0756	0,6613
SF	0,0600	0,7321	0,0329	0,8490
RE	0,0156	0,9291	-0,1604	0,3502
MH	-0,0602	0,7310	-0,1259	0,4645
PH	-0,0101	0,9542	-0,0003	0,9988
MH	0,0675	0,7000	-0,1233	0,4737
АЛТ	-0,1717	0,3824	0,0849	0,6675
АСТ	-0,2936	0,1294	0,0655	0,7407

казатели, с которыми она статистически значимо коррелирует. Тогда как и толщина КИМ артерий, и рентгенологическая стадия, и показатели качества жизни (согласно методике анкеты SF-36 проводится оценка

за последний месяц), и возраст, длительность заболевания – достаточно статичные показатели, которые изменяются медленно.

В группе пациентов с Пс без поражения суставов по сравнению с группой паци-

ентов с ПсА выявлена статистически значимая слабая положительная корреляция аргидазы I с индексом PASI (динамический, достаточно быстро изменяющийся показатель, отражающий степень поражения кожного покрова псориазическим процессом) и возрастом (что соответствует данным литературы). Также обнаружена статистически значимая корреляция аргидазы I с толщиной КИМ многих изученных артерий. Не выявлено статистически значимой корреляции с лабораторными показателями.

В случае пациентов с ПсА, в отличие от пациентов с Пс, мы имеем несколько различных динамических показателей, с которыми коррелирует аргидаза I (отражают поражение кожного покрова и поражение суставов). Причем между собой эти показатели не дают статистически значимой корреляции: PASI – DAS  $R=0,2865$   $p=0,0770$ ; PASI – Ричи  $R=0,2736$   $p=0,0919$ . Мы полагаем, что из-за этого значительно снижена достоверность и степень корреляции аргидазы I с медленно изменяющимися показателями. Таким образом, сывороточный уровень аргидазы I наиболее сильно и достоверно коррелирует с динамическими (быстро изменяющимися при изменении клинической ситуации) показателями, отражающими воспалительный процесс, сопровождающийся гибелью клеток, содержащих аргидазу I. При низкой активности воспалительного процесса и/или высокой корреляции динамических факторов между собой увеличивается достоверность и степень корреляции аргидазы I с медленно изменяющимися показателями.

Чтобы оценить влияние различных причин/источников аргидазы I на ее сывороточный уровень мы выбрали индекс PASI (степень поражения кожи воспалительным процессом), DAS (активность суставного процесса – отражает болезненность, отечность суставов, СОЭ и восприятие пациентом своего состояния), возраст (влияет на сывороточный уровень аргидазы согласно данным литературы [1, 2, 3, 15]), продолжительность болезни, среднее значение ТИМ в сонных и брюшных артериях (эти показатели отражают дисфункцию эндотелия в различных сосудистых регионах) и АСТ

(показал большую степень и достоверность корреляции, чем АЛТ; отражает гибель клеток печени, в которых в большом количестве экспрессирована аргидаза I [1, 2, 4, 5, 6, 7, 9, 10, 11]). Для пациентов с Пс уровень печеночных ферментов не рассматривался из-за крайне низкой степени и достоверности их корреляции с аргидазой I. То есть нами проведена оценка влияния на сывороточный уровень аргидазы I степени поражения кожи и суставов псориазическим процессом, уровня дисфункции эндотелия, степени поражения печени и возраста (табл. 3).

Для пациентов с ПсА модель значима ( $p<0,01904$ ). Мы выявили, что статистически значимое и наибольшее влияние на сывороточный уровень аргидазы I оказывает активность суставного синдрома ( $Beta=0,5906$ ;  $p=0,0034$ ) и степень поражения печени ( $Beta=-0,3523$ ;  $p=0,0497$ ). Далее в порядке уменьшения значимости расположились: толщина КИМ в сонных ( $Beta=0,6091$ ;  $p=0,2570$ ) и брюшных артериях ( $Beta=-0,4850$ ;  $p=0,3535$ ).

Для группы с Пс модель значима ( $p<0,02316$ ). Выявлено статистически значимое влияние на сывороточный уровень аргидазы I степени поражения кожного покрова псориазическим процессом ( $Beta=0,5674$ ;  $p=0,0040$ ). Далее в порядке уменьшения значимости расположились медленно изменяющиеся показатели – толщина КИМ в сонных артериях ( $Beta=-1,2613$ ;  $p=0,2528$ ) и брюшной аорте и ее ветвях ( $Beta=1,2086$ ;  $p=0,2601$ ).

Коэффициенты Beta для толщины КИМ различных артерий в обеих группах достаточно высоки по сравнению с другими предикторами. Так как при дисфункции эндотелия в артериях происходят сходные процессы, сопровождающиеся попаданием аргидазы I в кровь с небольшими вариациями в зависимости от конкретной артерии, то можно предположить, что именно процессы, происходящие в стенках артерий, обеспечивают базальный длительно стабильный уровень аргидазы I в сыворотке крови. Тогда как влияние воспалительного процесса в коже, суставах, печени, влияние возраста и длительности заболевания

Таблица 3

**Предикторы, влияющие на сывороточный уровень аргиназы I у пациентов с псориатическим артритом и псориазом**

	Псориатический артрит		Псориаз	
	Beta	p-level	Beta	p-level
Возраст	0,0939	0,6058	0,2118	0,2886
Длительность	0,0706	0,6783	-0,0567	0,7313
PASI	0,0973	0,5842	0,5674	0,0040
DAS	0,5906	0,0034		
Средне по сонным	0,6091	0,2570	-1,2613	0,2528
Среднее по аорте	-0,4850	0,3535	1,2086	0,2601
АСТ	-0,3523	0,0497		

повышает этот базальный сывороточный уровень аргиназы I.

В нашем исследовании основным фактором, обеспечивающим значительный подъем сывороточного уровня аргиназы I в группе пациентов с ПсА, является активность суставного синдрома, в группе пациентов с Пс – активность кожного псориатического процесса. Однако в группе с ПсА при уменьшении активности суставного процесса увеличивается влияние/вклад кожного псориатического процесса на сывороточный уровень аргиназы I. И у пациентов с массивным поражением кожи и незначительным поражением суставов именно поражение кожи будет иметь доминирующее влияние на сывороточный уровень аргиназы I. Таким образом, и кожный, и суставной процессы являются независимыми факторами, увеличивающими сывороточный уровень аргиназы I.

Для пациентов с Пс без поражения суставов основным фактором, определяющим значительный подъем уровня аргиназы I в сыворотке крови, является степень поражения кожного покрова псориатическим процессом. Однако при незначительном поражении кожного покрова существенное влияние на уровень аргиназы I начинают оказывать толщина КИМ различных артерий, возраст пациента.

### Заключение

1. Сывороточный уровень аргиназы I у пациентов с ПсА статистически значимо

ниже, чем у пациентов с Пс; у пациентов с ПсА и Пс сывороточный уровень аргиназы статистически значимо выше, чем в контрольной группе.

2. В группе пациентов с ПсА выявлено наличие статистически значимой положительной корреляции между аргиназой I и некоторыми интерлейкинами (ИЛ-6, ИЛ-1 $\beta$ ), показателями активности и степени поражения суставов (DAS, Ричи), функциональной недостаточностью суставов и индексом поражения кожного покрова (PASI). В группе пациентов с Пс без поражения суставов выявлена слабая положительная корреляция аргиназы I с индексом PASI и возрастом и толщиной КИМ различных артерий.

3. Сывороточный уровень аргиназы I наиболее сильно и статистически значимо коррелирует с быстро изменяющимися при изменении клинической ситуации показателями, отражающими воспалительный процесс, сопровождающийся гибелью клеток, содержащих аргиназу I.

4. Процессы, происходящие в стенках артерий при дисфункции эндотелия и атеросклерозе, обеспечивают длительно стабильный уровень аргиназы I в сыворотке крови.

5. Для пациентов с ПсА и кожный, и суставной процессы являются независимыми факторами, значительно увеличивающими сывороточный уровень аргиназы I.

6. Для пациентов с Пс без поражения суставов основным фактором, определяющим значительный подъем уровня арги-

назы I в сыворотке крови, является поражение кожного покрова псориазическим процессом.

### Литература

- Durante, W. Arginase: a critical regulator of nitric oxide synthesis and vascular function / W. Durante, F.K. Johnson, R.A. Johnson // Clin Exp Pharmacol Physiol. – 2007. – Vol 34 № 9. – P. 906–911.
- Sungwoo, Ryoo Endothelial arginase II and atherosclerosis / Sungwoo Ryoo, Dan E. Berkowitz, Hyun Kyo Lim // Korean J Anesthesiol. – 2011. – Vol. 61 № 1. – P. 3-11.
- Arginase and vascular aging / Lakshmi Santhanam [at al.] // J. Appl. Physiol. 2008. – Vol. 105, № 5. - P. 1632-1642.
- Oxidized low-density lipoprotein-dependent endothelial arginase II activation contributes to impaired nitric oxide signaling / Sungwoo Ryoo [at al.] // Circ. Res. – 2006. – Vol. 99. – P. 951-960.
- Lahiri, A. Exploitation of a multifunctional enzyme arginase by pathogens / A. Lahiri, P. Das, D. Chakravorty // Virulence - 2010. – Vol. 1 - P. 563-565.
- Modulating role of estradiol on арги́наза II expression in hyperlipidemic rabbits as an atheroprotective mechanism / T. Hayashi [at al.] // PNAS. – 2006. - Vol. 103 № 27. – P. 10485–10490.
- Vanhoutte, Paul M. Arginine and Arginase: Endothelial NO Synthase Double Crossed? / Paul M. Vanhoutte // Circ. Res. – 2008. – Vol. 102. – P. 866-868.
- Arginase activity mediates retinal inflammation in endotoxin-induced uveitis / W. Zhang [at al.] // The American Journal of Pathology. – 2009. - Vol. 175 № 2. – P. 891-902.
- Morris, M. Recent advances in arginine metabolism: roles and regulation of the arginases / M. Morris // British Journal of Pharmacology. – 2009. – Vol. 157. – P. 922–930.
- Masataka, M. Regulation of nitric oxide synthesis and apoptosis by arginase and arginine recycling / M. Masataka // The Journal of Nutrition. – 2007. – Vol. 137 № 6. – P. 1616S-1620S.
- Morris, M. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond / M. Morris // Biochem. J. – 1998. – Vol. 336. – P. 1-17.
- Arginase is overactive in psoriatic skin / S. Abeyakirithi [at al.] // British Journal of Dermatology. – 2010. - Vol. 163. – P. 193–196.
- Humoral Autoimmune Responses to the Squamous Cell Carcinoma Antigen Protein Family in Psoriasis / R.G. El-Rachkidy1 [at al.] // Journal of Investigative Dermatology. – 2008. - Vol. 128. – P. 2219-2224.
- Regulatory role of arginase I and II in nitric oxide, polyamine, and proline syntheses in endothelial cells / Hui Li [at al.] // Am J Physiol Endocrinol Metab. – 2001. – Vol. 280. – P. E75–E82.
- Endothelial arginase II: a novel target for the treatment of atherosclerosis / Sungwoo Ryoo [at al.] // Circ. Res. – 2008. – Vol. 102. – P. 923-932.
- Arginase inhibition mediates cardioprotection during ischaemia-reperfusion / C. Jung [at al.] // Cardiovascular Research. – 2010. – Vol. 85. – P. 147–154.
- Марков, Х.М. L-аргинин-оксид азота в терапии болезней сердца и сосудов / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. - № 6. - С. 87-95.
- Inhibition of L-arginine metabolizing enzymes by l-arginine-derived advanced glycation end products / Ying-Ling Lai [at al.] // J. Clin. Biochem. Nutr. – 2010. – Vol. 46. – P. 177-185.
- Arginase-1 overexpression induces cationic amino acid transporter-1 in psoriasis / O. Schnorr [at al.] // Free Radical Biology & Medicine. – 2005. - Vol. 38, №8. - P. 1073-1079.
- Arginase 1 overexpression in psoriasis: limitation of inducible nitric oxide synthase activity as a molecular mechanism for keratinocyte hyperproliferation / D. Bruch-Gerharz [at al.] // The American Journal Of Pathology. – 2003. - Vol. 162, № 1. - P. 203-211.
- Lauharanta, J.\ Arginase activity and polyamine biosynthesis in psoriasis / J. Lauharanta, K. Kápyaho // Acta Dermato-Venereologica. – 1983. - Vol. 63, № 4. - P. 277-282.
- Noninvasive assessment of subclinical atherosclerosis in children and adolescents: recommendations for standard assessment for clinical research: a scientific statement from the American heart association / Elaine M. Urbina [at al.] // Hypertension. – 2009. – Vol. 54. – P. 919-950.
- Assessment of patients with psoriatic arthritis: A review of currently available measures / Dafna D. Gladman1 [at al.] // Arthritis & Rheumatism. – 2004. - Volume 50, Issue 1. – P. 24–35.
- Насонов, Е.Л. Рекомендации по лечению псориазического артрита / Е.Л. Насонов, Т.В. Коротаева // <http://psoriasis.szgmu.ru/upload/files/%D0%9B%D0%B5%D1%87%D0%B5%D0%BD%D0%B8%D0%B5%20%D0%9F%D1%81%D0%90%2006%281%29%281%29.pdf>.

Поступила 20.08.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Сергиевич А.В. – аспирант кафедры госпитальной терапии УО «ВГМУ»;

Литвяков А.М. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии УО «ВГМУ».

© СЕРГИЕВИЧ А.В., ЛИТВЯКОВ А.М., 2013

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СЫВОРОТОЧНОГО УРОВНЯ ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 У ПАЦИЕНТОВ С ПСОРИАЗОМ И ПСОРИАТИЧЕСКИМ АРТРИТОМ

СЕРГИЕВИЧ А.В., ЛИТВЯКОВ А.М.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра госпитальной терапии

**Резюме.** У пациентов с псориазом увеличенная продукция и секреция цитокинов и факторов роста активированными Т-лимфоцитами вызывают основную пролиферацию кератиноцитов, патологическое предельное дифференцирование и устойчивость к апоптотическим сигналам. Обследованы пациенты с псориазом, псориатическим артритом и контрольная группа – здоровые люди. В обследуемых группах пациентов выявлена статистически значимая положительная корреляция ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 между собой. Сывороточные уровни ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в обследуемых группах выше, чем в контрольной группе, причем в группе с ПсА статистически значимо выше. При псориатической болезни как с поражением, так и без поражения суставов происходит пропорциональное существенное увеличение провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6). При наличии суставного синдрома повышение сывороточного уровня цитокинов более выраженное, чем только при поражении кожного покрова псориатическим процессом.

**Ключевые слова:** ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, псориаз, псориатический артрит.

**Abstract.** In patients with psoriasis the enlarged production and secretion of cytokines and growth factors activated by T-lymphocytes cause the basic proliferation of skin cells, pathological limiting differentiation and fastness to apoptotic signals. Patients with psoriasis, psoriatic arthritis and the control group - healthy people have been examined. Statistically significant positive correlation of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 between themselves has been revealed in the investigated groups of patients. The serumal levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 in the surveyed groups were higher, than in the control group, moreover, they were reliably higher in the group of patients with psoriatic arthritis. In psoriasis both with joints lesion, and without it the proportional essential augmentation of proinflammatory cytokines (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6) occurs. In the presence of an articular syndrome this rise in the serumal level of cytokines is more expressed, than in case when only the integument is damaged by psoriatic process.

**Key words:** TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, psoriasis, psoriatic arthritis.

**П**сориаз (Пс) - наследственно определенное, хроническое, иммуно-установленное, воспалительное кожное заболевание [1-8]. Распространенность псориаза составляет 0,5-4,6% общего населения [1, 2, 3, 4, 5, 7].

Болезнь обычно начинается в молодом [1], нередко в детском возрасте [4] и имеет хроническое рецидивирующее течение [1].

Пс характеризуется наличием эритематоза [4, 5], чешуйчатых бляшек [4, 5, 6] и характерными гистологическими изменениями - гиперпролиферацией кератиноцитов [4, 5, 6, 9], плотным воспалительным инфильтратом, состоящим из Т-лимфоцитов и нейтрофилов, и сосудистой дилатации и пролиферации [4, 5, 9]. Все клинические варианты псориаза, описанного у взрослых (бляшка, пятнистая, эритродермическая,

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра госпитальной терапии. Тел.моб.: +375 (029) 216-30-80, e-mail: sergievich-st@rambler.ru – Сергиевич Александр Владимирович.

и пустулезный) [4, 6, 7]. У воспаления, связанного с Пс, могут также быть системные последствия [1], осложненное течение [5] и снижение качества жизни [1, 5].

У 6-30% пациентов с псориазом диагностируется псориатический артрит [1, 2, 5, 6, 10], что составляет 1-3% населения в мире [10].

Псориатический артрит (ПсА) - постоянное синовиальное воспаление, заканчивающееся повреждением суставного хряща и остеолитизмом [7]. ПсА относится к группе спондилоартропатий [10].

Известно, что ПсА связан с более высоким риском развития сердечно-сосудистых болезней [1, 11]. Хроническая воспалительная реакция, типичная для аутоиммунных болезней, вероятно, ускоряет атерогенный процесс, который у данных пациентов также увеличен более высокой нормой метаболического синдрома [11].

У псориатической болезни есть многофакторная этиология, включающая генетический фон [2, 3, 4, 5, 7, 8], экологические факторы [2, 3, 4, 5, 8], эндотелиальное и сосудистое воспаление [3, 10] и нарушения иммунной системы [3, 7, 9].

Первичный дефект у пациентов с Пс – патологическая пролиферация эпидермальных клеток. Таким образом, системные эффекты циркулирующих цитокинов могут играть важную роль в индукции эпидермальной пролиферации клетки. Было предложено, чтобы в нормальной коже могло быть взаимодействие между эпидермисом и циркулирующими Т-лимфоцитами [9]. Активация Т-лимфоцитов [2, 4, 6], взаимодействие между Т лимфоцитами и кератиноцитами через цитокины, вероятно, играет центральную роль в патогенезе псориаза [9].

Под влиянием кератиноцитов CD8+ Т лимфоциты, инициированные CD4+ Т лимфоцитами [2, 6, 7, 12], нейтрофилы и натуральные киллеры/натуральные киллеры - Т клетки (NK/NKT), макрофаги мигрируют через эндотелий к зонам воспаления [2, 7, 12]. Очень раннее поражение при Пс характеризуется воспалительным инфильтратом мононуклеарных клеток в

верхней дерме с только минимальными изменениями в эпидермисе [9].

CD8+ и CD4+ Т-лимфоциты производят ИЛ-12, IFN- $\gamma$  и ФНО- $\alpha$ , которые побуждают кератиноциты производить самоподдерживающийся каскад интерлейкинов и других факторов [3] - триптаза (митоген для фибробластов, стимулирует эпидермальную гиперплазию псориаза через продукцию инсулиноподобного фактора роста-I (IGF-I)) [13], NGF [14].

Выявляется системная, в поврежденной псориатическим процессом коже, в синовиальной жидкости и синовиальной оболочке у пациентов с псориатическим артритом высокая экспрессия цитокинов – ИЛ-17, ИЛ-22, ИЛ-23 и CCL20 [12], ИЛ-6 [13, 15], IFN- $\gamma$  [2, 3, 4, 7], интерлейкин-2 [3, 4, 7] и ФНО- $\alpha$  [2, 3, 4, 7, 10, 13], которые вызывают пролиферацию и уменьшенное созревание кератиноцитов вместе с сосудистыми изменениями [3, 4, 7]. Другие цитокины, такие как ИЛ-8 [2, 3, 7, 15], ИЛ-12, также вовлечены [2, 3, 7]. С другой стороны, относительно некоторых цитокинов существуют противоречивые данные. Согласно одним источникам существует относительно низкая экспрессия противовоспалительных цитокинов ИЛ-1, ИЛ-4 и ИЛ-10, что предполагает недостаточную противорегулирующую способность иммунологической системы при псориазе [3]. Согласно другим авторам, у пациентов с псориазом в периферической крови значительно более высокие, чем в контрольных группах, уровни ИЛ-1 $\beta$  [2, 13, 15], ИЛ 10 [2].

Увеличенная продукция и секреция цитокинов и факторов роста активированными Т-лимфоцитами вызывают основную пролиферацию кератиноцитов [5, 9], патологическое предельное дифференцирование и устойчивость к апоптотическим сигналам (например, IFN- $\gamma$ , в комбинации с молекулами, такими как TGF- $\beta$ , ИЛ-15 и ИЛ-20, увеличивают пролиферацию кератиноцитов и ингибируют их апоптоз [3]). Эти воспалительные медиаторы также поддерживают сосудистые изменения и вызывают ангиогенез,



который является видимым и ранним проявлением в псориазе [5].

ФНО- $\alpha$ , как полагают, является ключевым провоспалительным цитокином в псориазе и псориатическом артрите [2, 5, 6, 9, 10] и ФНО- $\alpha$ -238А, и ФНО- $\alpha$ -308А аллели были связаны с возрастом в начале псориатического процесса [2]. ФНО- $\alpha$  синтезируется Т-лимфоцитами, В-лимфоцитами, синовиоцитами, фибробластами и макрофагами первоначально как 26kD белок, который позже расщеплен преобразовывающим фактор некроза опухоли ферментом (сывороточная металлопротеиназа семейства ADAMS) в мономерную 17-kD молекулу. Три молекулы, при физиологических состояниях, связаны в конусообразный гомотример с помощью нековалентных поперечных мембраносвязанных рецепторов, которые существуют в 2 изоформах: рецептор ФНО I (TNFR1, p55) и рецептор ФНО II (TNFR2, p75) [16]. ФНО- $\alpha$  играет центральную роль во врожденном иммунном ответе, который заслуживает специального внимания в псориазе [4, 16]. ФНО- $\alpha$  вызывает синтез других воспалительных медиаторов, таких как простагландины, лейкотриены, тромбоцитарноактивирующий фактор, оксид азота, и реактивные кислородные разновидности. Это активизирует сосудистый эндотелий локально, вызывая сосудорасширение и увеличенную проницаемость [16]. Сосудистые молекулы адгезии эндотелия (ICAM-1, VCAM-1, E-селектин) [4, 8, 10, 16], молекулы адгезии на кератиноцитах [8] и МНС II регулируются положительно и происходит взаимодействие провоспалительных клеток и иммуноглобулинов. ФНО- $\alpha$  обладает мощной паракринной функцией, вызывая (через NF- $\kappa$ B-опосредованный механизм) секрецию провоспалительных цитокинов, таких как ИЛ-1 [16], ИЛ-6 [9, 16] и GM-CSF. ФНО- $\alpha$  также стимулирует продукцию различных хемокинов, включая RANTES [16], ИЛ-8 [4, 7, 16], ИЛ-12, и ИЛ-18 [9], MCP 1, и MIP-1 $\alpha$  [16]. ФНО- $\alpha$  обычно ингибирует созревание плазматических дендритных клеток (PDCs) и

секрецию ими ФНО- $\alpha$  [6, 17]. Наконец, ФНО- $\alpha$  играет роль в ангиогенезе [10, 16].

Генное семейство ИЛ-1 включает ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и антагонист рецептора ИЛ-1 (ИЛ-1-ар). ИЛ-1 $\alpha$  и ИЛ-1 $\beta$  являются агонистами, секретированными главным образом активизированными моноцитами и макрофагами и связывают два отдельных рецептора: тип I (сигнальный рецептор) и тип II ("приманка" или "нейтрализующий" рецептор). Только то, когда ИЛ-1 связывается с рецептором типа I, является внутриклеточным переданным сигналом, который в конечном счете заканчивается выпуском металлопротеиназы, активацией остеокластов и резорбцией кости. Третий член семейства, ИЛ-1-ар, является естественно встречающимся антагонистом, также произведенным макрофагами, который связывается с высокой афинностью с рецептором типа I без триггерного спуска сигнальный механизм, этим блокируя присоединение ИЛ-1 к рецептору типа I (ИЛ-1R1) [16]. Известно, что ФНО- $\alpha$  имеет незначительный эффект на эндотелиальный ИЛ-1 $\beta$ , даже при том, что ФНО- $\alpha$  вызывает накопление мРНК ИЛ-1 $\beta$ . Поэтому было предложено, что эндотелиальные клетки могут потребовать одновременной активации несколькими стимулами для синтеза ИЛ-1 $\beta$  [13].

ИЛ-6 - многофункциональный цитокин, который играет важную роль в защите организма [3], развитии острофазных реакций [3, 9], иммунном ответе и гематопоезе. Ген человека ИЛ-6 расположен на короткой руке седьмой хромосомы. Есть 4 полиморфизма в промоторной области ИЛ-6, в положениях -597 (G/A), -572 (G/C), -373 (A/G) и -174 (G/C) [3]. ИЛ-6 синтезируется под влиянием ФНО- $\alpha$  [10] множеством типов клетки, включая моноциты, макрофаги, фибробласты, Т-хелперы 2 и сосудистые эндотелиальные клетки. Чрезмерная экспрессия ИЛ-6 была вовлечена в патологию многочисленных аутоиммунных и хронических воспалительных болезней, включая псориаз [3]. У ИЛ-6 есть способность вызвать острую воспалительную реакцию и, в хронической фазе, поддерживать

активацию Т-лимфоцитов и относящихся к спинному мозгу клеток (в том числе кератиноцитов в эпидермисе) [3, 9], которые могут увеличить серологический уровень ИЛ-6, приводя к увеличению воспаления [3], также ИЛ-6 может стимулировать пролиферацию кератиноцитов [9].

Патологическая продукция цитокинов изучается недавно как возможный механизм в патогенезе псориаза [9]. ИЛ-6 в комбинации с ФНО- $\alpha$  и другими цитокинами могут быть маркерами активности болезни [10]. Таким образом, измерение уровней цитокинов в сыворотке крови может позволить лучше контролировать и прогнозировать тяжесть болезни [9]. Нами не было обнаружено исследований, которые бы проводили сравнительное изучение серологических уровней цитокинов у пациентов с Пс без поражения суставов и ПсА.

Целью работы является изучение цитокинового профиля (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6) при неосложненном и осложненном артритом клиническом течении псориаза, определение возможной ассоциации между этими показателями.

## Методы

В исследование включены 58 пациентов с ПсА (средний возраст  $42,7 \pm 9,8$  лет): мужчин 31 (средний возраст  $44,2 \pm 8,2$  лет), женщин 27 (средний возраст  $41,0 \pm 11,3$  лет); 56 пациентов с Пс без поражения суставов (средний возраст  $38,1 \pm 13,3$  лет): мужчин 37 (средний возраст  $39,6 \pm 13,6$  лет), женщин 19 (средний возраст  $35,1 \pm 12,4$  лет) (табл. 1). Контрольную группу составили 22 здоровых человека (средний возраст  $41 \pm 11$  лет).

У всех пациентов определена в сыворотке крови концентрация ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6. Метод определения основан на твердофазном «сэндвич» - варианте иммуноферментного анализа. Специфическими реагентами набора являются моноклональные антитела к ФНО- $\alpha$  (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6), сорбированные на поверхности лунок разборного полистерольного планшета, конъюгат поликлональных антител к ФНО- $\alpha$  (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6) с биотином и колибровочные образцы, содержащие ФНО- $\alpha$  (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6). На первой стадии анализа исследуемые и контрольные об-

Таблица 1

### Концентрация ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 в сыворотке крови пациентов с псориатическим артритом, псориазом и в контрольной группе

	Mean	Median	Minimum	Maximum	Percentile 25%	Percentile 75%	Std.Dev.
Псориатический артрит							
ИЛ-6	28,0414	15,3256	0,0000	224,6279	4,8605	24,3953	44,6031
ФНО- $\alpha$	8,1181	5,5156	0,0000	44,4219	2,7031	7,8594	9,7758
ИЛ-1 $\beta$	4,1768	2,7083	0,0000	18,9583	0,0000	7,2917	4,6095
Псориаз							
ИЛ-6	4,7436	3,4651	0,0000	27,1860	0,0000	7,6512	6,0520
ФНО- $\alpha$	6,8213	6,4531	0,0000	23,3281	1,2969	11,1406	6,1049
ИЛ-1 $\beta$	5,4380	2,2917	0,0000	33,9583	0,0000	8,1250	7,4508
Контрольная группа							
ИЛ-6	1,8154	1,3721	0,0000	6,2558	0,0000	2,7674	1,8968
ФНО- $\alpha$	3,4424	3,4063	0,0000	8,3281	1,0625	4,8125	2,6196
ИЛ-1 $\beta$	1,2109	0,6250	0,0000	4,3750	0,0000	2,0833	1,4578

разцы инкубируют в лунках с иммобилизованными антителами. Имеющийся в образцах ФНО- $\alpha$  (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6) связывается с иммобилизованными антителами. Несвязавшийся материал удаляется отмывкой. Связавшийся ФНО- $\alpha$  (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6) взаимодействует при инкубации с конъюгатом №1 (антитела к ФНО- $\alpha$  (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6) с биотином). Несвязавшийся конъюгат №1 удаляется отмывкой. На третьей стадии связавшийся конъюгат №1 взаимодействует при инкубации с конъюгатом №2 (стрептавидин с пероксидазой хрена). После третьей отмывки количество связавшегося конъюгата №2 определяется цветной реакцией с использованием субстрата пероксидазы хрена – перикиси водорода и хромогена – тетраметилбензидина. Реакцию останавливают добавлением стоп-реагента и измеряют оптическую плотность растворов в лунках при длине волны 450 нм. Интенсивность желтого окрашивания пропорциональна количеству содержащегося в образце ФНО- $\alpha$  (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6).

Исследование проведено на базе ревматологического отделения УЗ «Витебская областная клиническая больница», кожного отделения УЗ «Витебский областной клинический кожно-венероло-

гический диспансер», отделения функциональной диагностики УЗ «Клиника Витебского государственного медицинского университета».

Статистическая обработка полученных результатов проводилась программами из пакета STATISTICA 6.0 (Mann-Whitney U Test, Descriptive Statistics, Spearman Rank Order Correlations).

### Результаты и обсуждение

Полученные результаты по содержанию ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 в сыворотке крови пациентов с Пс и ПсА представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

У пациентов с ПсА в сыворотке крови преобладает ИЛ-6 – 15,33 (4,86; 24,40) пг/мл, далее следует ФНО- $\alpha$  – 5,52 (2,70; 9,78) пг/мл и замыкает список концентраций изученных цитокинов ИЛ-1 $\beta$  – 2,71 (0,00; 7,29) пг/мл. Полученные нами концентрации приблизительно соответствуют данным мировой литературы для пациентов с ПсА, например Mastroianni [10], как и мы, описывает преобладание сывороточной концентрации ИЛ-6 над ФНО- $\alpha$ .

В свою очередь у пациентов с Пс сывороточные концентрации изученных цитокинов в порядке уменьшения расположи-

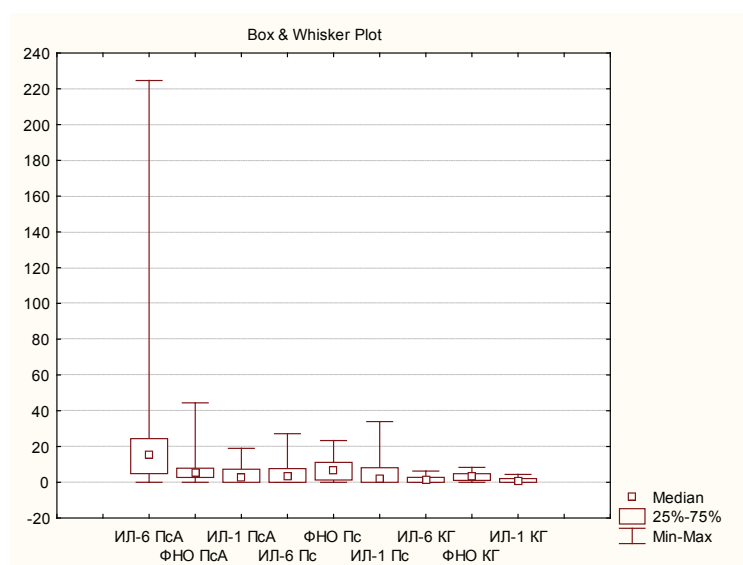


Рис. 1. Сывороточная концентрация ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 у пациентов с псориатическим артритом, псoriasisом и в контрольной группе.

лись следующим образом: ФНО- $\alpha$  – 6,45 (1,30; 11,147) пг/мл, ИЛ-6 – 3,47 (0,00; 7,65) пг/мл, ИЛ-1 $\beta$  – 2,29 (0,00; 8,13) пг/мл. Подобное преобладание сывороточной концентрации ФНО- $\alpha$  над ИЛ-6 описывает Arican [9]. Полученные нами сывороточные концентрации цитокинов приблизительно соответствуют данным, описанным в мировой литературе для пациентов с Пс, например [4, 9].

При сравнении концентраций изученных цитокинов можно отметить, что у пациентов с ПсА преобладает над пациентами с Пс концентрация ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, причем концентрация ИЛ-6 преобладает значительно. Тогда как у пациентов с Пс сывороточная концентрация ФНО- $\alpha$  выше, чем у пациентов с ПсА. В группах с ПсА и Пс сывороточные концентрации изученных цитокинов выше, чем в контрольной группе.

Проведена оценка достоверности различий сывороточных концентраций изученных цитокинов у пациентов с ПсА, Пс и в контрольной группе (табл. 2).

При сравнении пациентов с ПсА и Пс выявлены статистически значимые различия с высокой достоверностью только по уровню ИЛ-6 (Mann-Whitney U Test показал  $Z=4,0812$ ,  $p=0,0000$ ). Однако у пациентов с ПсА по сравнению с контрольной группой выявлены статистически значимые различия по всем изученным цитокином. В свою очередь между пациентами с Пс и людьми из КГ по изученным цитокинам не выявлено статистически значимых различий. Таким образом, касательно противоречивых данных об уровне ИЛ-1 $\beta$ , полученные нами данные поддерживают мнение, высказанное в работах [2, 13, 15], согласно которому у пациентов с псориатической болезнью уровень ИЛ-1 $\beta$  в сыворотке крови увеличивается. Также наши данные согласуются с данными литературы об увеличении сывороточного уровня ФНО- $\alpha$  [2, 3, 4, 7, 10, 13] и ИЛ-6 [13, 15] у пациентов с псориатической болезнью.

Мы изучили взаимную корреляцию сывороточных концентрация ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 у пациентов с ПсА и Пс (табл. 3).

Таблица 2

**Оценка достоверности различий ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 в сыворотке крови пациентов с псориатическим артритом, псориазом и в контрольной группе (Mann-Whitney U Test)**

	Псориатический артрит и псориаз		Псориатический артрит и контрольная группа		Псориаз и контрольная группа	
	Z	p-level	Z	p-level	Z	p-level
ИЛ-6	4,0812	0,0000	3,7206	0,0002	1,2045	0,2284
ФНО- $\alpha$	-0,0481	0,9616	1,9890	0,0467	1,5474	0,1218
ИЛ-1 $\beta$	0,0914	0,9271	1,9802	0,0477	1,3991	0,1618

Таблица 3

**Корреляция сывороточных концентраций ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6 в группах пациентов с псориатическим артритом и псориазом (Spearman Rank Order Correlations)**

	Псориатический артрит		Псориаз	
	Spearman	p-level	Spearman	p-level
ФНО- $\alpha$ и ИЛ-1 $\beta$	0,3543	0,0231	0,4319	0,0060
ФНО- $\alpha$ и ИЛ-6	0,3350	0,0323	0,3537	0,0272
ИЛ-1 $\beta$ и ИЛ-6	0,3192	0,0419	0,5549	0,0002

В группе пациентов с ПсА выявлена положительная слабая статистически значимая корреляция ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 между собой. В свою очередь в группе пациентов с Пс ИЛ-1 $\beta$  статистически значимо коррелирует со средней силой и с ФНО- $\alpha$ , и с ИЛ-6, тогда как ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 показали слабую статистически значимую корреляцию между собой. Так как изученные нами сывороточные концентрации интерлейкинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6) статистически значимо коррелируют между собой и в группе пациентов с ПсА, и в группе пациентов с Пс и выше, чем у людей из КГ (для пациентов с ПсА статистически значимо различие), следовательно при псориатической болезни как с поражением, так и без поражения суставов происходит пропорциональное существенное увеличение изученных нами провоспалительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6). Причем, при наличии у пациента и поражения кожного покрова псориатическим процессом, и суставного синдрома сывороточные уровни провоспалительных цитокинов возрастают сильнее, чем при наличии только поражения кожного покрова.

### Заключение

Сывороточные уровни ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 в группе пациентов с ПсА статистически значимо выше, чем в контрольной группе.

Сывороточный уровень ИЛ-6 в группе пациентов с ПсА статистически значимо выше, чем в группе пациентов с Пс.

В группе пациентов с ПсА выявлена статистически значимая положительная слабая корреляция ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6 между собой.

В группе пациентов с Пс выявлена статистически значимая положительная корреляция средней силы ИЛ-1 $\beta$  с ФНО- $\alpha$  и ИЛ-6 и слабая корреляция ФНО- $\alpha$  с ИЛ-6.

При псориатической болезни как с поражением, так и без поражения суставов происходит пропорциональное существенное увеличение изученных нами провос-

палительных цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6). Причем, при наличии суставного синдрома повышение цитокинов более выражено, чем только при поражении кожного покрова псориатическим процессом.

### Литература

1. Cost-effectiveness analysis of TNF-a blockers for the treatment of chronic plaque psoriasis in the perspective of the Italian health-care system / S. de Portu [at al.] // *Dermatologic Therapy*. – 2010. – Vol. 23. – S7-S13.
2. Cytokine gene polymorphisms in Chinese patients with psoriasis / Y.T. Chang [at al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2007. – Vol. 156. – P. 899–905.
3. IL-6 and IL-10 promoter gene polymorphisms in psoriasis vulgaris / W. Baran [at al.] // *Acta Derm Venereol*. – 2008. – Vol. 88. – P. 113-116.
4. Immunologic changes in TNF-alpha, sE-selectin, sP-selectin, sICAM-1, and IL-8 in pediatric patients treated for psoriasis with the goeckerman regimen / L. Borska [at al.] // *Pediatric Dermatology*. – 2007. – Vol. 24, № 6. – P. 607-612.
5. Increased expression of the orphan nuclear receptor NURR1 in psoriasis and modulation following TNF-a inhibition / M. O'Kane [at al.] // *Journal of Investigative Dermatology*. – 2008. – Vol. 128. – P. 300-310.
6. Review article: anti TNF-a induced psoriasis in patients with inflammatory bowel disease / G. Fiorino [at al.] // *Aliment Pharmacol Ther*. – 2009. – Vol. 29. – P. 921-927.
7. Tobin, A.-M. TNFa inhibitors in the treatment of psoriasis and psoriatic arthritis / A.-M. Tobin, B. Kirby // *Biodrugs*. – 2005. – Vol. 19, № 1. – P. 47-57.
8. Tumour necrosis factor alpha (TNF-a) converting enzyme and soluble TNF-a receptor type 1 in psoriasis patients in relation to the chronic alcohol consumption / A.B. Serwin [at al.] // *Journal European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2008. – Vol. 22. – P. 712-717.
9. Serum levels of TNF-a, IFN- $\gamma$ , IL-6, IL-8, IL-12, IL-17, and IL-18 in patients with active psoriasis and correlation with disease severity / O. Arican [at al.] // *Mediators of Inflammation*. – 2005. – Vol. 5. – P. 273-279.
10. Cytokine profiles during infliximab monotherapy in psoriatic arthritis / A. Mastroianni [at al.] // *British Journal of Dermatology*. – 2005. – Vol. 153. – P. 531–536.
11. An Italian shared dermatological and rheumatological proposal for the use of biological agents in psoriatic disease / A. Marchesoni [at al.] // *Journal European Academy of Dermatology and Venereology*. – 2010. – Vol. 24. – P. 578-586.

12. Expression of interleukin IL-1 family members upon stimulation with IL-17 differs in keratinocytes derived from patients with psoriasis and healthy donors / P. Muhr [at al.] // British Association of Dermatologists. – 2011. – Vol. 165. P. 189–193.
13. Namazi, M.R. Possible molecular mechanisms to account for the involvement of tryptase in the pathogenesis of psoriasis/ M.R. Namazi // Autoimmunity. – 2005. Vol. 38, №6. – P. 449-452.
14. Raychaudhuri, S.P. The regulatory role of nerve growth factor and its receptor system in fibroblast-like synovial cells / S.P. Raychaudhuri, S.K. Raychaudhuri // Scand J Rheumatol. – 2009. – Vol. 38. – P. 207-215.
15. Uber, P. Successful treatment of generalized pustular psoriasis with the interleukin-1-receptor antagonist anakinra: lack of correlation with IL-1RN mutations / P. Uber, K. Summers, M.R. Mehra // Ann Intern Med. – 2010. – Vol. 153. – P. 66-67.
16. Efthimiou, P. Role of biological agents in immune-mediated inflammatory diseases / P. Efthimiou, J.A. Markenson // Southern Medical Journal. – 2005. – Vol. 98, № 2. – P. 192-204.
17. Onset of palmoplantar pustular psoriasis while on adalimumab for psoriatic arthritis: A 'class effect' of TNF-a antagonists or simply an anti-psoriatic treatment adverse reaction? / E. Rallis [at al.] // Journal of Dermatological Treatment. – 2010. – Vol. 21. – P. 3-5.

*Поступила 20.08.2013 г.  
Принята в печать 05.09.2013 г.*

**Сведения об авторах:**

Сергиевич А.В. – аспирант кафедры госпитальной терапии УО «ВГМУ»;  
Литвяков А.М. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой госпитальной терапии УО «ВГМУ».

---

---

© ОГРИЗКО И.Н., СЕМЕНОВ Д.М., 2013

## РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ И КЛИНИЧЕСКИЕ ФОРМЫ ЭКТОПИИ ШЕЙКИ МАТКИ СРЕДИ ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА

ОГРИЗКО И.Н., СЕМЕНОВ Д.М.

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

**Резюме.** В статье приведено ретроспективное исследование распространенности эктопии шейки матки у женщин репродуктивного возраста по данным обследования и диспансерного наблюдения 4800 женщин г. Витебска. Проведен анализ факторов риска развития эктопии шейки матки у женщин репродуктивного возраста и их связь с клинической формой течения эктопии шейки матки. Намечены пути оптимизации диагностики и лечения.

**Ключевые слова:** эктопия, шейка матки, распространенность эктопий, клиническая форма эктопии шейки матки, факторы риска эктопии шейки матки.

**Abstract.** The article presents the retrospective study of the prevalence of uterine cervical ectopy in women of reproductive age, which was conducted on the basis of the results of the examination and dispensary observation of 4800 women in Vitebsk. The analysis of risk factors of uterine cervical ectopy development in women of reproductive age and their relationship with the clinical form of uterine cervical ectopy course was made. The ways to optimize the condition diagnosis and treatment were outlined.

**Key words:** ectopy, cervix uteri, prevalence of ectopies, clinical form of uterine cervical ectopy, risk factors of uterine cervical ectopy.

В настоящее время в отечественной и зарубежной литературе отмечается повышение внимания практикующих врачей и исследователей к вопросам патологии шейки матки в связи с высокой актуальностью и социальной значимостью данной проблемы. В структуре амбулаторной гинекологической заболеваемости первое место прочно занимают доброкачественные патологические процессы шейки матки [1]. Будучи гормонально и инфекционно детерминированы, они не имеют тенденции к снижению, несмотря на достигнутые успехи в их диагностике и лечении. Так как слизистая оболочка

шейки матки является физиологическим барьером, она постоянно подвергается воздействию повреждающих факторов, среди которых наиболее агрессивное влияние оказывают инфекции, передаваемые половым путем [2]. В Республике Беларусь за последние 10 лет снижение заболеваемости сифилисом и гонококковой инфекцией приобрело достаточно устойчивый характер. Тем не менее, вопросы изучения динамики заболеваемости, медико-социальных особенностей и совершенствования мер профилактики инфекций, передаваемых половым путем (ИППП), являются весьма актуальными. Это обусловлено по-прежнему высоким общим уровнем заболеваемости ИППП, негативным влиянием на фертильность и преобладанием среди заболевших ИППП

**Адрес для корреспонденции:** 210032, г. Витебск, ул. Чкалов, д.30, кв. 80. Тел.моб.: +375 (33) 3244247, e-mail: ira\_13ru@mail.ru – Огризко Ирина Николаевна.

молодежи, вступившей в наиболее активную фазу детородного возраста [3]. Это во многом связано с изменением образа жизни людей и, как следствие того, изменением особенностей сексуального поведения, ранним началом половой жизни, частой сменой половых партнеров.

В последние несколько лет в Республике Беларусь отмечены новые характерные тенденции и черты заболеваемости ИППП. На фоне ежегодного снижения заболеваемости бактериальными ИППП налицо рост вирусных инфекций [4].

Согласно данным литературы, эктопия шейки матки встречается у 38,8% женского населения [1]. Современные классификации патологических изменений шейки матки основаны на данных кольпоскопического, гистологического и цитологического исследований. Для их отражения клиницисты и морфологи используют различные директивные документы: Международную номенклатуру болезней (1992), Международную классификацию болезней X пересмотра (1995), гистологическую классификацию опухолей (ГКО) (1994), кольпоскопическую классификацию Международной федерации кольпоскопии и патологии шейки матки (IFCPC), Барселона (2002, 2003), цитологическую классификацию Бетесда (The Bethesda system) (1988-2001).

В классификации Международной федерации кольпоскопии и патологии шейки матки (IFCPC) (Барселона, 2003) выделяют 5 классов кольпоскопических данных. Цервикальную эктопию (покрытие эктоцервикса цилиндрическим эпителием), наряду с оригинальным сквамозным эпителием и доброкачественной зоной трансформации, относят к первому классу кольпоскопических данных (правильные, или нормальные кольпоскопические картины) [5].

В клинической практике наиболее приемлема классификация Е.Б. Рудаковой (1996), выделяющая следующие виды эктопий: врожденную, приобретенную и рецидивирующую, а также неосложненную и осложненную клинические формы [1].

В ряде клинико-кольпоскопических и морфологических случаев цервикальная эктопия имеет физиологический характер и не требует лечения [6, 7]. Вместе с тем, эктопический процесс в шейке матки протекает длительно, подвергается плоскоклеточной метаплазии и в большинстве случаев приобретает осложненный характер. Выступая при этом уже в роли отдельного доброкачественного заболевания шейки матки, эктопия и осложненная плоскоклеточная метаплазия (зона трансформации) всегда требуют проведения своевременного лечения [8]. Нередко рецидивируя, данное заболевание шейки матки при ряде неблагоприятных условий нарушает репродуктивную (шеечный фактор бесплодия) и менструальную функцию у женщин, а в 3,6 - 9,0% случаев способствует возникновению рака в органе [9].

В клинической практике проблема диагностики и лечения доброкачественных заболеваний шейки матки ввиду отсутствия единого подхода к их классификации и клинической оценки, следовательно, и тактике ведения, порождает целый ряд трудностей и разночтений у практических врачей, побуждая их к неоправданному радикализму или длительному консервативному ведению больных.

Несмотря на то, что все исследователи безоговорочно признают необходимость изучения патогенетических факторов, определяющих возникновение и клиническое течение эктопии шейки матки, до сих пор нет четких рекомендаций о диагностической ценности тех или иных анализируемых показателей. В связи с этим представляется целесообразным изучение и анализ механизмов осложненного течения эктопии шейки матки. Это позволит не только усовершенствовать диагностический алгоритм для больных с эктопией шейки матки, но и индивидуализировать схемы комплексного лечения таких больных с использованием наиболее рациональных дифференцированных и патогенетически обоснованных алгоритмов.

Целью данной работы явилось изучение распространенности эктопии шейки



матки у женщин репродуктивного возраста, анализ факторов риска развития эктопии шейки и их связь с клинической формой течения эктопии шейки матки.

### Методы

Проведенное нами клиническое исследование имеет «срезовой» (cross-sectional) дизайн, основывается на пассивном наблюдении за динамикой развития заболевания и оценкой клинической формы течения эктопии шейки матки. Наше исследование основано на данных обследования 4800 женщин репродуктивного возраста (18 – 40 лет), наблюдавшихся в женской консультации роддома №2 г. Витебска и обратившихся для прохождения профилактического осмотра в 2012 году.

Для определения иницирующих факторов проводилось изучение анамнеза заболевания, особенностей менструальной и репродуктивной функции. Обследование пациенток включало в себя сбор жалоб, анамнеза, общий и гинекологический осмотр, выполнялось кольпоскопическое, цитологическое, бактериоскопическое обследование.

Диагноз эктопии шейки матки устанавливался на основании общепринятых клиничко-визуальных, кольпоскопических, морфологических и гистологических методов диагностики.

При обследовании группы женщин с эктопией шейки матки кольпоскопическая картина характеризовалась повышенным количеством секрета, гиперемией наружного покрова шейки матки и области входа в цервикальный канал, отеком слизистой оболочки с неравномерным ее окрашиванием при пробе Шиллера, с характерной крапчатостью за счет чередования мелкоочечных йоднегативных и йод-позитивных участков.

Данные об инфекционных и неинфекционных поражениях урогенитального тракта (гинекологические заболевания воспалительного и невоспалительного генеза, экстрагенитальная патология) взяты из ме-

дицинской документации ретроспективно, были предварительно проанализированы на соответствие принятым в литературе современным критериям их диагностики [10,11], с обязательным их лабораторным подтверждением.

### Результаты и обсуждение

При обследовании 4800 женщин репродуктивного возраста установлена высокая частота различных гинекологических заболеваний, которые были выявлены у 3648 женщин ( $76\pm 0,62\%$ ).

Среди обследованных женщин эктопия шейки матки выявлена у 1805 ( $37,6\pm 0,7\%$ ), что может свидетельствовать об отсутствии тенденции к снижению частоты эктопии шейки матки, недостаточной эффективности применяемой терапии и необходимости единого научно обоснованного подхода к ведению пациенток с эктопией шейки матки, а также разработке новых и безопасных методов лечения. Оценивая распространенность эктопии шейки матки среди женщин репродуктивного возраста, следует отметить, что она сопоставима с данными других исследователей и не имеет существенных географических различий.

С целью проведения анализа факторов риска все пациентки были разделены на две группы. Группа наблюдения: 1805 женщин с эктопией шейки матки и группа контроля: 2995 пациенток без патологии шейки матки (табл. 1).

При изучении менструальной функции у женщин с эктопией шейки матки было установлено, что у большинства пациенток ( $94\pm 0,56\%$ ) менархе наступило своевременно в возрасте от 11 до 15 лет. Позднее становление менструальной функции отмечалось у 108 ( $5,9\pm 0,56\%$ ) пациенток.

Нарушения менструальной функции у пациенток с эктопией шейки матки встречалось статистически значимо чаще ( $p<0,01$ ) по сравнению с группой контроля и было диагностировано у 149 пациенток  $8,2\pm 0,65\%$ , что может свидетельствовать о

Таблица 1

## Перенесенные гинекологические заболевания у обследованных женщин

Перенесенные гинекологические заболевания	Основная группа (n=1805)		Контрольная группа (n=2995)		Общее количество обследованных	
	n	%±m	n	%±m	n	%±m
Кольпит	894	49,5±1,18*	539	18±0,7	1433	29,8±0,66
Цервицит	910	50,4±1,18*	719	24±0,78	1629	33,9±0,68
Нарушения менструальной функции	149	8,2±0,65**	180	6±0,43	329	6,8±0,36
Доброкачественные опухоли придатков	110	6,1±0,56**	120	4±0,36	230	4,8±0,31
Фибромиома матки	31	1,7±0,31	360	12±0,59	391	8,1±0,39
Диффузная мастопатия	220	12,2±0,77	419	13,9±0,63	639	13,3±0,49
Хронический сальпингоофорит	144	7,9±0,64	240	8±0,50	384	8±0,39
Бесплодие	31	1,7±0,31	54	1,8±0,24	85	1,8±0,19
Всего	2489		2631		5120	

Примечания: \* - статистически значимо по отношению к группе контроля  $p < 0,01$ , \*\* - статистически значимо по отношению к группе контроля  $p < 0,001$ .

значимости гормонального статуса в формировании эктопии шейки матки.

В группе наблюдения статистически значимо чаще ( $p < 0,01$ ) диагностировались доброкачественные опухоли придатков у 110 пациенток (6,1±0,56%), чем в группе контроля у 120 пациенток (4±0,36%), что в определенной степени можно рассматривать как реализацию нарушений гормонального фона.

Статистически значимых различий в частоте встречаемости случаев диффузной мастопатии, хронических сальпингоофоритов, фибромиомы матки и бесплодия у пациенток группы контроля и группы наблюдения установлено не было.

При обследовании пациенток группы наблюдения и группы контроля установлено, что среди женщин с эктопией шейки матки статистически значимо чаще ( $p < 0,001$ ) диагностировались неспецифические воспалительные заболевания влагалища и шейки матки. Среди женщин с эктопией шейки матки кольпит был диагностирован у 894 пациенток (49,5±1,18%), в группе контроля у 539 пациенток

(18±0,7%). Цервицит диагностирован у 910 пациенток (50,4±1,18%) группы наблюдения и контроля у 719 пациенток (24±0,78%) группы контроля. Данный факт свидетельствует о значимой роли воспаления в этиологии развития эктопии шейки матки и осложняет ее течение.

При анализе клинической формы течения эктопии установлено, что среди женщин с данной патологией не осложненная эктопия наблюдалась только у 197 (10,9±0,73%) пациенток, а у 1608 (89,1±0,73%) пациенток эктопия осложнялась воспалительным процессом. Статистически значимо чаще наблюдалась осложненная эктопия ( $p < 0,001$ ). В области эктопии шейки матки, особенно при ее длительном течении на фоне воспалительного процесса, могут возникать очаги дисплазии, характеризующиеся повышением пролиферативной активности базальных и парабазальных клеток эпителия и признаками атипизма клеток. Данные патологические пролиферативные процессы могут привести к злокачественному новообразованию на шейке матки.

Средний возраст пациенток с эктопией шейки матки составил  $27,2 \pm 0,2$  года. При анализе данных амбулаторных карт пациенток с эктопией шейки матки отмечено, что эктопия шейки матки наиболее часто встречается в раннем репродуктивном возрасте, а именно в 19-34 года, что составило  $89,3 \pm 0,73\%$  ( $p < 0,001$ ) по сравнению с пациентками в возрасте 35 лет и старше. Эти данные свидетельствуют о том, что эктопия свойственна именно женщинам молодого возраста и у части женщин, вероятно, может наблюдаться замещение цилиндрического эпителия многослойным плоским эпителием. Заживление неосложненной эктопии шейки матки происходит за счет резервных клеток, обладающих плюрипотентностью (способностью превращаться в цилиндрический или плоский эпителий). Но при отсутствии адекватной санации и устранении факторов, способствующих развитию эктопии, происходят изменения в составе нормальной генитальной микрофлоры, приводящие к снижению колонизационной резистентности и функциональной активности защитных барьеров организма по отношению к условно-патогенной микрофлоре, что может лежать в основе последующих патологических сдвигов, приводящих к дисплазии эпителия шейки матки.

### Заключение

1. Распространенность эктопий среди женщин репродуктивного возраста г. Витебска достаточно высока -  $37,6 \pm 0,7\%$  и сопоставима с данными других эпидемиологических исследований, что может свидетельствовать об отсутствии зависимости частоты эктопии шейки матки от географического расположения.

2. Среди пациенток с эктопией шейки матки статистически значимо чаще ( $p < 0,01$ ) по сравнению с группой контроля диагностировано нарушение менструальной функции, что может свидетельствовать о значимости гормонального статуса в формировании эктопии шейки матки.

3. Воспалительные процессы влагалища и шейки матки среди женщин с эктопией шейки матки диагностировались статистически значимо чаще ( $p < 0,001$ ), что свидетельствует о значимой роли воспаления в этиологии развития эктопии шейки матки и осложняет ее течение.

4. Клинически для эктопии шейки матки характерно осложненное течение ( $89,1 \pm 0,73\%$ ). Длительное осложненное течение эктопии на фоне воспалительного процесса способствует нарушению процессов пролиферации эпителия и может быть расценено как фактор развития дисплазии и атипии клеток.

5. Высокая распространенность, склонность к осложненному течению определяют необходимость разработки единого научно обоснованного подхода к ведению пациенток с эктопией шейки матки и разработке новых эффективных методов лечения.

### Литература

1. Прилепская, В.Н., Рудакова, Е.Б., Кононов, А.В. Эктопии и эрозии шейки матки. - М.: МЕДпресс-информ, 2002. - 176 с.
2. Инфекции, передаваемые половым путем, и экзоцервикс [Текст] : научное издание / А.И.Новиков, А.В.Кононов, И.Г.Ваганова. - М.: Медицина, 2002. - 176 с.
3. Навроцкий, А.Л. Анализ и альтернативные формы работы по профилактике инфекций, передаваемых половым путем, среди молодежи / Навроцкий А.Л., Карапетова К.А., Гуринович Т.А. // Сборник материалов Республиканской научно-практической молодежной конференции с международным участием Научные стремления 2010 №2 ноябрь.
4. Навроцкий, А.Л. Профилактика болезней, передаваемых половым путем: Пособие для классных руководителей, социальных педагогов, психологов общеобразовательных школ / Навроцкий А.Л., Панкратов В.Г., Салук Ю.В. - Мн.: Университетское, 2011. - 152 с.
5. International terminology of colposcopy: an updated report from the International Federation for cervical pathology and colposcopy/ Walker P. [et al] // Obstet. and Gynecol. - 2003. - Vol. 101, N.1, Jan. - P. 175-1777 (3).
6. Эктопия шейки матки: клиника, иммунные механизмы, диагностика и лечение/ С.В. Кудинов [и др.]-. Тюмень:Издательство Тюменского го-

- сударственного университета, 2007. - 168 с.
7. Русакевич, П.С. Системный патогенетический подход к диагностике и лечению доброкачественных (фоновых) и предраковых заболеваний шейки матки / П.С. Русакевич.- Минск: Полифакт, 2005. - 268 с.
  8. Клиническая гинекология. Избранные лекции: Матер. конгресса «Практическая гинекология: от новых возможностей к новой стратегии» / Под ред. В.Н. Прилепской. - М.: МЕДпресс-информ, 2007. - 480 с.
  9. Козаченко, В.П. Онкогинекология: руководство для врачей/ В.П. Козаченко.- М.: Медицина, 2006.- 560 с.
  10. Disease Control Priorities in Developing Countries / D.T. Jamison [et al.] // New York: Oxford University Press, World Bank, 1993.
  11. Подзолкова, Н.М. Симптом. Синдром. Диагноз. Дифференциальная диагностика в гинекологии / Н.М. Подзолкова, О.Л. Глазкова. – 2-е изд., испр. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2005. – С. 10-25.

*Поступила 04.03.2013 г.  
Принята в печать 05.09.2013 г.*

**Сведения об авторах:**

Огрязко И.Н. - аспирант кафедры акушерства и гинекологии УО «ВГМУ»;

Семенов Д.М. - д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии УО «ВГМУ».



© РУЖИЛО О.С., ДИВАКОВА Т.С., 2013

## ВЛИЯНИЕ ПОЛИМОРФНЫХ ВАРИАНТОВ ГЕНОВ РЕЦЕПТОРОВ, АКТИВИРУЮЩИХ ПРОЛИФЕРАЦИЮ ПЕРОКСИСОМ PPAR $\alpha$ И PPARGC1A, НА РАЗВИТИЕ СИНДРОМА ПОЛИКИСТОЗНЫХ ЯИЧНИКОВ

РУЖИЛО О.С.\*, ДИВАКОВА Т.С.\*\*

УО «Полесский государственный университет»\*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»\*\*

**Резюме.** Цель исследования - изучение вклада полиморфизма генов, кодирующих PPAR $\alpha$  и PPARGC1A, в развитие синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) у женщин репродуктивного возраста в белорусской популяции.

Нами проведено исследование методом случай-контроль 120 женщин. Основная группа включала 60 пациенток с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ), группа сравнения состояла из 60 здоровых женщин. Молекулярно-генетическое исследование проводилось методом ПЦР и ПДРФ анализа.

Аллели со сниженной функциональной активностью генов PPAR $\alpha$  (rs4253778) и PPARGC1A (rs8192678) встречаются чаще у пациенток с СПКЯ (PPAR $\alpha$ :  $\chi^2=12,87$ , OR 2,87 (95% CI 1,60-5,52),  $p<0,001$ ; PPARGC1A:  $\chi^2=19,1$ , OR 3,78 (95% CI 2,05-6,94),  $p<0,001$ ). Носительство аллеля С гена PPAR $\alpha$  и аллеля А гена PPARGC1A рассматриваются как ассоциированные с СПКЯ.

**Ключевые слова:** синдром поликистозных яичников, гены PPAR $\alpha$ , PPARGC1A, генетический полиморфизм.

**Abstract.** The objective of the present investigation was to study the contribution of polymorphism of the genes coding PPAR $\alpha$  and PPARGC1A to the development of polycystic ovary syndrome (PCOS) in women of the reproductive age living in Belarus.

We investigated 120 women using the case-control study method. The main group included 60 women with polycystic ovary syndrome (PCOS), and the control group included 60 healthy women. Molecular-genetic research was conducted using PCR-RFLP analysis. PCOS patients more frequently than controls were carriers of alleles with reduced functional genes activity (PPAR $\alpha$  (rs4253778):  $\chi^2=12,87$ , OR 2,87 (95% CI 1,60-5,52),  $p<0,001$ ; PPARGC1A (rs8192678):  $\chi^2=19,1$ , OR 3,78 (95% CI 2,05-6,94),  $p<0,001$ ).

Carriage of allele C of the gene PPAR $\alpha$  and that of allele A of the gene PPARGC1A are considered as associated with PCOS.

**Key words:** polycystic ovary syndrome, genes PPAR $\alpha$  and PPARGC1A, genetic polymorphism.

Более 70 лет продолжают дискуссии по вопросам этиологии и патогенеза синдрома поликистозных яичников (СПКЯ) у женщин. Несмотря на большое число предложенных теорий развития

СПКЯ, патогенез заболевания до конца не изучен. В настоящее время известно, что СПКЯ имеет семейный характер, носящий мультифакториальный тип наследования [1]. Основной перечень работ, посвященных изучению генетической этиологии СПКЯ, базируется на исследовании полиморфных вариантов возможных генов-кандидатов заболевания. Однако генетические механизмы, лежащие в осно-

**Адрес для корреспонденции:** 225710, г. Пинск, ул.Центральная, д.80, кв. 70. Тел.моб.: +375 (29) 169-84-85, e-mail: ruzhylo@tut.by – Ружило Ольга Сергеевна.

ве СПКЯ, несмотря на многолетние исследования, до сих пор остаются неясными [2, 3]. В настоящее время основным подходом в изучении генетической предрасположенности к определенной патологии является методика исследования полиморфизмов генов-кандидатов. Сущность подхода заключается в проверке гипотезы, связано ли наличие полиморфного варианта гена с развитием заболевания. Поиски в геноме человека полиморфизма отдельных генов или локусов, которые были бы характерны для всех пациентов с СПКЯ, пока не дали ощутимых результатов. Положительные находки касались гена FTO (ген, ассоциированный с жировой массой, rs9939609). Учитывая важную роль ожирения в этиологии СПКЯ и сахарного диабета 2 типа Barber et al. (2008) установили, что аллель А гена FTO связана с развитием СПКЯ.

Рецепторы, активирующие пролиферацию пероксисом (PPARs) — группа ядерных рецепторов, функционирующих в качестве фактора транскрипции. PPARs играют существенную роль в регуляции клеточной дифференцировки, метаболизме глюкозы и липидов. PPARs оказывают и другие эффекты – противовоспалительный, действие на яичники и плаценту, что может служить связующим звеном между обменом углеводов и липидов, воспалительным ответом и репродуктивной функцией. К эндогенным лигандам PPARs относятся свободные жирные кислоты и метаболиты арахидоновой кислоты, к экзогенными – такие лекарственные средства как тиазолидиндионы и фибраты [5, 6].

Ген PPAR $\alpha$  кодирует белок, имеющий свойство специфически связываться с PPAR-чувствительными элементами промоторов генов жирового и углеводного метаболизма и регулировать их транскрипцию. Среди изученных полиморфизмов PPAR $\alpha$  можно выделить G/C полиморфизм 7-го интрона (rs 4253778). Замена нуклеотида G на C в положении 2528 гена ассоциируется со снижением экспрессии гена, что приводит к нарушению регуляции липидного и углеводного обменов: G/G - нормальный вариант по-

лиморфизма в гомозиготной форме; G/C - гетерозиготная форма полиморфизма; C/C - мутантный вариант полиморфизма в гомозиготной форме.

PPARGC1A (коактиватор 1 $\alpha$  PPAR $\gamma$ ) в результате воздействия на транскрипционные факторы опосредованно выполняет следующие функции: повышение секреции инсулина и катаболическое воздействие на жировую массу; активацию процессов адаптивного термогенеза; стимуляцию образования митохондрий и усиление окислительных процессов; регуляцию глюконеогенеза и транспорта глюкозы; регуляцию липогенеза и др. Особый интерес среди всех обнаруженных вариаций в продукте гена PPARGC1A представляет аминокислотная замена Gly482Ser. Ее причиной является замена нуклеотида G на A в положении 1444 8-го экзона: G/G - нормальный вариант полиморфизма в гомозиготной форме; G/A - гетерозиготная форма полиморфизма; A/A - мутантный вариант полиморфизма в гомозиготной форме. 482Ser-аллель ассоциируется со снижением уровня экспрессии гена PPARGC1A и с уменьшением интенсивности окислительных процессов и митохондриального биосинтеза в клетках [7]. Для 482Ser-аллели показана связь с инсулинорезистентностью и сахарным диабетом типа 2 [8].

Цель настоящего исследования заключается в изучении вклада полиморфных вариантов генов, кодирующих PPAR $\alpha$  и PPARGC1A в развитие СПКЯ у женщин репродуктивного возраста в белорусской популяции.

## Методы

Обследование проводилось после получения письменного информированного согласия, одобренного комиссией по биоэтике Полесского государственного университета. Основную группу составили 60 пациенток с СПКЯ, наблюдавшихся в кабинете по лечению бесплодия, невынашивания и эндокринной патологии в акушерско-гинекологическом отделении № 1 филиала «Женская консультация» г. Пин-

ска. Группа сравнения состояла из 60 здоровых женщин репродуктивного возраста. В группе сравнения не было выявлено нарушений менструальной функции, гиперандрогении и ожирения. Диагноз СПКЯ устанавливали на основании клинического обследования и инструментальных методов диагностики в соответствии с критериями «Роттердамского консенсуса по СПКЯ» (2003 г.) Европейского Общества Репродукции Человека и Эмбриологии и Американского Общества Репродуктивной Медицины после исключения другой эндокринной патологии. Для определения индекса массы тела (ИМТ) использовали стандартную формулу: ИМТ = вес, кг / рост<sup>2</sup>, см. Гирсутизм определяли как избыточный рост волос в андрогензависимых зонах по шкале Ферримана-Голлвея.

Всем женщинам были проведены молекулярно-генетические исследования по стандартным методикам с использованием высокочувствительных методов: ПЦР (полимеразная цепная реакция), ПДРФ (полиморфизм длин рестриционных фрагментов) в Научно-исследовательской лаборатории лонгитудинальных исследований УО «Полесский государственный университет». ДНК выделяли из Buccal-эпителия. Для определения полиморфизма G2528C (rs4253778) гена PPAR $\alpha$  проводили ПЦР со следующей парой праймеров (температура отжига – 60°C):

прямой праймер:

5'-ACAATCACTCCTTAAATATGGTGG-3';

обратный праймер:

5'-AAGTAGGGACAGACAGGACCAGTA-3'.

ПЦР проводили на автоматических термоциклерах Biometra (Biometra, Germany). Продуктами амплификации в этой ПЦР являются фрагменты ДНК длиной 266 пар оснований (п.о.). Наличие замены нуклеотида G/C в 2528 положении 7-го интрона гена PPAR $\alpha$  создаёт сайт распознавания для эндонуклеазы TaqI. Для детекции этого полиморфизма проводили обработку продукта ПЦР рестриктазой TaqI при 65°C в течение одного часа. Анализ длины амплифицированных фрагментов и продуктов их рестрикции прово-

дили электрофоретическим разделением в агарозном геле и гель-документированием в проходящем ультрафиолетовом свете, с применением цифровой компьютерной видеосъемки на приборе GDS-8000 («UVP», США). Генотипу GG соответствуют нерестрицированные фрагменты длиной 266 п.о., генотипу GC – три фрагмента длиной 266, 215 и 51 п.о., а генотипу CC – 2 фрагмента длиной 215 и 51 п.о. (рис. 1).

Для определения полиморфизма G1444A гена PPARGC1A (rs8192678) проводили ПЦР со следующей парой праймеров (температура отжига – 58°C):

прямой праймер:

5'-TGCTACCTGAGAGAGACTTTG-3'

обратный праймер:

5'-CTTTCATCTTCGCTGTCATC-3'

Продуктами амплификации в этой ПЦР являются фрагменты ДНК длиной 260 п.о.

Наличие замены нуклеотида G/A в 1444-м положении 8-го экзона гена PPARGC1A создаёт для эндонуклеазы MspI сайт рестрикции. Для детекции этого полиморфизма проводили обработку продукта ПЦР рестриктазой MspI при 37°C в течение одного часа с последующим электрофорезом продуктов рестрикции. Генотипу AA (Ser/Ser) соответствуют нерестрицированные фрагменты длиной 260 п.о., генотипу AG (Ser/Gly) – три фрагмента длиной 260, 148 и 112 п.о., а генотипу GG (Gly/Gly) – 2 фрагмента длиной 148 и 112 п.о. (рис. 2).

Для статистической обработки полученных данных применяли программное обеспечение STATISTICA 8.0 («StatSoft Inc.», США). Значимость различий в частоте аллелей между сравниваемыми выборками определяли с использованием критерия хи-квадрат или точного теста Фишера. Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Обследование 60 пациенток с СПКЯ показало, что все они независимо от массы тела имели нарушения менструального цикла, которые дебютировали с менар-



Рис. 1. Электрофореграмма результатов ПЦР-ПДРФ анализа полиморфизма G2528C гена PPAR $\alpha$ .

Дорожки: 1 – ДНК-маркер молекулярных масс (шаг 50 п.о., CarlRoth); 2 – продукт амплификации и рестрикции ДНК индивидуума с генотипом GG; 3 – продукт амплификации и рестрикции ДНК индивидуума с генотипом GC; 4 – продукт амплификации и рестрикции ДНК индивидуума с генотипом CC.

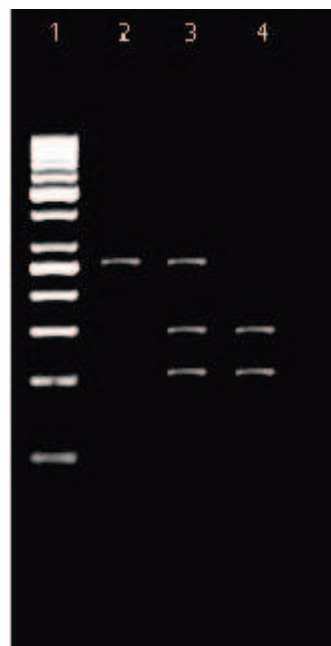


Рис. 2. Электрофореграмма результатов ПЦР-ПДРФ анализа полиморфизма G1444A гена PPARGC1A.

Дорожки: 1 – ДНК-маркер молекулярных масс (шаг 50 п.о., CarlRoth); 2 – продукт амплификации и рестрикции ДНК индивидуума с генотипом AA; 3 – продукт амплификации и рестрикции ДНК индивидуума с генотипом AG; 4 – продукт амплификации и рестрикции ДНК индивидуума с генотипом GG.

хе у 80% пациенток. Вторичная аменорея отмечена в анамнезе у 11,7% пациенток с СПКЯ.

У большинства пациенток с СПКЯ отмечался гирсутизм: у 20% гирсутное число более 12 баллов, 40% женщин имели пограничное оволосение – гирсутное число 7-12 баллов. Избыток массы тела и ожирение отмечено у 26 пациенток (43,3%). Для пациенток с СПКЯ характерно избыточное отложение жира в области живота и развитие абдоминального типа ожирения. Клиническая характеристика исследуемой группы приведена в таблице 1.

Анализ распределения частот аллелей PPAR $\alpha$  и PPARGC1A у пациенток с СПКЯ и здоровых женщин методом построения таблиц сопряженности выявил достоверные различия в частотах аллелей (для PPAR $\alpha$ :  $\chi^2=12,87$ , OR 2,87 (95% CI 1,60-5,52),  $p<0,001$ ; для PPARGC1A:  $\chi^2=19,1$ , OR 3,78 (95% CI

2,05-6,94),  $p<0,001$ . Аллель С PPAR $\alpha$  у пациенток с СПКЯ встречается в 2,2 раза чаще, чем у здоровых. Аллель А PPARGC1A в группе пациенток с СПКЯ встречается в 1,8 раза чаще, чем в группе сравнения. Эти данные сходны с полученными нами ранее на небольшой выборке и подтверждают вывод о том, что генотипы со сниженной функциональной активностью встречались чаще у пациенток с СПКЯ [9].

В исследованиях, где применяется молекулярно-генетический метод, принято обнаруженные частоты распределения полиморфных аллелей сравнивать с т.н. популяционными частотами, то есть с имеющимися в данном географическом регионе у конкретной этнической группы. К сожалению, такой информации по Республике Беларусь в международных базах данных нет, поэтому мы использовали данные о частоте генотипов PPAR $\alpha$  в русской попу-



Таблица 1

**Клиническая характеристика пациенток с синдромом поликистозных яичников (СПКЯ)**

Показатель	Пациентки с СПКЯ (n=60)	%
Олигоменорея	49	81,7
Вторичная аменорея	7	11,7
Поликистозные яичники при ультразвуковом исследовании	53	88,3
Признаки гиперандрогении		
- Гирсутное число $\geq 12$	12	20
- Акне	16	26,8
- Жирная себорея	31	51,7
Бесплодие	50	83,3
Избыток массы тела (ИМТ > 25 кг/м <sup>2</sup> )	17	28,3
Ожирение (ИМТ > 30 кг/м <sup>2</sup> )	9	15
Окружность талии > 80 см	26	43,3

Таблица 2

**Распределение частот генотипов PPAR $\alpha$  у пациенток с СПКЯ, здоровых женщин и в русской популяции**

Аллели и генотипы	СПКЯ		Группа сравнения		Русская популяция (Ahmetov Ildus I. et al., 2006), %
	n=60	%	n=60	%	
Генотипы					
GG	2	3,3	33	55	70
GC	53	88,3	26	43,3	27,3
CC	5	8,3	1	1,7	2,7
Аллели					
G	57	47,5	92	76,7	83,6
C	63	52,5	28	23,3	16,4

Таблица 3

**Распределение частот генотипов PPARGC1A у пациенток с СПКЯ и в группе здоровых женщин**

Аллели и генотипы	СПКЯ		Группа сравнения	
	n=60	%	n=60	%
Генотипы				
GG	2	3,3	28	46,7
GA	51	85	29	48,3
AA	7	11,7	3	5
Частота аллели				
G	55	45,8	85	70,8
A	65	54,2	35	29,2

ляции (размер выборки 1242 человека) [10]. При сравнении частот генотипов у здоровых индивидуумов в русской популяции и в группе сравнения статистически значимых различий не выявлено ( $\chi^2=1,56$ ,  $p=0,2842$ ). База данных ALFRED Йельского универ-

ситета (США) содержит информацию о частотах аллелей гена PPARGC1A в эстонской популяции (A - 0,251; G - 0,749, размер выборки 1884 человека), русской популяции (A - 0,300; G - 0,700, размер выборки 50 человек), французской популяции (A

- 0,400; G – 0,600, размер выборки 58 человек), итальянской популяции (A - 0,350; G – 0,650, размер выборки 26 человек), адыгейской популяции (A - 0,380; G – 0,620, размер выборки 34 человека) [11]. Несмотря на небольшие размеры сравниваемых выборок, частоты аллелей PPARGC1A в нашем исследовании в группе сравнения не имеют статистически значимых различий с частотами аллелей этого гена в других европейских популяциях ( $p > 0,05$ ).

### Заключение

Носительство аллеля С гена PPAR $\alpha$  и аллеля А гена PPARGC1A рассматриваются нами как ассоциированные с СПКЯ. Можно предположить, что именно дефекты регуляторных генов, таких как PPARs, являются причиной каскада метаболических и гормональных нарушений при СПКЯ. Кроме того, лечение препаратами, нормализующими углеводный и липидный обмен (бигуаниды и тиазолидиндионы), мероприятия по нормализации веса и правильное питание ведут к нормализации эндокринного статуса и восстановлению овуляции у женщин с СПКЯ.

Практические перспективы использования полученных результатов исследования заключаются в возможности прогнозировать развитие СПКЯ у девушек-подростков с учетом генотипа, семейного анамнеза и образа жизни, а также проводить дифференцированную терапию и корректировать питание, физическую активность, совмещая традиционные подходы и использование генетических детерминант.

### Литература

1. Azziz, R. Polycystic Ovary Syndrome Is a Family Affair / Azziz R. // J Clin Endocrinol Metab. – 2008. – N 5. – P. 1579–1581.
2. The Molecular-Genetic Basis of Functional Hyperandrogenism and the Polycystic Ovary Syndrome / H. F. Escobar-Morreale [et al.] // Endocrine Reviews. – 2005. – N 2. – P. 251–282.
3. Genetic polymorphisms of FSHR, CYP17, CYP11A1, CAPN10, INSR, SERPINE1 genes in adolescent girls with polycystic ovary syndrome / T. Unsal [et al.] // J Assist Reprod Genet. – 2009. – Vol. 26. – P. 205–216.
4. Association of variants in the fat mass and obesity associated (FTO) gene with polycystic ovary syndrome / T. M. Barber [et al.] // Diabetologia. – 2008. – Vol. 51. – P. 1153–1158.
5. Nuclear Receptors of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) Family in Gestational Diabetes: From Animal Models to Clinical Trials / P. Arck [et al.] // Biology of Reproduction. – 2010. – Vol. 83 – P. 168–176.
6. Yeeoufou, A. Multifaced roles of peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) at cellular and whole organism levels / A. Yeeoufou, W. Wahli // Swiss Med Wkly. – 2010. – Vol. 140. – P.13071.
7. An exonic peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  coactivator-1 $\beta$  variation may mediate the resting energy expenditure through a potential regulatory role on important gene expression in this pathway / K. Mirzaei [et al.] // J Nutrigenet Nutrigenomics. – 2012. – Vol. 5, N 2. – P. 59–71.
8. Evidence for interaction between PPARG Pro12Ala and PPARGC1A Gly482Ser polymorphisms in determining type 2 diabetes intermediate phenotypes in overweight subjects / S.M. Ruchat [et al.] // Exp Clin Endocrinol Diabetes. – 2009 Oct. – Vol. 117, N 9. – P. 455–459.
9. Ружи́ло, О.С. Роль полиморфизма генов PPAR $\alpha$  и PPARGC1A в развитии синдрома поликистозных яичников у женщин репродуктивного возраста в белорусской популяции. / О. С. Ружи́ло, Т.С. Дивакова // Репродуктив. здоровье. Восточная Европа. – 2012. – № 5 (23). – С. 189–192.
10. PPAR $\alpha$  gene variation and physical performance in Russian athletes / I. A. Ildus [et al.] // Eur J Appl Physiol. – 2006. – Vol. 97 – P. 103–108.
11. База данных ALFRED (The ALlele FREquency Database) // Йельский университет [Электронный ресурс]. – Режим доступа : <http://alfred.med.yale.edu>. – Дата доступа : 18.02.2012.

Поступила 04.03.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Ружи́ло О.С. - старший преподаватель кафедры общей и клинической медицины УО «ПГУ»;  
Дивакова Т.С. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой акушерства и гинекологии ФПК и ПК УО «ВГМУ».

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

## СОДЕРЖАНИЕ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У ЖЕНЩИН С ХИРУРГИЧЕСКОЙ И ЕСТЕСТВЕННОЙ МЕНОПАУЗОЙ

КОЛБАСОВА Е.А.\*, КИСЕЛЕВА Н.И.\*, ДОРОШЕНКО Е.М.\*\*, КУРБАТ М.Н.\*\*, НОВОГРОДСКАЯ Я.И.\*\*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»\*

УО «Гродненский государственный медицинский университет»\*\*

**Резюме.** Целью нашего исследования была характеристика пула свободных аминокислот сыворотки крови у женщин с хирургической и естественной менопаузой и установление наиболее значимых факторов, вызывающих аминокислотный дисбаланс. Нами обследованы 72 женщины, в том числе 33 с хирургической менопаузой (I группа), 23 с естественной менопаузой (II группа), 16 в позднем репродуктивном и пременопаузальном возрастах (контрольная группа). Установлено, что у женщин с хирургической и естественной менопаузой развивается аминокислотный дефицит. Изменения пула свободных аминокислот у пациенток в постменопаузе патогенетически взаимосвязаны с типом менопаузы, о чем свидетельствует статистически значимо более низкие уровни дикарбоновых, ароматических, серосодержащих аминокислот в сыворотке крови женщин с хирургической менопаузой по сравнению с женщинами с естественной менопаузой.

**Ключевые слова:** хирургическая и естественная менопауза, свободные аминокислоты.

**Abstract.** The aim of our study was to characterize the pool of free amino acids in blood sera of women with surgical and natural menopause and to establish the most significant factors causing the amino acid imbalance. We examined 72 women, including 33 with surgical menopause (I group), 23 with natural menopause (II group), 16 at the late reproductive and premenopausal age (control group). Women with surgical and natural menopause were found to develop an amino acid deficiency. Changes in the pool of free amino acids in postmenopausal women are pathogenetically linked with the type of menopause, as evidenced by statistically significant lower levels of dicarboxylic, aromatic, sulfur-containing amino acids in the sera of women with surgical menopause compared to women with natural menopause.

**Key words:** natural and surgical menopause, free amino acids.

**В** настоящее время в большинстве стран отмечается тенденция к неуклонному росту гинекологических заболеваний у женщин после 45 лет, требующих оперативных вмешательств, а также

к естественному старению женского населения, что обуславливает актуальность поиска более оптимальных методов лечения этих пациенток [6]. Течение постменопаузального периода часто сопровождается возникновением осложнений, связанных с развитием метаболических расстройств, сердечно-сосудистых, нервно-психических заболеваний, в патогенезе которых нарушениям формирования фонда аминокислот и их производным отводится особое место [9].

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра акушерства и гинекологии. Тел. моб.: +375 (29) 713-77-20, e-mail: lankolb@rambler.ru – Колбасова Елена Анатольевна.

Изучение аминокислотного статуса у пациенток в постменопаузе открывает перспективы создания новых методов исследования, разработки и оптимизации патогенетически обоснованного применения аминокислотных лекарственных средств направленного действия [8].

В связи с изложенным выше, исследование фонда свободных аминокислот в сыворотке крови у пациенток с хирургической и естественной менопаузой представляет значительный интерес.

Цель исследования – охарактеризовать аминокислотный фонд сыворотки крови у женщин с хирургической и естественной менопаузой и выявить наиболее значимые факторы, определяющие аминокислотный дисбаланс.

### Методы

Нами обследованы 56 женщин в состоянии постменопаузы (хирургической или естественной), имеющие клинические и лабораторные (уровень ФСГ в крови более 20 МЕ/л) признаки дефицита половых гормонов. Критериями исключения из исследования явились дебют артериальной гипертензии в репродуктивном возрасте, сосудистые заболевания головного мозга, ишемическая болезнь сердца, сахарный диабет, ожирение при индексе массы тела более 40,0, соматические и эндокринные заболевания в стадии декомпенсации.

Обследованные женщины были разделены на 2 группы: в I группу вошли 33 женщины с двусторонней овариоэктомией в анамнезе, во II – 23 пациентки с естественной менопаузой. Показанием к оперативному лечению у пациенток I группы были миома матки (87%), эндометриоз (5,6%), тубоовариальные и опухолевидные образования придатков матки (7,4%). Гистерэктомия с тотальной овариоэктомией была проведена в 90,7% случаев, двусторонняя овариоэктомия – в 9,3% случаев. На момент обследования средний возраст женщин I группы составил  $50,7 \pm 2,7$  лет, II группы –  $52,3 \pm 3,5$  года; длительность менопаузы 1,0 (0,8; 2,0) года и 2,0 (1,0; 3,0)

года соответственно. По длительности менопаузы, антропометрическим показателям, количеству в анамнезе беременностей, родов, наличию сопутствующих заболеваний обе группы статистически значимо не различались.

Контрольную группу составили 16 женщин позднего репродуктивного и пременопаузального возрастов с сохраненной менструальной функцией, сопоставимые по возрасту ( $48,0 \pm 2,6$  лет).

Исследования проводились на базе кафедры акушерства и гинекологии УО «Витебский государственный медицинский университет», НИЛ научно-исследовательской части УО «Гродненский государственный медицинский университет».

Нами изучен спектр свободных аминокислот и их производных в сыворотке крови женщин обследованных групп. Определение свободных аминокислот и их дериватов проводилось в хлорнокислых экстрактах сыворотки крови обращенно-фазной хроматографией с предколоночной дериватизацией о-фталевым альдегидом и 3-меркаптопропионовой кислотой с детектированием по флуоресценции (231/445 нм) [5].

Оценка полученных значений производилась программой Agilent ChemStation V.04.02 путем сравнения результатов анализа исследуемых биологических объектов со стандартной калибровочной кривой искусственной смеси аминокислот Aldrich (США), в которую дополнительно вносили компоненты, представляющие интерес и не содержащиеся в данной композиции: цистеиновая кислота (CA), цистеинсульфиновая кислота (CSA), L-глутамин, L-аспарагин, O-фосфоэтаноламин.

Нами изучены количество циркулирующих в крови эндотелиальных клеток, показатели перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности плазмы крови у обследованных пациенток, результаты, исследования которых представлены в предыдущих работах [6, 7]. Статистическая обработка данных проводилась с помощью пакета прикладных программ «STATISTICA 6.0». При этом

были использованы модули Basic Statistic/Tables, Nonparametrics. В случае распределения признака, отличного от нормального, результаты представляли как Me (25%; 75%), где Me – медиана (25%, 75%) – 25-й и 75-й процентиля. При сравнении двух независимых групп по количественному признаку, не подчиняющемуся нормальному распределению, использовали U-критерий Манна-Уитни. Для сравнения количественного признака в трех и более независимых группах пользовались методом Крускала-Уоллиса. В случае выявления различий проводили попарное сравнение групп с помощью теста Манна-Уитни, применяя поправку Бонферрони. Для анализа взаимосвязи признаков применяли метод непараметрического корреляционного анализа (ранговая корреляция по Спирмену – R). Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости  $p$  принимали равным 0,05.

### Результаты и обсуждение

Важным показателем обменных процессов является метаболический фонд свободных аминокислот. Показатели аминокислотного статуса у обследованных женщин представлены в таблице 1.

Как видно из данных аминокислотный спектр сыворотки крови у обследованных женщин, представленный 24 свободными аминокислотами и их производными, имеет различия.

У женщин с хирургической и естественной менопаузой по сравнению с женщинами позднего репродуктивного и пременопаузального возрастов имеет место статистически значимое снижение содержания нейтральных аминокислот с разветвленной углеводородной цепью (АРУЦ), необходимых для синтеза белка в мышцах, роста и функционирования поперечно-полосатых и продольных мышц: валина – в 1,6 раза ( $p<0,01$ ) и 1,3 раза ( $p=0,02$ ), лейцина – в 1,6 раза ( $p<0,01$ ) и 1,3 раза ( $p=0,03$ ), изолейцина – в 1,6 ( $p<0,001$ ) и 1,3 раза ( $p=0,02$ ) соответственно.

При анализе уровня ароматических аминокислот (ААК) установлено, что у пациенток I и II групп снижены медианные значения уровня фенилаланина на 31,8% ( $p<0,01$ ) и 24,3% ( $p=0,03$ ), тирозина – на 30,9% и 15,1% ( $p=0,03$ ), триптофана – на 35,8% и 25,6% ( $p<0,01$ ) соответственно по сравнению с женщинами контрольной группы. Триптофан – незаменимая аминокислота, являющаяся предшественником нейротрансмиттера (серотонина) в головном мозге и энтерохромаффинных клетках, ответственного за настроение, качество сна и восприятие боли, и играющая роль в выработке витамина B3 и PР и гормона мелатонина [12]. Возможно, с недостаточностью триптофана можно связать максимально выраженные психоэмоциональные проявления климактерического синдрома у женщин в постменопаузе.

У женщин обеих групп по сравнению с женщинами контрольной группы отмечено снижение уровня серина, отвечающего за нейропластичность, процессы памяти, а также являющегося субстратом транссульфурирования гомоцистеина, на 42% ( $p<0,001$ ) и 23,5% ( $p=0,02$ ) соответственно.

Согласно данным литературы глицин оказывает антистрессорное, успокаивающее действие, снижает раздражительность, агрессивность и конфликтность, помогает снять головную боль, напряжение, препятствует возникновению депрессивных состояний [1, 2]. У пациенток I группы по сравнению с женщинами II и контрольной групп имеет место значительное снижение уровня глицина на 26,5% ( $p<0,01$ ) и 28% ( $p<0,01$ ), что может быть связано с большей выраженностью нарушений в психоэмоциональной сфере у пациенток после радикальных операций.

Следует отметить и уменьшение пула серосодержащих аминокислот у женщин с хирургической и естественной менопаузой. Так, уровень метионина снизился на 33,7% ( $p<0,05$ ) и 28,6% ( $p<0,05$ ) соответственно по отношению к женщинам контрольной группы, что свидетельствует об отрицательном действии гипозэстрогении на ресинтез метионина из гомоцистеина

Таблица 1

**Содержание свободных аминокислот в сыворотке крови  
у обследованных женщин (Ме (25%; 75%))**

Показатель, мкмоль/л	Группы обследованных женщин		
	I группа (n=33)	II группа (n=23)	контрольная группа (n=16)
Цистеиновая кислота (CA)	0,22 (0,16; 0,29)**	0,27 (0,14; 0,32)	0,23 (0,17; 0,31)
О-фосфосерин (PSer)	0,23 (0,17; 0,30)	0,27 (0,20; 0,35)	0,29 (0,22; 0,38)
Цистеинсульфиновая кислота (CSA)	0,21 (0,15; 0,26)	0,22 (0,17; 0,26)	0,24 (0,21; 0,28)
Аспарагиновая кислота (Asp)	23,86 (14,19; 27,93)*.**	28,45 (20,49;	35,38 (28,74; 43,58)
Глутатион	0,69 (0,46; 0,96)	0,62 (0,39; 1,12)	0,60 (0,41; 0,65)
Глутаминовая кислота (Glu)	170,02 (137,50; 203,41)*.**	208,28 (159,62; 327,97)	244,22 (175,56; 343,35)
Аспарагин (Asn)	26,37 (20,124 36,18)*	28,21 (21,064 35,59)*	38,11 (27,21; 51,10)
Серин (Ser)	96,59 (77,82; 117,55)*.**	110,73 (92,54; 131,44)*	144,83 (118,01; 200,52)
$\alpha$ -аминоадипиновая кислота ( $\alpha$ -AAA)	1,83 (1,33; 2,19)	1,62 (1,26; 2,19)	1,93 (1,57; 2,34)
Глутамин (Gln)	301,9 (197,93; 373,52)	279,44 (117,87; 397,50)*	352,01 (275,73; 570,67)
Гистидин (His)	59,69 (45,21; 68,38)*.**	75,48 (63,40; 89,82)	82,15 (68,90; 114,22)
3-метилгистидин (3MHis)	1,69 (0,78; 3,16)	2,40 (0,97; 5,27)	3,09 (1,33; 6,37)
Глицин (Gly)	117,19 (75,55; 162,57)*.**	159,55 (130,55; 220,52)	163,0 (136,15; 196,74)
Фосфоэтаноламин (PEA)	3,12 (2,06; 5,86)	3,15 (2,01; 5,97)	4,58 (2,94; 9,55)
Треонин (Thr)	76,91 (56,67; 106,46)*.**	106,32 (89,57; 127,75)*	138,96 (99,16; 179,83)
1-метилгистидин (1MHis)	2,59 (2,15; 3,10)	2,99 (2,46; 3,70)	3,20 (2,35; 3,76)
Цитруллин (Citr)	22,0 (17,33; 31,12)*.**	28,36 (24,46; 34,82)*	44,39 (25,47; 53,24)
Аргинин (Arg)	69,58 (43,86; 87,94)*.**	81,52 (61,86; 100,93)*	124,25 (81,85; 148,34)
Ансерин (Ans)	5,54 (3,89; 6,72)	4,91(3,90; 6,98)	5,0 (3,54; 7,36)
$\beta$ -аланин ( $\beta$ -Ala)	2,31 (1,49; 3,18)	2,33(1,87; 3,56)	2,12 (1,72;
Саг (карнитин)	5,68 (1,77; 103,0)**	103,0 (4,18; 103,0)	56,05 (2,76; 103,0)
Аланин (Ala)	289,30 (194,54; 372,03)	302,19 (234,12; 428,61)	413,92 (335,41;
Таурин (Tau)	87,40 (76,69; 108,74)	116,21 (85,12; 164,59)	96,77 (82,33; 135,13)
$\beta$ -аминоизомасляная кислота ( $\beta$ -ABA)	1,46 (1,14; 1,85)	1,43 (1,06; 1,86)	1,63 (1,28; 2,23)
$\gamma$ -аминомасляная кислота (GABA)	1,14 (0,81; 1,65)*.**	1,46 (1,23; 2,62)*	3,05 (1,61; 5,80)
Тирозин (Tyr)	44,54 (29,30; 64,26)*	54,47 (38,41; 68,69)*	64,47 (54,27; 110,81)
$\alpha$ аминномасляная кислота ( $\alpha$ -ABA)	14,86 (11,70; 20,69)*	17,38 (12,96; 19,21)*	23,85 (14,58; 29,36)
Этаноламин (EA)	6,97 (6,16; 8,20)**	8,89 (7,20; 11,22)	7,60 (6,59; 9,56)
Валин (Val)	177,86 (101,06; 253,17)*	205,42 (159,29; 247,83)*	276,26 (202,38; 392,35)
Метионин (Met)	16,15 (12,71; 21,54)*	17,40 (6,72; 20,25)*	24,36 (17,82; 35,39)
Цистатионин (Ctn)	1,12 (0,99; 1,90)	1,37 (1,09; 2,37)	2,50 (1,50; 3,54)
Триптофан (Trp)	33,67 (19,14; 41,95)*	39,02 (28,76; 47,90)*	52,42 (38,04; 68,65)
Фенилаланин (Phe)	49,75 (36,62; 56,74)*	55,23 (41,92; 65,36)*	72,95 (53,52; 91,65)
Изолейцин (Ile)	39,01 (23,61; 50,52)*	47,85 (33,94; 57,15)*	63,54 (45,09; 90,91)
Лейцин (Leu)	77,92 (53,82; 115,73)	99,75 (75,36; 111,92)*	127,32 (85,71; 174,38)
Орнитин (Orn)	66,57 (50,87; 80,23)*.**	86,37 (63,22; 114,29)	86,11 (74,64; 109,31)
Лизин (Lys)	168,45 (50,87; 80,23)*.**	193,37 (161,46; 231,75)	226,44 (185,45; 279,52)

Примечание: \* – статистически значимые различия при сравнении с контрольной группой ( $p < 0,05$ ), \*\* – при сравнении с показателем II группы ( $p < 0,05$ ).

и последующее превращение метионина в аденозилметионин (основной донор метильных групп в клетке), образование цистеина, глутатиона, превращения циркулирующей формы фолиевой кислоты и синтеза АТФ [3, 10].

В последние годы большое внимание уделяется системе L-аргинин–NO в патогенезе различных заболеваний и формировании эндотелиальной дисфункции [9]. Нами установлено, что медианное значение уровня аргинина в сыворотке крови у женщин с хирургической менопаузой было на 14,7% ниже, чем у женщин с естественной менопаузой, и на 44% ниже по сравнению с женщинами контрольной группы (69,58 (43,86; 87,94) мкмоль/л, 81,52 (61,86; 100,93) мкмоль/л, 124,25 (81,85; 148,34) мкмоль/л соответственно,  $p < 0,01$ ). Минимальные уровни продукции предшественника монооксида азота у пациенток с овариэктомией можно объяснить тем, что эстрогеновый дефицит развивается у них в короткие сроки и более выражен, чем у пациенток с постепенным угасанием функции яичников.

Не выявлено статистически значимых различий в концентрации таурина (2-аминоэтансульфоновая кислота), участвующего в подавлении перекисных процессов и оказывающего гепатопротективное и нейропротекторное действие, цистеиновой кислоты и цистатионина - стимуляторов биологической активности многих ферментов и белковых гормонов [2, 4].

Нами установлено статистически значимое снижение концентрации гистидина и цитруллина у женщин с хирургической менопаузой: гистидина на 20,9% по сравнению с женщинами II группы ( $p < 0,01$ ) и на 27,3% по сравнению с женщинами контрольной группы ( $p < 0,001$ ), цитруллина – на 22,4% ( $p < 0,001$ ) и на 50,4% ( $p = 0,02$ ) соответственно.

Гипоэстрогения, возникающая в результате оперативных вмешательств на органах репродуктивной системы, играет немаловажную роль в обмене дикарбоновых аминокислот, обладающих нейромедиаторной функцией, участвующих в

интеграции азотистого обмена, синтезе гистидина, обезвреживании аммиака, биосинтезе углеводов, нуклеиновых кислот, синтезе фолиевой кислоты [15]. У женщин с хирургической менопаузой медианы концентраций аспарагиновой и глутаминовой кислоты были на 16% ( $p = 0,01$ ) и 38,3% ( $p = 0,01$ ) соответственно ниже, чем у пациенток с естественной менопаузой, на 32,6% ( $p < 0,001$ ) и 30,4% ( $p < 0,01$ ) соответственно ниже, чем у женщин в позднем репродуктивном и пременопаузальном возрасте. Уровень аспарагина у пациенток I и II групп снижен в постменопаузе по сравнению с группой контроля на 30,8% ( $p < 0,01$ ) и на 26,% ( $p < 0,001$ ) соответственно, глутамин у женщин II группы – на 20,6% ( $p = 0,03$ ), образующихся в результате трансаминирования из промежуточных метаболитов кетокислот.

Нами проанализирована связь уровня свободных аминокислот в сыворотке крови женщин и типа менопаузы. Выявлены статистически значимые положительные корреляции между типом менопаузы и уровнями 13 аминокислот ( $p < 0,05$ ).

Согласно данным литературы, старение организма оказывает негативное действие на аминокислотный баланс [13]. Установлено, что длительность менопаузы находится в прямой корреляционной зависимости с содержанием цистеиновой кислоты ( $R = 0,48$ ,  $p < 0,001$ ), О-фосфосерина ( $R = 0,29$ ,  $p = 0,03$ ), цистеинсульфиновой кислоты ( $R = 0,38$ ,  $p = 0,04$ ), глутаминовой кислоты ( $R = 0,36$ ,  $p < 0,01$ ),  $\gamma$ -аминомасляной кислоты ( $R = 0,27$ ,  $p = 0,05$ ), в обратной корреляционной зависимости с содержанием глутамин ( $R = -0,41$ ,  $p < 0,01$ ) метионина ( $R = -0,41$ ,  $p < 0,01$ ), что свидетельствует об выраженном дисбалансе аминокислотного фонда за счет гликогенных аминокислот по мере прогрессирования эстрогенового дефицита.

Нами исследована взаимосвязь между уровнем свободных аминокислот и показателями функционального состояния эндотелия, процессов перекисного окисления липидов и общей антиоксидантной активности, гормонального статуса у пациенток в постменопаузе.

Повышенная десквамация эндотелиальных клеток у женщин в постменопаузе приводит к угнетению транспорта глутамата, на что указывает статистически значимая положительная корреляционная связь между циркулирующими эндотелиальными клетками (ЦЭК) и уровнем глутаминовой кислоты ( $R=0,28$ ,  $p=0,04$ ) и отрицательная корреляционная связь – с уровнем глутамата ( $R=0,28$ ,  $p=0,006$ ).

В формировании многих патологических проявлений климакса у женщин с хирургической и естественной менопаузой большое значение имеет нарушение взаимодействия в системе перекисное окисление липидов (ПОЛ) - антиоксидантная активность (АОА) [6]. У пациенток с хирургической менопаузой выявлена отрицательная корреляционная зависимость между показателем S (светосумма хемилюминесценции) и концентрацией фосфоэтаноламина ( $R=-0,37$ ,  $p=0,04$ ), отвечающим за синтез фосфолипидов; между коэффициентом Z (антиоксидантная активность) и уровнями цистеиновой кислоты ( $R=-0,37$ ,  $p=0,04$ ) и фосфоэтаноламина ( $R=-0,41$ ,  $p=0,02$ ).

У женщин с естественной менопаузой установлена достоверная отрицательная корреляция между S и уровнем  $\alpha$ -аминоадипиновой кислоты ( $R=-0,53$ ,  $p=0,01$ ); положительная связь между S и уровнем карнитина ( $R=0,48$ ,  $p=0,03$ ), которые обладают анаболическим, антиоксидантным, гипохолестеринемическим и дезинтоксикационным действием, что указывает на адаптационную способность организма в условиях нерезко выраженного дефицита стероидов [1].

Статистически значимые положительные корреляционные связи отмечены между концентрациями эстрадиола и  $\alpha$ -аминоасляной кислоты ( $R=0,47$ ,  $p=0,01$ ), тирозином ( $R=0,37$ ,  $p=0,046$ ),  $\gamma$ -аминоасляной кислотой ( $R=0,37$ ,  $p=0,048$ ), валином ( $R=0,37$ ,  $p=0,01$ ), триптофаном ( $R=0,40$ ,  $p=0,03$ ), цистатионином ( $R=0,45$ ,  $p=0,01$ ), карнитином ( $R=0,45$ ,  $p=0,01$ ), что свидетельствует о развитии обменных нарушений при выраженном снижении эстрогенов [12, 14].

## Заключение

1. У женщин с естественной менопаузой отмечается незначительное снижение пула свободных аминокислот (аспарагина, серина, глутамата, треонина, цитрулина, аргинина, триптофана, фенилаланина и лейцина), что свидетельствует о неспецифической адаптационной реакции организма женщины к снижению уровня половых гормонов в результате возрастного угасания функции яичников.

2. У женщин с хирургическим выключением функции яичников в условиях резко выраженного дефицита половых стероидов отмечается аминокислотный дисбаланс, проявляющийся дефицитом дикарбоновых, ароматических, серосодержащих аминокислот, АРУЦ.

3. Выраженность аминокислотного дисбаланса зависит от типа менопаузы, уровня гипострогении, функционального состояния эндотелия и процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты, о чем свидетельствуют статистически значимые корреляционные связи между данными показателями.

## Литература

1. Березов, Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин. – М., 1998. – 750 с.
2. Березов, Т.Т. Изменения содержания таурина в плазме крови индуцируют дисбаланс пула нейрореактивных аминокислот и биогенных аминов в отделах головного мозга / Т.Т. Березов, Б.Ф. Коровкин // Биол. химия. – М., 1998. – 750 с.
3. Гараева, О.И. Серосодержащие аминокислоты как маркеры состояния стресса / О.И. Гараева // Buletinul ASM. Stiintele vietii, Fiziologia si Sanocreatologia. – 2011. – № 3. – С. 50–62.
4. Грицук, С.Ф. Синдром аминокислотного дисбаланса (энцефалопатия) и метаболическая дисфункция при критических состояниях в хирургии / С.Ф. Грицук, В.М. Безруков // Вестн. интенсив. терапии. – 2004. – № 2. – С. 10–13.
5. Дорошенко, Е.М. Методологические аспекты и трудности анализа свободных (физиологических) аминокислот и родственных соединений в биологических жидкостях и тканях / Е.М. Дорошенко // Аналитика РБ-2010 : сб. тез. Респ. науч. конф. по аналит. химии с междунар. участием, Минск, 14–15 мая 2010 г. – Минск, 2010. – С. 126.



6. Колбасова, Е.А. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной активности у женщин с менопаузальным синдромом Е.А. Колбасова // Репродуктив. Здоровье. Восточ. Европа. – 2013. – №1. – С. 37–47.
7. Колбасова, Е.А. Исследование циркулирующих эндотелиальных клеток у пациенток с хирургической и естественной менопаузой / Е.А. Колбасова, Н.И. Киселева, Л.В.Тихонова // Мать и дитя в Кузбассе. – 2013. – № 1. – С. 8–13.
8. Нефедов, Л.И. Механизмы регуляторных эффектов и стратегия использования аминокислот и их производных в качестве эффективных средств метаболической терапии и новых лекарственных препаратов / Л.И. Нефедов // Теория и практика медицины: Рец. науч.-практ. ежегодник. – Минск, 2000. – № 2. – С. 86–88.
9. Остроумова, О.Д. Старение и дисфункция эндотелия / О.Д.Остроумова, Р.Э. Дубинская // Кардиоваскуляр. терапия и профилактика. – 2004. – Т. 3, № 4. – С. 83–89.
10. Серосодержащие аминокислоты в диагностике, целенаправленном поддержании и формировании / В.К.Чокинэ [и др.] // Buletinul ASM. Stiintele vietii. – 2011. – №. 3 (315). – С. 15–35.
11. Современные представления об антиоксидантной роли глутатиона и глутатионзависимых ферментов / Е.В. Калинина [и др.] // Вестн. Рос. АМН. – 2010. – №3. – С. 56–64.
12. Фурдуй, Ф.И. Проблемы стресса и преждевременной биологической деградации человека. Санокреатология, их настоящее и будущее / Ф.И. Фурдуй //Соврем. проблемы физиологии и санокреатологии. – 2005. – С. 16–36.
13. Червяков, А.В. Нарушение молекулярной асимметрии аминокислот (d/l-энантимеры) при нормальном старении и нейродегенеративных заболеваниях / А.В. Червяков // Асимметрия. – 2010. – Т. 4, № 2. – С. 77–112.
14. D-amino acids in normal ageing and pathogenesis of neurodegenerative diseases / A.V. Chervyakov // Neurochemical Journal. – 2011. – Vol. 5, № 2. – P. 100–114.
15. Metabolism of Amino Acids in the Brain / M.N. Kurbat // Neurochemical Journal. – 2009. – Vol. 3, №1. – P. 23–28.

*Поступила 25.04.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

#### **Сведения об авторах:**

Колбасова Е.А. - аспирант кафедры акушерства и гинекологии УО «ВГМУ»;

Киселева Н.И. - д.м.н., профессор кафедры акушерства и гинекологии УО «ВГМУ»;

Дорошенко Е.М. - к.б.н., доцент кафедры биологической химии УО «ГрГМУ»;

Курбат М.Н. - к.м.н., зав. научно-исследовательской частью, доцент кафедры биологической химии УО «ГрГМУ»;

Новгородская Я.И. – стажер-младший научный сотрудник НИЛ УО «ГрГМУ».



## СИНДРОМ ВЕГЕТАТИВНЫХ ДИСФУНКЦИЙ КАК МАРКЕР АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ У ДЕТЕЙ

ДОМБЯЛОВА Э.С.\*, ИВАНОВА Л.Г.\*, БАРКУН Г.К.\*\*

УЗ «Витебская детская областная клиническая больница»\*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»\*\*

**Резюме.** Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 50 детей и подростков, находившихся на лечении в УЗ «Витебская детская областная клиническая больница» с диагнозом «синдром вегетативных дисфункций». Стационарное обследование и лечение позволило у 10 пациентов (20%) диагностировать СВД пубертатного периода, у 34 (68%) – НЦД. Диагноз артериальной гипертензии выставлен 5 пациентам (10% от числа обследованных).

**Ключевые слова:** дети, синдром вегетативных дисфункций, артериальная гипертензия.

**Abstract.** Complex clinical and laboratory investigation was conducted in 50 children and adolescents with the diagnosis of vegetative dysfunction syndrome who were treated in Vitebsk children regional hospital. Hospital examination and treatment enabled the diagnosis of vegetative dysfunction syndrome of puberty in 10 patients (20%) and neurocirculatory dysfunction in 34 cases (68%). The diagnosis of arterial hypertension was made in 5 patients (10% from all examined children).

**Key words:** children, vegetative dysfunction syndrome, arterial hypertension.

Синдром вегетативных дисфункций (СВД) и его проявления у детей и подростков вызывает большое количество вопросов, на которые предлагается множество ответов, причем не всегда однозначных. СВД не является самостоятельной нозологической единицей. Однако согласно МКБ (10 пересмотр) в классе «Болезни нервной системы» в блоке «Другие нарушения нервной системы» под кодом G 90.8 имеется определение – «Другие расстройства вегетативной нервной системы», что означает СВД. Вегетососудистая дистония не является самостоятельной нозо-

логической формой болезни. Это синдром, который может предшествовать развитию очень многих полигенно наследуемых психосоматических заболеваний [1].

Вегетативная дисфункция - состояние, определяемое нарушением вегетативной регуляции сердечно-сосудистой системы, внутренних органов, желез внутренней секреции, связанных с первичными или вторичными отклонениями в структуре и функции центральной и периферической нервной системы [2, 3, 4].

Вегетативные расстройства в регуляции органов и систем на ранних этапах носят функциональный характер, поэтому их следует расценивать как пограничное состояние или предболезнь. Практически все функциональные нарушения в организме по механизмам своего развития носят характер вегетативных, хотя не всегда в процесс

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра педиатрии. Тел.моб.: 8 (033) 613-97-17 – Баркун Галина Константиновна.

вовлекается сосудистый компонент. Это позволяет считать термин «синдром вегетативной дисфункции» более точным, чем термин «вегетососудистая дистония» [1, 2].

А.М. Вейн с соавт. предлагают выделять вегетативные нарушения по симпатикотоническому, ваготоническому и смешанному типу [5].

Клинические проявления СВД чаще носят характер генерализованных, реже локальных. Диагностика СВД – это сложный процесс, требующий комплексного подхода [6]. Применяются клинико-анатомические, функционально-диагностические и лабораторные методы обследования. Если нельзя обеспечить такую диагностику в амбулаторных условиях, целесообразно направить пациента в стационар для более углубленного обследования и лечения.

Целью данного исследования явилась оптимизация диагностики и лечения СВД как маркера артериальной гипертензии у детей.

### Методы

Проведено комплексное клинико-лабораторное обследование 50 детей и подростков, находившихся на стационарном лечении и обследовании в УЗ «Витебская детская областная клиническая больница» с диагнозом «синдром вегетативных дисфункций».

Согласно протоколам обследования детям проводились следующие диагностические тесты:

- сбор данных анамнеза;
- клиническое обследование по органам и системам;
- стандартные лабораторные методы (общий клинический анализ крови, общий анализ мочи, копрограмма, биохимический анализ крови липидный спектр, оценка состояния свертывающей системы крови, катехоламинов, уровня глюкозы крови);
- инструментальные методы исследования (ЭКГ, УЗИ сердца с доплером, УЗИ щитовидной железы, органов брюшной полости);

- индекс массы тела (ИМТ);
- кардиоинтервалография (КИГ);
- суточное мониторирование АД;
- реоэнцефалография (РЭГ);
- осмотр специалистов (невролога, эндокринолога, окулиста, отоларинголога).

При выявлении повышенного АД у ребенка при клиническом измерении проводилось ступенчатое обследование:

1 этап: трехкратное, с интервалом не менее 1 недели, подтверждение повышенного АД (среднее, по данным трех измерений);

2 этап проводился при подтверждении повышения АД. Проводилось выполнение суточного мониторирования артериального давления (СМАД);

3 этап проводился при подтверждении артериальной гипертензии (АГ) данными СМАД. Оценивалось состояние органов-мишеней, определялась категория риска.

Классификация уровня АД у детей и подростков проводилась согласно рекомендациям ВНОК и Ассоциации детских кардиологов России, 2003 г.

При оценке факторов риска АГ дети были разделены на 2 группы: с повышенным риском избыточного веса и с избыточным весом.

К 1 группе были отнесены дети, у которых возрастной ИМТ находился между 85-95 перцентильями. Это сопоставимо с категорией ИМТ от 25 до 29,9 у взрослых, то есть категорией избыточной массы тела.

Ко 2 группе были отнесены дети с ИМТ более 95 перцентилья. Эта категория сопоставима с ИМТ более 30% у взрослых, то есть с ожирением.

Статистический анализ результатов исследования был произведен с использованием аналитического пакета Statistica 6.0.

### Результаты и обсуждение

Нами обследовано 50 детей и подростков, находившихся на стационарном лечении в УЗ «Витебская детская областная клиническая больница» с диагнозом: синдром вегетативных дисфункций, из них 11-15 лет – 38 (76%), старше 15 лет – 12 (24%), 28 мальчиков и 22 девочки. При по-

ступлении жалобы носили как общий, так и местный характер. Чаще (70%) это была головная боль, головокружение, быстрая утомляемость, боли в сердце различного характера, возникающие как в покое, так и после физических нагрузок. У 15 детей (30%) отмечались боли в животе, тошнота, расстройства стула, приступы затрудненного дыхания после физической нагрузки.

Индекс массы тела (ИМТ) у 15 детей (30%) составил от 15,0 до 20,0; у 23 (46%) от 20,0 до 25,0; больше 25,0 - у 12 пациентов (24%). Проконсультированы неврологом - 26 человек, эндокринологом - 27, окулистом - 43, отоларингологом - 19.

С помощью кардиоинтервалографии (КИГ) определяли исходный вегетативный тонус (ИВТ) и вегетативную реактивность (ВР).

Симпатикотония выявлена у 27 (54%) пациентов, эйтония - 11 (22%), ваготония - у 9 (18%).

Симпатикотонический (нормальный) тип ВР зарегистрирован у 9 (18%), гиперсимпатикотонический - у 35 (70%), асимпатикотонический - у 2 (4%).

При электрокардиографии выявлены:

- Экстрасистолия - 5 (10%);
- Нарушение реполяризации желудочков - 2 (4%);
- Правопредсердный ритм - 3 (6%);
- Миграция источника ритма - 3 (6%);
- Укорочение PQ - 1 (2%);
- Синдром ранней реполяризации желудочков (СРРЖ) - 4 (8%);
- Внутриведсердная блокада - 1 (20%);
- Неполная блокада правой ножки пучка Гиса - 2 (4%);
- Атриовентрикулярная блокада - 1 (2%);
- Брадикардия - 1 (2%).

При ультразвуковом исследовании сердца:

- Дефект межпредсердной перегородки - 1 (2%);
- Дополнительная хорда левого желудочка - 7 (14%);
- Пропалс митрального клапана - 4 (8%).

При ультразвуковом исследовании щитовидной железы:

- Множественные кисты - 1 (2%);
- Узловой зоб - 1 (2%).

При ультразвуковом исследовании печени:

- Увеличение размеров - 1 (2%).

При ультразвуковом исследовании надпочечников, почек, мочевого пузыря, селезенки патологии не выявлено.

У 28 пациентов проведено суточное мониторирование АД. Нормальные значения показателей АД отмечены у 15 (30% от числа обследованных), у 5 (10%) - повышение показателей АД. Вариабельность показателей АД в ночное время на уровне верхних границ возрастной нормы, а днем незначительное повышение или верхние границы нормы - у 8 (28%).

Всем пациентам проводилось РЭГ, позволяющая диагностировать сосудистые нарушения со стороны ЦНС, выявлять зоны затрудненного венозного оттока оценивать тонус и эластичность сосудов. Повышенный тонус артериальных сосудов выявлен у 20% детей, затруднение венозного оттока - у 30%. При необходимости назначалось рентгенологическое обследование для выявления новообразований головного мозга, уточнения размеров сердца.

В общеклинических анализах патологии не выявлено, в биохимических исследованиях отмечалось повышение показателя холестерина у детей с артериальной гипертензией.

В результате проведенного обследования выставлен клинический диагноз:

- СВД пубертатного периода - 10 (20%) пациентов;
- НЦД - 34 (68%), в том числе гипертонический тип НЦД - у 25 (73,5%); гипотонический - у 5 (14,7%); кардиальный - у 4 (11,8%).

Госпитализация и обследование детей их в условиях стационара позволила у 35 пациентов (70%) выявить заболевания, которые ранее не были диагностированы:

- Малые аномалии развития сердца - 12 (24%);

- Алиментарное ожирение – 5 (10%);
- Гипоталамический синдром – 4 (8%);
- Патология желудочно-кишечного тракта – 6 (12%);
- Синдром Жильбера – 1 (2%);
- Гипотиреоз – 2 (4%);
- Хронический тонзиллит – 5 (10%).

Диагноз артериальной гипертензии выставлен 5 пациентам (10% от числа обследованных). Трое из них имели избыточную массу тела (ИМТ >25,0), у двоих ИМТ >20,0. У 4 из 5 детей с артериальной гипертензией отмечалась наследственная предрасположенность.

При назначении лечения учитывались этиологические факторы, исходный вегетативный тонус и реактивность, вегетативное обеспечение функций, клинические вегетативные синдромы. Длительность лечения составляла от 12 до 15 койко-дней.

Полученные результаты согласуются с данными литературы и свидетельствуют о том, что СВД у детей и подростков – это полиэтиологическое по своему генезу пограничное состояние, отмечающееся исключительной гетерогенностью [2, 3, 5]. В каждом конкретном случае необходим коллегиальный подход с участием педиатров, кардиологов, невропатологов, эндокринологов, психотерапевтов и других специалистов.

Детям с СВД показано диспансерное наблюдение на педиатрическом участке, так как после выписки из стационара регуляторные и морфофункциональные нарушения ликвидируются не в полной мере, что требует дальнейшей медицинской реабилитации. Врачам-педиатрам в течение диспансерного наблюдения необходимо проводить контроль режима дня, адекватной физической активности, коррекции всех выявленных отклонений. Особое внимание необходимо обратить на детей с гипертоническим типом НЦД, так как в последние десятилетия стремительно уве-

личивается доля лиц, страдающих артериальной гипертензией в молодом возрасте [2]. Своевременное выявление проблем сердечно-сосудистой патологии в детском и подростковом возрасте, их коррекция имеют первостепенное значение в перспективе улучшения состояния здоровья взрослого населения.

### Заключение

Таким образом, стационарное обследование и лечение позволило у 10 пациентов (20%) диагностировать СВД пубертатного периода, варианты и направленность СВД, у 34 (68%) – НЦД, преимущественную локализацию дисфункции, назначить адекватную терапию и улучшить самочувствие пациентов.

Диагноз артериальной гипертензии выставлен 5 пациентам (10% от числа обследованных), что позволило считать СВД маркером артериальной гипертензии, а детей с диагностированной патологией – своевременно поставить на диспансерный учет для проведения комплекса реабилитационных мероприятий.

### Литература

1. Синдром вегетативной дисфункции у детей и подростков. Методические рекомендации. – Красноярск, 2010. – 39 с.
2. Беляева, Л.М. Педиатрия. Курс лекций / Л.М. Беляева. – М., Медицинская литература. – 2011. – С. 220-235.
3. Беляева, Л.М. Артериальные гипертензии у детей и подростков / Л.М. Беляева. – Мн., Белорусская наука. – 2006. – 160 с.
4. Белоконь, Н.А. Болезни сердца и сосудов у детей: в 2 т. / Н.А. Белоконь, Б. Кубергер. – М., 1987. – 380 с.
5. Вейн, А.М. Болезни вегетативной нервной системы / А.М. Вейн. – М., 1999. – 457 с.
6. Шабалов, Н.П. Детские болезни: в 2 т. / Н.П. Шабалов. – 2004.

*Поступила 17.06.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

### Сведения об авторах:

Домбьялова Э.С. - к.м.н., врач функциональной диагностики УЗ «ВДОКБ»;

Иванова Л. Г. - врач-кардиолог, зам. главного врача УЗ «ВДОКБ»;

Баркун Г.К. - к.м.н., доцент кафедры педиатрии УО «ВГМУ».

© ТРИХЛЕБ В.И., 2013

## ЛАБОРАТОРНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ У БОЛЬНЫХ МАЛЯРИЕЙ

ТРИХЛЕБ В.И.

*Главный военно-медицинский клинический центр «ГВКГ», г. Киев, Украина*

**Резюме.** В статье приведены данные обзора литературы по лабораторным показателям у больных малярией и анализа историй болезней больных малярией из числа военнослужащих-миротворцев.

*Ключевые слова:* малярия, лейкоциты, эритроциты, гемоглобин, уровень паразитемии.

**Abstract.** The paper presents literature review data regarding laboratory parameters in patients with malaria as well as data analysis of case histories of malaria patients among military peacemakers.

*Key words:* malaria, white blood cells, red blood cells, hemoglobin, level of parasitemia.

**М**алярия остается актуальной проблемой в европейских странах в связи с тем, что ежегодно в них регистрируются завозные случаи болезни. В подавляющем большинстве завозится трехдневная (*P. vivax*) малярия, но по годам разновидность возбудителей завозной малярии может варьировать и зависит от страны пребывания.

Малярия актуальна также тем, что из европейских стран, в т.ч. из Украины, военнослужащие - миротворцы направляются в эндемичные страны для выполнения различных задач. Находясь в командировке, они оказываются в условиях с различным риском инфицирования. Учитывая ограниченные диагностические возможности в отношении малярии в командировке и разнообразные клинические проявления болезни, периодически возникают ошибки

при постановке диагноза. Известно, что редкие случаи заболеваний всегда трудны для диагностики. Проблемы в диагностике обратно пропорциональны встречаемости патологии. Поэтому следует поддерживать заинтересованность врачей и лаборантов в диагностике редких «экзотических» болезней.

На выявление возбудителей, постановку диагноза влияет профессиональная подготовка врачей-клиницистов, врачей-лаборантов, качество подготовленных мазков и технические характеристики имеющихся микроскопов, наличие альтернативных методов диагностики, развитие у больного первичной малярии или рецидивов, обострение сопутствующих заболеваний, осложнений, которые развились на момент осмотра врачом, применение химиофилактических или антибактериальных препаратов и др.

В диагностике малярии микроскопия остается «золотым» стандартом. Но в связи с тем, что подавляющее число лаборантов в странах Европы, в том числе в Украине, редко встречаются в своей практике с вы-

---

**Адрес для корреспонденции:** 01133, Украина, Киев, ул. Госпитальная, 18, Главный военный клинический госпиталь Министерства обороны Украины, клиника инфекционных болезней. 8 (044) 529-70-95, 269-70-95 – Трихлеб Владимир Иванович.

явлением плазмодиев, существуют ошибки в диагностике малярии (гипер- или гиподиагностика). Правильный микроскопический диагноз может быть затруднен в связи с низкой паразитемией, а также при микст-инфекциях, нерегулярном приеме пациентами противомалярийных химио-профилактических препаратов и антибиотиков (азитромицина, кларитромицина, доксицилина и др.), которые влияют на форму и количество плазмодиев и при наличии др. причин. При микст-инфекции слишком часто выявляется только один возбудитель, что особенно характерно при низком уровне паразитемии [1, 2]. Поэтому даже высококвалифицированные лаборанты должны тщательно подходить к микроскопическому обследованию и осторожно к выводам по поводу результатов обследования.

Диагностика малярии, основанная на использовании микроскопического метода, достаточно длительна и часто дает ложные результаты в неспециализированных лабораториях. В то же время и в высокоспециализированных лабораториях бывают случаи пропуска малярии в связи с низким уровнем паразитемии, особенно у лиц, принимавших химио-профилактические препараты [3, 4].

Известно, что метод «толстой» капли крови в 10 раз более чувствителен для постановки диагноза, чем использование «тонких» мазков. Минимальная концентрация паразитов, которая может быть выявлена при обследовании «толстой» капли крови, называется порогом обнаружения. При режиме, рекомендуемом ВОЗ для массовых исследований (просмотр 100 полей зрения «толстой» капли или 0,2 мкл крови), он составляет 5 паразитов в 1 мкл. Высококвалифицированный лаборант при помощи микроскопии может обнаружить возбудителей при уровне паразитемии 5-10 паразитов в 1 мкл крови [5]. Фактически возбудители выявляются при уровне паразитемии 100 паразитов в 1 мкл крови [6, 7]. Недостатками микроскопии являются: значительная затрата времени на просмотр мазка - около 60 минут; не-

обходимость наличия высококвалифицированных специалистов-лаборантов; частое отсутствие возбудителей в периферической крови; при микст-инфекциях, когда один возбудитель подавляет развитие другого, затруднен поиск других возбудителей, уровень паразитемии которых очень малый [1, 2, 8]. Ложноотрицательные или ложноположительные результаты встречаются в 10-13,2% и в 24,3% случаев. Несоответствие клиники и лабораторных показателей наблюдается в 13,7% случаев. На качество диагностики оказывает влияние наличие в крови вегетативных форм и гаметоцитов. Было установлено, что у тех пациентов, у которых в крови выявлялись гаметоциты, в большем количестве присутствовали и вегетативные формы. Гаметоциты практически не обнаруживаются без вегетативных форм. Ложноположительные результаты могут быть связаны с ошибочно принимаемыми за плазмодий тромбоцитами, фрагментами эритроцитов, элементами краски.

С учетом этого разрабатываются другие альтернативные методы исследований - «быстрые» тесты, PCR и др. К сожалению, данные методики в Украине не доступны, поэтому врачам приходится полагаться на свою интуицию и опыт при получении различных лабораторных данных, которые противоречат клинической картине и эпидемиологическому анамнезу. Современные PCR и другие методики могут стать доступными для широкого использования только в будущем.

В настоящее время срочно требуется оснащение лабораторий доброкачественными красками, лабораторным стеклом, современными микроскопами, ежегодное проведение обучающих занятий с врачами - лаборантами и лечащими врачами по диагностике тропических инфекций, создание кабинетов или центров тропических инфекций. В диагностике данных заболеваний врачам необходимо учитывать не только результаты лабораторных исследований, но также не забывать об эпидемиологическом анамнезе, анамнезе заболевания и объективных данных.

Отдельный вопрос - организация диагностики и лечения малярии у моряков, миротворцев, летного состава, работников или туристов, выезжающих за границу. Для данных групп людей необходима консультативная помощь перед отбытием в эндемическую страну, наличие «быстрых» тестов, наличие у них современных препаратов для профилактики и экстренного лечения малярии (мефлохина, препаратов артемизина, современных комбинированных препаратов и др.). В тех случаях, когда проведение лабораторной диагностики бывает затруднено, самолечение часто - первая и быстрая реакция при подозрении на малярию.

Известно, что чем больше уровень паразитемии в периферической крови, тем больше вероятность наличия или развития тяжелых осложнений. В то же время, тяжелое (крайне тяжелое) состояние может развиться и при низком уровне паразитемии. При первых приступах болезни с лихорадкой у неиммунных лиц в периферической крови может и не быть возбудителей малярии, т.к. уровень паразитемии крайне мал. Минимальная концентрация паразитов, которая способна вызвать лихорадку, зависит от индивидуальных особенностей организма. При наличии в крови паразитемии со временем «пирогенный порог» повышается, человек перестает реагировать на такие концентрации, которые поначалу вызывали яркие клинические проявления. При первичной инфекции «пирогенный порог» может составлять от нескольких паразитов до нескольких десятков в 1 мкл, а у частично иммунного человека может достигать нескольких тысяч паразитов в 1 мкл. Известно, что «пирогенный порог» более высокий при малярии, вызванной *P.falciparum*, чем при *P.vivax*. По данным некоторых авторов, у неиммунных лиц при тропической малярии он достигает 1900-10700/мкл. У лиц, постоянно живущих в эндемичных странах, наблюдается носительство паразитов без наличия лихорадки при уровне паразитемии 5000-10000/мкл [9]. По данным Ingrid van den Broek с соавт. (2006 г.), у пациентов, име-

ющих клинические симптомы малярии, средний уровень паразитемии при двух разновидностях возбудителей (*P.vivax* и *P.falciparum*) был 2300/мкл. В то же время по данным других исследователей, на которые ссылаются авторы, уровень паразитемии при малярии, вызванной *P.vivax*, достигал 20000, для *P. falciparum* 20000-500000/мкл. Примерно у 40% пациентов, имеющих *P.falciparum*, и 38% пациентов с *P.vivax* уровень паразитемии был ниже 2000/мкл и примерно у 20-25% пациентов не достигал 500/мкл [10]. В связи с повышением «пирогенного порога» у части больных при тропической малярии может наблюдаться субпатентная или патентная паразитемия без заметных клинических проявлений. Встречались случаи, когда диагноз малярии был установлен только на аутопсии. Следует помнить, что уровень паразитемии в периферической крови может изменяться очень быстро. Поэтому важно при установлении диагноза (при наличии признаков болезни, подозрении на нее), при проведении лечения в течение первых 2-3 суток, необходимо контролировать уровень паразитемии через каждые 4-6 часов.

Прогностическая ценность результатов микроскопии основывается на установлении помимо уровня паразитемии также и стадии развития паразитов. При наличии в периферической крови более 50% маленькой кольцевой стадии возбудителя (диаметр ядра менее 50% диаметра окружности цитоплазмы) прогноз относительно хороший. Если в крови более 20% паразитов находятся на стадии зрелых трофозоитов или шизонтов, прогноз относительно плохой.

Существенные различия в уровне лейкоцитов в общем анализе крови у пациентов с малярией, вызванной различными видами возбудителя, практически отсутствуют, в среднем количество лейкоцитов составляет  $6,41 \pm 2,67 \times 10^9/\text{л}$ . Нейтрофилез наблюдается преимущественно при тропической (*P.falciparum*) и при микст-малярии. В течение первых 2-х суток лихорадки количество нейтрофилов увеличивается



с последующим их снижением. Количество лимфоцитов в среднем составляет  $25,6 \pm 13,33\%$ , причем при микст-малярии их количество значительно ниже, при тропической же малярии наоборот выше. Относительный моноцитоз наблюдается при малярии *P. vivax*. Количество эозинофилов остается на уровне нормальных цифр, но при тропической и микст-инфекциях несколько ниже по сравнению с другими видами малярии. Количество тромбоцитов при *P. vivax* и микст-малярии ниже, чем при тропической [11, 12, 13].

У умерших пациентов с тяжелой тропической малярией имели место более высокие показатели содержания нейтрофилов, моноцитов, в том числе содержащих в себе малярийный пигмент до начала лечения по сравнению с выжившими. Исследователи сделали вывод, что, если в крови у больных содержится 5% и более нейтрофилов, содержащих малярийный пигмент, возможно развитие летального исхода с чувствительностью 73% и специфичностью 77%. В то же время при уровне паразитемии  $> 100000/\text{мкл}$  возможно развитие летального исхода - с чувствительностью 60% и специфичностью 57% [14]. Кроме того, наличие малярийного пигмента в полиморфно-ядерных лейкоцитах (нейтрофилах) является дополнительным фактором для установления диагноза малярии, особенно у детей с анемией и у тяжелобольных даже при отсутствии или низкой паразитемии.

У пациентов с тяжелой малярией наблюдается нормоцитарная анемия со значительным снижением уровня гемоглобина ( $< 40$  г/л), тромбоцитопения ( $< 100000/\text{мкл}$ ), может регистрироваться лейкоцитоз. По данным К. Maitland с соавт. (2003 г.) в эндемичных странах тяжелая анемия (гемоглобин  $< 50$  г/л) более характерна для детей младше 2 лет [15]. Летальность, достигающая 21%, также регистрируется чаще у детей с тяжелой анемией. В то же время не все дети с тяжелой анемией госпитализировались в ОРИТ для переливания крови. У детей, у которых гемоглобин был ниже 50 г/л, но отсутствовал респи-

раторный дистресс-синдром, летальность была значительно ниже (5,2%). Летальным исходам способствовали многие другие факторы [16]. Для детей младше 5 лет по сравнению с более старшими детьми были характерны более низкие показатели гемоглобина и глюкозы крови, при более высоком уровне паразитемии. У 51,3% пациентов уровень паразитемии не достигал  $20000/\text{мкл}$  и только у 7% детей превышал  $100000/\text{мкл}$  [17]. У африканских детей анемия является частым проявлением болезни. В то же время при низкой паразитемии, может наблюдаться значительное содержание пигмента в моноцитах и других фагоцитах. При этом скорость развития и уровень анемии зависят от уровня и продолжительности паразитемии.

Цель исследования – провести анализ лабораторных показателей у больных малярией из числа военнослужащих-миротворцев на фоне химиопрофилактики.

## Методы

Проведен анализ некоторых лабораторных показателей у пациентов с малярией из числа военнослужащих – миротворцев.

## Результаты и обсуждение

Было проанализировано 173 истории болезни пациентов с малярией легкой степени тяжести и 102 истории болезни пациентов со среднетяжелым течением заболевания, лечившихся от малярии в медицинской роте при нахождении в эндемичной стране. Все пациенты получали химиопрофилактические препараты (мефлохин или фансидар).

При поступлении в стационар проводилась дифференциальная диагностика малярии с острыми респираторными заболеваниями. Общее количество лейкоцитов в общем анализе крови у пациентов с малярией составило  $6,7 \pm 0,06 \times 10^9/\text{л}$  (мин - 3,8, макс - 13,0): при легкой степени -  $6,8 \pm 0,07 \times 10^9/\text{л}$  (мин - 4,3, макс - 13,0), при средней тяжести -  $6,4 \pm 0,12 \times 10^9/\text{л}$  (мин - 3,8, макс - 9,3). Средний показатель гемоглоби-

на был  $128,4 \pm 0,8$  г/л (мин - 85, макс - 157), при легком течении заболевания -  $127 \pm 1,02$  г/л (мин - 90, макс - 157), при среднетяжелом -  $130,38 \pm 1,3$  г/л (мин - 85, макс - 146). Среднее количество эритроцитов составило  $4,05 \pm 0,02 \times 10^{12}/л$  (мин - 2,7, макс - 5,3). У пациентов с легким течением заболевания -  $4,04 \pm 0,03 \times 10^{12}/л$  (мин - 2,97, макс - 5,32), при средней тяжести -  $4,08 \pm 0,04 \times 10^{12}/л$  (мин - 2,8, макс - 4,8).

Некоторые показатели общего анализа крови в зависимости от срока поступления в стационар у пациентов с малярией представлены в таблице 1.

Из представленных в таблице данных видно, что при легком течении существенных изменений в общем анализе крови у пациентов, госпитализированных в разные сроки болезни, не было. В то же время у больных со среднетяжелым течением заболевания, поступивших на лечение позднее 5 суток, анемия легкой степени.

Показатели анализа крови в зависимости от кратности заболеваний малярией и срока лечения представлены ниже.

До назначения лечения количество лейкоцитов у 102 пациентов с легким течением малярии и первичной атакой болезни было  $6,8 \pm 0,49 \times 10^9/л$  (мин -  $3,6 \times 10^9/л$ , макс -  $8,4 \times 10^9/л$ ), у 71 пациента с легким течением повторной малярии -  $6,7 \pm 0,1 \times 10^9/л$  (мин -  $3,4 \times 10^9/л$ , макс -  $11,2 \times 10^9/л$ ), у 53 пациентов при средней тяжести заболевания и первичной атаке -  $6,6 \pm 0,15 \times 10^9/л$  (мин -  $3,9 \times 10^9/л$ , макс -  $9,7 \times 10^9/л$ ), у 49 пациентов с повторной малярией -  $6,4 \pm 0,23 \times 10^9/л$  (мин -  $4,1 \times 10^9/л$ , макс -  $11,6 \times 10^9/л$ ). Количество лейкоцитов у 89 пациентов с первичной атакой малярии при легком течении заболевания на 5 сутки пребывания в стационаре составило  $5,9 \pm 0,06 \times 10^9/л$  (мин -  $4,0 \times 10^9/л$ , макс -  $7,8 \times 10^9/л$ ), у 69 пациентов при легком течении повторной малярии -  $6,07 \pm 0,06 \times 10^9/л$  (мин -  $4,4 \times 10^9/л$ , макс

Таблица 1

**Некоторые показатели общего анализа крови у пациентов с малярией в зависимости от срока госпитализации и тяжести заболевания**

День болезни	Количество пациентов	Малярия легкой тяжести				Количество пациентов	Малярия средней тяжести			
		Лейкоциты, $10^9/л$	Эритроциты, $10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Уровень паразитемии (количество +)		Лейкоциты, $10^9/л$	Эритроциты, $10^{12}/л$	Гемоглобин, г/л	Уровень паразитемии (количество +)
1	63	$7,06 \pm 0,1$	$4,07 \pm 0,05$	$127,9 \pm 1,6$	$1,5 \pm 0,07$	54	$6,3 \pm 0,15$	$4,14 \pm 0,04$	$132,4 \pm 1,68$	$1,2 \pm 0,07$
2	49	$6,8 \pm 0,16$	$4,04 \pm 0,06$	$127 \pm 1,78$	$1,4 \pm 0,07$	19	$6,58 \pm 0,3$	$4,16 \pm 0,08$	$132,2 \pm 2,8$	$1,5 \pm 0,2$
3	38	$6,8 \pm 0,12$	$3,9 \pm 0,07$	$123 \pm 2,7$	$1,3 \pm 0,07$	15	$6,7 \pm 0,31$	$4,0 \pm 0,13$	$128,5 \pm 5,01$	$1,4 \pm 0,2$
4	7	$6,46 \pm 0,2$	$4,2 \pm 0,1$	$135,3 \pm 4,4$	$1,4 \pm 0,2$	7	$6,97 \pm 0,5$	$4,18 \pm 0,09$	$132,3 \pm 3,4$	$1,57 \pm 0,37$
5	1	7,1	3,6	110	1	1	7,0	3,7	125	1
>5	15	$6,8 \pm 0,3$	$4,07 \pm 0,1$	$128,6 \pm 3,4$	$1,5 \pm 0,17$	6	$6,9 \pm 0,36$	$3,5 \pm 0,19$	$110 \pm 6,4$	$1,7 \pm 0,33$

-  $8,3 \times 10^9/\text{л}$ ). У 51 пациента при средней тяжести и первичной атаке малярии количество лейкоцитов было  $6,07 \pm 0,21 \times 10^9/\text{л}$  (мин -  $4,5 \times 10^9/\text{л}$ , макс -  $8,8 \times 10^9/\text{л}$ ), у 49 пациентов больных средней тяжести повторной малярии -  $6,2 \pm 0,24 \times 10^9/\text{л}$  (мин -  $4,7 \times 10^9/\text{л}$ , макс -  $7,0 \times 10^9/\text{л}$ ). У 27 пациентов при легком течении первичной атаки малярии на 15 сутки пребывания в стационаре количество лейкоцитов было  $5,9 \pm 0,09 \times 10^9/\text{л}$  (мин -  $5,4 \times 10^9/\text{л}$ , макс -  $6,8 \times 10^9/\text{л}$ ), у 18 пациентов с легким течением повторной малярии -  $5,9 \pm 0,2 \times 10^9/\text{л}$  (мин -  $5,4 \times 10^9/\text{л}$ , макс -  $7,0 \times 10^9/\text{л}$ ). У 24 пациентов при средней тяжести первичной малярии количество лейкоцитов было  $6,4 \pm 0,29 \times 10^9/\text{л}$  (мин -  $4,6 \times 10^9/\text{л}$ , макс -  $9,1 \times 10^9/\text{л}$ ), у 15 пациентов при средней тяжести повторной малярии -  $6,3 \pm 0,19 \times 10^9/\text{л}$  (мин -  $5,8 \times 10^9/\text{л}$ , макс -  $6,9 \times 10^9/\text{л}$ ).

При поступлении в стационар количество эритроцитов у 102 пациентов с легким течением первичной атаки малярии было  $4,08 \pm 0,039 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $2,98 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $5,58 \times 10^{12}/\text{л}$ ), у 71 пациента с повторной малярией -  $4,12 \pm 0,04 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $2,89 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $6,4 \times 10^{12}/\text{л}$ ), у 53 пациента при средней тяжести  $4,07 \pm 0,05 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $2,85 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $5,0 \times 10^{12}/\text{л}$ ), у 49 пациентов с повторной малярией -  $4,08 \pm 0,05 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $3,3 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $4,8 \times 10^{12}/\text{л}$ ). Количество эритроцитов у 89 пациентов с легким течением первичной атаки малярии на 5 сутки пребывания в стационаре было  $4,03 \pm 0,037 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $3,1 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $4,7 \times 10^{12}/\text{л}$ ), у 69 пациентов с легким течением повторной малярии -  $4,19 \pm 0,04 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $3,3 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $5,4 \times 10^{12}/\text{л}$ ). У 51 пациента при среднетяжелом течении первичной атаки заболевания -  $3,9 \pm 0,11 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $2,9 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $4,8 \times 10^{12}/\text{л}$ ), у 49 пациентов при средней тяжести повторной малярии -  $4,01 \pm 0,15 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $3,4 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $4,6 \times 10^{12}/\text{л}$ ). У 27 пациентов при легком течении заболевании и первичной атаке малярии на 15 сутки пребывания в стационаре количество эритроцитов было  $4,06 \pm 0,08 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $3,4 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $4,6 \times 10^{12}/\text{л}$ ), у 18 пациентов с повторной малярией -  $3,95 \pm 0,11 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин

-  $3,6 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $4,4 \times 10^{12}/\text{л}$ ). У 24 пациентов при средней тяжести первичной малярии -  $3,9 \pm 0,12 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $2,8 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $4,4 \times 10^{12}/\text{л}$ ), у 15 пациентов со среднетяжелым течением повторной малярии -  $4,0 \pm 0,19 \times 10^{12}/\text{л}$  (мин -  $3,6 \times 10^{12}/\text{л}$ , макс -  $4,6 \times 10^{12}/\text{л}$ ).

Уровень гемоглобина при поступлении в стационар у 102 пациентов при легком течении и первичной атаке малярии был  $127 \pm 1,22$  г/л, (мин - 90 г/л, макс - 165 г/л), у 71 пациента с повторной малярией -  $129 \pm 1,06$  г/л, (мин - 85 г/л, макс - 146 г/л), у 53 пациентов при среднетяжелом течении первичной атаки заболевания -  $132,01 \pm 1,7$  г/л (мин - 90 г/л, макс - 160 г/л), у 49 пациентов при повторной малярии -  $133,98 \pm 1,48$  г/л (мин - 100 г/л, макс - 145 г/л). Уровень гемоглобина у 89 пациентов малярией при легком течении и первичной атаке малярии на 5 сутки пребывания в стационаре был  $126 \pm 1,26$  г/л (мин - 88 г/л, макс - 98 г/л), у 69 пациентов с повторной малярией -  $130,4 \pm 1,14$  г/л (мин - 102 г/л, макс - 145 г/л). У 51 пациента при среднетяжелом течении первичной атаки заболевания уровень гемоглобина составил  $126,2 \pm 3,4$  г/л (мин - 92 г/л, макс - 155 г/л), у 49 пациентов при средней тяжести повторной малярии -  $124,8 \pm 4,8$  г/л (мин - 105 г/л, макс - 142 г/л). У 27 пациентов при легком течении и первичной атаке малярии на 15 сутки пребывания в стационаре уровень гемоглобина составил  $128,7 \pm 2,7$  г/л (мин - 107 г/л, макс - 145 г/л), у 18 пациентов при легком течении повторной малярии -  $122,7 \pm 4,2$  г/л (мин - 110 г/л, макс - 142 г/л). У 24 пациентов при средней тяжести первичной малярии был равен  $126,1 \pm 4,5$  г/л (мин - 85 г/л, макс - 144 г/л), у 15 пациентов при средней тяжести повторной малярии -  $123 \pm 5,7$  г/л (мин - 110 г/л, макс - 140 г/л).

С целью раннего выявления больных малярией или лиц, находящихся в инкубационном периоде, сразу по прибытии в Украину медицинской службой проводится опрос миротворцев, лабораторное обследование (общий и биохимические анализы крови, специфические исследования - «толстая капля» и тонкие мазки и др.).

С целью изучения эпидемиологического анамнеза был собран анамнез у 281 военнослужащего и проанализировано течение болезни во время их госпитализации в Украине при выявлении малярийного плазмодия в крови.

Военнослужащие, прибывшие в Украину из эндемичных очагов, сразу же после возвращения были обследованы с целью выявления малярийных плазмодиев в крови. Малярийный плазмодий был обнаружен у 77 человек, что составляет 27,4% от общего количества обследованных. Распределение пациентов по срокам

выявления плазмодиев после перенесенной малярии представлено на рисунке 1.

Как видно из представленного рисунка, положительные результаты получены у лиц, которые переболели малярией в течение последних 3-х месяцев пребывания в командировке.

На рисунке 2 представлены данные по количеству лиц, у которых при обследовании в Украине не выявили плазмодии малярии в зависимости от последнего заболевания в командировке.

Как видно из рисунка 2, больше всего отрицательные результаты были получены

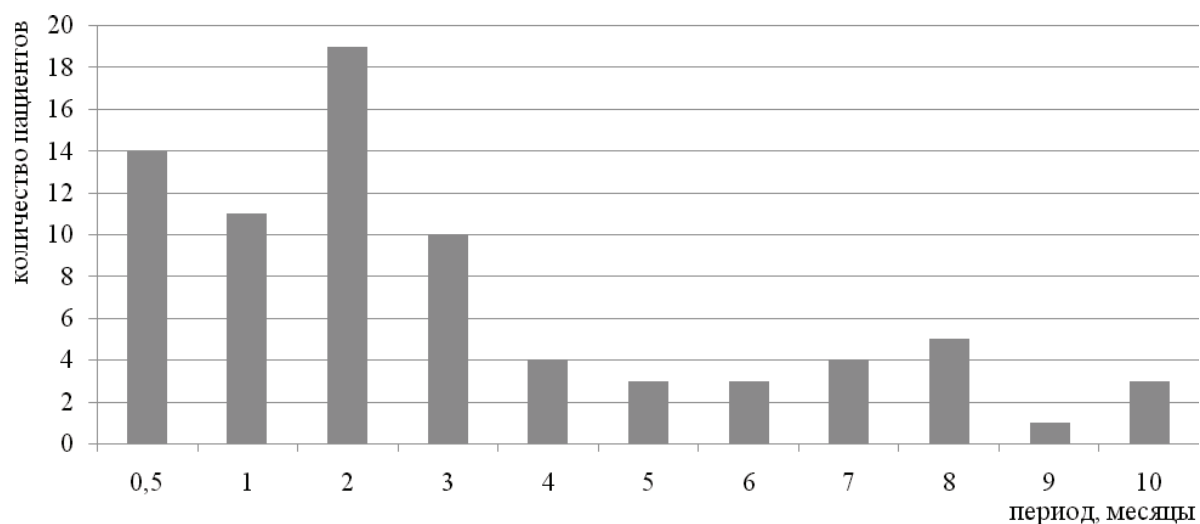


Рис. 1. Период от последнего заболевания малярией до момента выявления малярийных плазмодиев при плановом обследовании после прибытия в Украину.

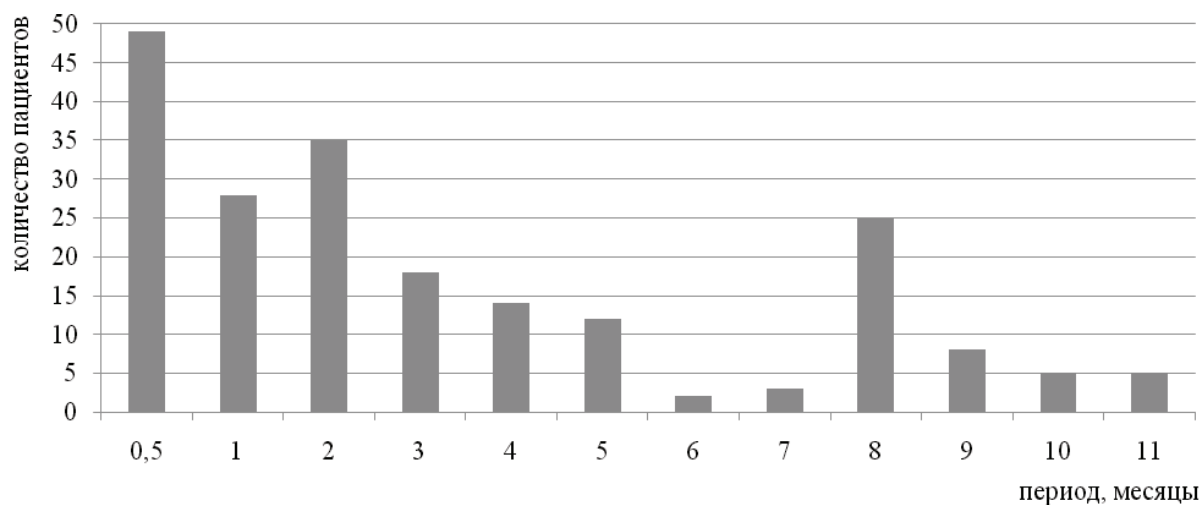


Рис. 2. Период от последнего заболевания малярией до момента обследования после прибытия в Украину при получении отрицательных результатов.

у лиц, которые переболели малярией в течение 2-х месяцев до прибытия в Украину. Общая численность данной группы больных - 204, что составляет 72,6% от общего количества обследованных.

Как показал анализ, военнослужащие болели малярией в подавляющем большинстве случаев в течение 3 месяцев до прибытия в Украину, что в эндемичной стране соответствовало периоду дождей.

Как видно из представленной таблицы 2, в зависимости от времени после перенесенной болезни наблюдаются колебания положительных результатов обследования в пределах от 11,1% до 60%. При нахождении в эндемичной стране в период дождей и при обследовании в первые три месяца после перенесенной малярии, когда вероятность рецидива максимальная, процент

положительных анализов колеблется в пределах от 22,2 до 35,2%.

На рисунке 3 представлены данные, отражающие уровень паразитемии в зависимости от кратности заболеваний малярией.

Как показал анализ, среднее паразитарное число у «паразитоносителей» военнослужащих-миротворцев (больных с субклинической формой малярии), получавших химиопрофилактику и переболевших малярией во время нахождения в командировке было следующим: у лиц, переболевших 1 раз - 607, 2 раза - 480, 3 раза - 357, 4 раза - 412 паразитов в 1 мкл крови. У военнослужащих, получавших химиофилактику и не болевших малярией при нахождении в командировке и не имеющих клинических проявлений при обследовании в Украине, уровень парази-

Таблица 2

**Результаты лабораторного обследования в зависимости от срока последнего заболевания малярией в эндемичной стране до обследования в Украине**

Результаты обследования на малярию	Сроки обследования после заболевания малярией, месяцы											
	0,5 n=63	1 n=39	2 n=54	3 n=28	4 n=18	5 n=15	6 n=5	7 n=7	8 n=30	9 n=9	10 n=8	11 n=5
Положит. (абс)	14	11	19	10	4	3	3	4	5	1	3	
Положит. (%)	22,2	28,2	35,2	35,7	22,2	20	60	57,1	16,7	11,1	37,5	
Отрицат. (абс)	49	28	35	18	14	12	2	3	25	8	5	5
Отрицат. (%)	77,8	71,8	64,8	64,3	77,8	80	40	42,9	83,3	88,9	62,5	100

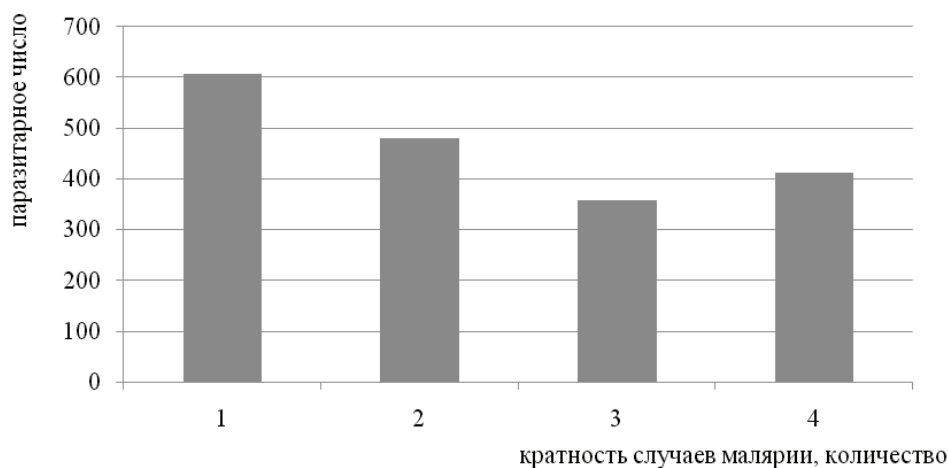


Рис. 3. Среднее паразитарное число у «паразитоносителей» (больных субклинической малярией) на фоне химиофилактики в зависимости от кратности случаев перенесенной малярии.

темии составил 638 паразитов в 1 мкл. А у тех, у кого после возвращения была диагностирована тропическая малярия в легкой форме, – 780 паразитов в 1 мкл крови.

На рисунках 4 и 5 представлены данные по уровню паразитемии у реконвалесцентов в различные временные периоды после перенесенной малярии в зависимости от используемых при лечении противомаларийных препаратов.

Как видно из представленных данных, у тех пациентов, в лечении которых использовались схемы терапии, включающие артезунаат, уровни паразитемии были ниже, чем у тех, кому при лечении использовали хинин и доксициклин. У лиц, переболевших

малярией и пролеченных хинином с доксициклином, в зависимости от срока обследования средний показатель паразитарного числа составил: через 0,5 мес – 663 паразита в 1 мкл, через 1 мес - 575, через 2 мес - 900, через 4 мес - 2800, через 5 мес - 393, через 7 мес – 350 паразитов в 1 мкл. Данный показатель у лиц, пролеченных артезунаатом составил: через 0,5 мес - 396 паразитов в 1 мкл, через 1 мес - 475, через 2 мес - 400, через 3 мес - 310, через 4 мес - 350.

Далее представлены данные в отношении стадий развития возбудителей малярии, выявленных при обследовании у больных сразу после прибытия в Украину (рис. 6).

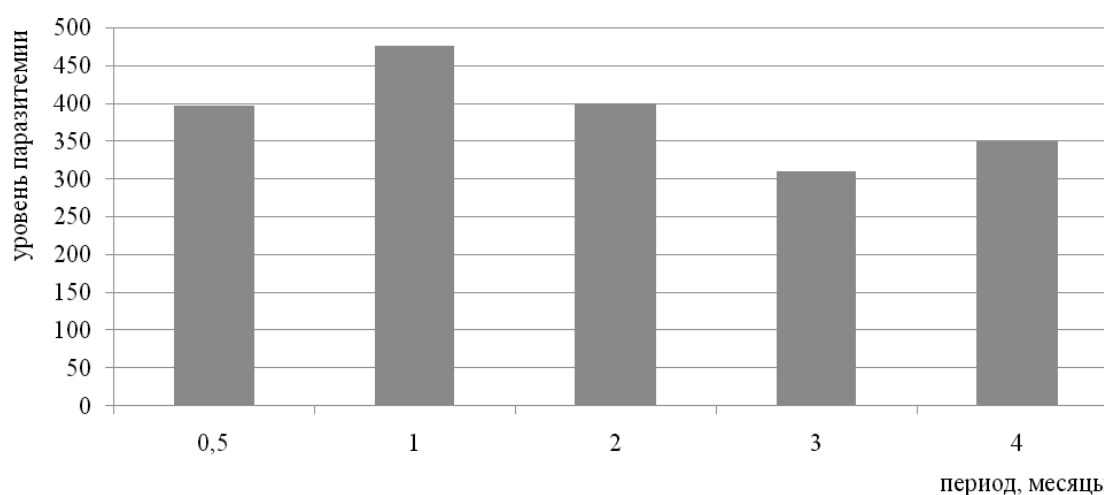


Рис. 4. Уровень паразитемии у реконвалесцентов малярии при их обследовании в Украине, в лечении которых применяли артезунаат.

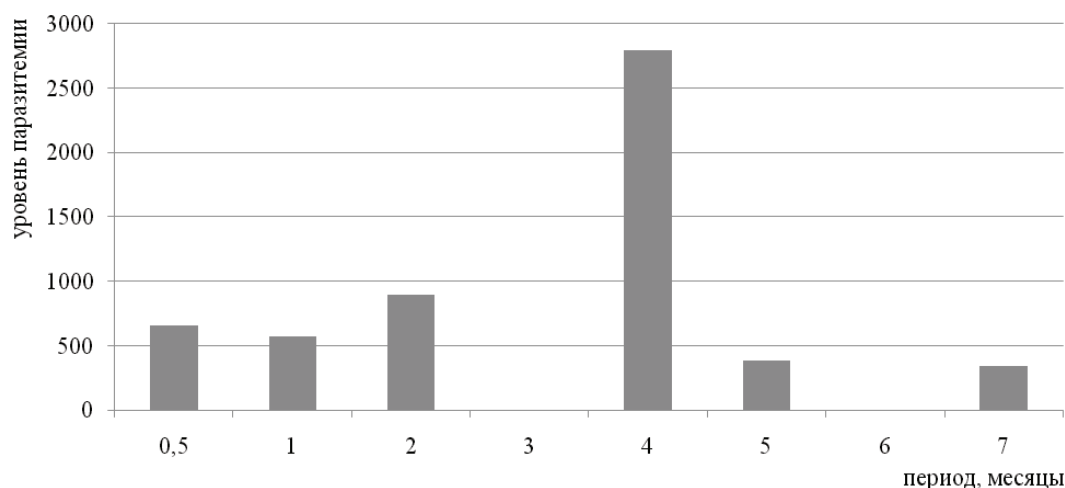


Рис. 5. Уровень паразитемии у реконвалесцентов малярии при их обследовании в Украине, в лечении которых применяли хинин, доксициклин.

При возвращении в Украину у миротворцев, находившихся в эндемичной стране в период дождей и получавших химиопрофилактику, в крови были выявлены следующие стадии развития малярийного плазмодия: трофозоиты + гаметоциты - у 51% военнослужащих, трофозоиты - у 46%, все стадии развития - у 3% обследованных (рис. 6).

При проведении химиопрофилактики в последние месяцы пребывания с использованием мефлохина или фансидара обнаружен большой процент лиц, у которых при отсутствии клинических проявлений в крови были обнаружены гаметоциты и трофозоиты, т.е. они были инфицированы более 8-10 суток. Это можно объяснить недостаточной эффективностью проведенного лечения (наличие резистентности к применяемым препаратам), развитием паразитарного рецидива, способностью химиопрофилактических препаратов предупреждать развитие клинической малярии, но не паразитоносительства, что подтверждает необходимость продолжения проведения химиопрофилактики после прибытия в Украину. При раннем прекращении приема данных препаратов, особенно у лиц, которые имеют все стадии развития плазмодиев (2-3%), существует возможность возникновения малярии в ближайшее время после прибытия.

### Заключение

1. На фоне химиопрофилактики у подавляющего большинства пациентов с легкой и среднетяжелой формами малярии показатели уровня лейкоцитов, эритроцитов, гемоглобина остаются нормальными.

2. При легком течении малярии существенных изменений в общем анализе крови вне зависимости от срока болезни при поступлении в стационар не обнаружено. В то же время у больных со среднетяжелым течением, поступивших позже 5 суток заболевания, наблюдалась анемия легкой степени.

3. При возвращении миротворцев, находившихся в эндемичной стране в период дождей и переболевших малярией в предшествующие возвращению в Украину 3 месяца, процент положительных результатов выявления малярийного плазмодия составляет 22,2-35,2%.

4. Химиопрофилактику необходимо продолжать после прибытия из эндемичной страны, так как имеется высокий риск развития клинической малярии (особенно у 2-3% лиц).

5. У лиц, которым в последние 3 месяца до прибытия из эндемичной страны проводилось лечение малярии с использованием артезуната, требуется более внимательный просмотр препаратов крови, так

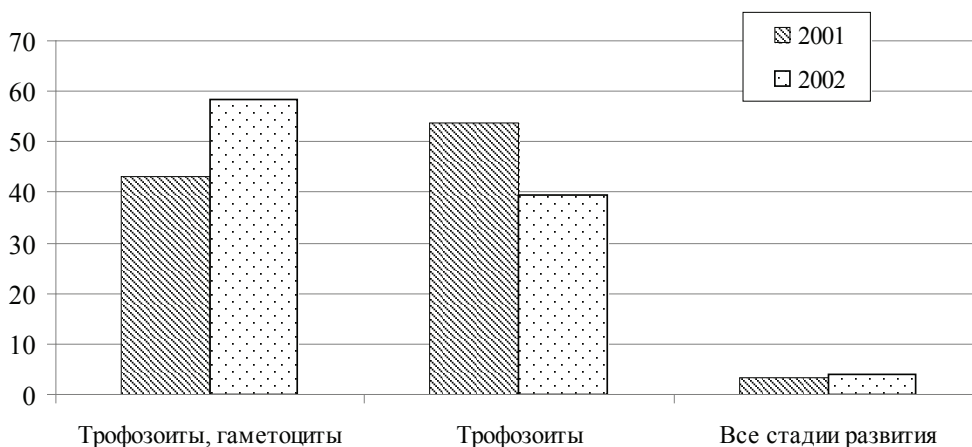


Рис. 6. Стадии развития плазмодиев тропической малярии, которые выявлялись у миротворцев при обследовании сразу после прибытия в Украину (%).

как для них характерен более низкий уровень паразитемии, чем у тех, кому при лечении использовался хинин и доксициклин.

### Литература

1. Brown, A.E. Demonstration by the polymerase chain reaction of mixed Plasmodium falciparum and P. vivax infections undetected by conventional microscopy / A.E. Brown, K.C. Kain, J. Pipithkul, H.K. Webster // Trans R Soc Trop Med Hyg. - 1992. - Vol. 86. - P. 609-612.
2. Snounou, G. Identification of the four human malaria parasite species in field samples by the polymerase chain reaction and detection of a high prevalence of mixed infections / G. Snounou, S. Viriyakosol, W. Jarra [et al.] // Mol Biochem Parasitol. - 1993. - Vol. 58. - P. 283-292.
3. Kain, K.C. Imported malaria: prospective analysis of problems in diagnosis and management / K.C. Kain, M.A. Harrington, S. Tennyson, J.S. Keystone // Clin Infect Dis. - 1998. - Vol. 27. - P. 142-149.
4. Makler, M.T. A review of practical techniques for the diagnosis of malaria / M.T. Makler, C.J. Palmer, A.L. Ager // Trop Med Parasitol. - 1998. - Vol. 92. - P. 419-433.
5. WHO: Severe and complicated malaria, 2nd ed./ Trans R Soc Med Hyg. - 1990. - Vol. 84. - P. 23-25.
6. WHO. Malaria diagnosis: Memorandum from a WHO meeting. Bull WHO. - 1988. - Vol. 66. - P. 575-594.
7. Ritabrata K. Diagnosis and Management of Malaria in Children Recommendations and IAP Plan of Action /Ritabrata Kundu, Nupur Ganguly, Tapan Kr. Ghosh [et al.] // Indian Pediatrics. - 2005. - V.42. - P. 1101-1114.
8. WHO. Approaches to the Diagnosis Malaria. In: New Perspectives Malaria Diagnosis. Report of a Joint WHO/USAID Informal Consultation 2000; P. 10-18.
9. Gatton, M.L. Evaluation of the pyrogenic threshold for plasmodium falciparum malaria in naive individuals /M.L.Gatton, Q.Cheng // J. Trop. Med. Hyg. - 2002. - Vol. 66(5). - P. 467-473.
10. Broek, I.V.D. Evaluation of three rapid test for diagnosis of P.falciparum and P.vivax malaria in Colombia // I.V.D. Broek, O. Hill, F. Gordillo [et al.] // J. Trop. Med. Hyg. - 2006. - Vol. 75(6). - P. 1209-1215.
11. Taha, K. Hematological Changes in Malaria: Relation to Plasmodium Species / K. Taha, S.Z. El-Dein, M. Idrees [et al.] / Kuwait Medical Journal. - 2007. - 39(3). - P. 262-267.
12. Wickramasinghe, S.N. Blood and bone marrow changes in malaria / S.N.Wickramasinghe, S.H.Abdalla // Bailliere's Clin Hematol. Harcourt Pub Ltd. - 2000. - Vol. 13. - P.277-299.
13. Shweiki, H.M. Status of imported malaria in Kuwait: experience from Al-Jahra Hospital / H.M.Shweiki, M.Al-Harbi, SK.Sethi [et al.] // Kuwait Medical Journal. - 2002. - Vol. 34. - P. 201-204.
14. Phu, N.H. Intraleucocytic malaria pigment and prognosis in severe malaria / N.H. Phu, N. Day, P.T. Diep [et al.] // Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. - 1995. - Vol. 89(2). - P. 200-204.
15. Maitland, K. Severe P. falciparum malaria in Kenyan children: evidence for hypovolaemia / K. Maitland, M. Levin, M. English [et al.] // Q J Med. - 2003. - Vol. 96. - P. 427-434.
16. English, M. Blood transfusion for severe anaemia in children in a Kenyan hospital /M. English, M. Ahmed, C. Ngando [et al.] / Lancet. - 2002. - Vol. 359. - P. 494-5.
17. Idro, R. Clinical manifestations of severe malaria in the Highlands of Southwestern Uganda / R. Idro, E. Bitarakwate, S. Tumwesigire, C.C. John // J. Trop. Med. Hyg. - 2005. - Vol. 72(5). - P. 561-567.

Поступила 22.05.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Трихлеб В.И. – к.м.н., начальник клиники инфекционных болезней Главного военно-медицинского клинического центра «ГВКГ», главный инфекционист Министерства обороны Украины.



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

## ГЕНОТОКСИЧЕСКОЕ И ЦИТОТОКСИЧЕСКОЕ ВОЗДЕЙСТВИЕ МАРИТ КОШАЧЬЕГО СОСАЛЬЩИКА НА СОМАТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ ХОЗЯИНА

КУЖЕЛЬ Д.К., БЕКИШ В.Я., ЗОРИНА В.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра медицинской биологии и общей генетики

**Резюме.** При применении щелочного гель-электрофореза изолированных клеток установлено, что метаболиты марит кошачьего сосальщика обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки золотистых хомяков. Генотоксическое воздействие в клетках крови животных наблюдается на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни инвазии с максимальной выраженностью в 8,2 раза на 14-й день инвазии. В клетках костного мозга показатель «момента хвоста комет» в 1,9-6,5 раза превышал контрольные величины с максимальной выраженностью на 21-й день инвазии. В печени максимальный генотоксический эффект в 7,1 раза наблюдался на 14-й день инвазии. В клетках крови, костного мозга и печени животных при экспериментальном описторхозе повышается уровень апоптотических клеток, обусловленный цитотоксическим эффектом инвазии. Цитотоксическое воздействие метаболитов марит кошачьего сосальщика наблюдается на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни инвазии в крови с максимальной выраженностью этих изменений на 21-й день в 8,3 раза. В костном мозге максимальная степень апоптоза клеток в 10,5 раз наблюдалась на 14-й и 28-й дни инвазии. Апоптоз клеток печени у зараженных животных превышал в 2,3-6,2 раза уровни контроля с максимальной выраженностью этих изменений на 28-й день наблюдения.

**Ключевые слова:** описторхоз, метод «ДНК-комет», золотистые хомяки, генотоксическое, цитотоксическое воздействия.

**Abstract.** On applying alkaline single cells gel-electrophoresis it has been established that metabolites of catliver fluke maritas exert genotoxic influence on somatic cells of golden hamsters. Genotoxic influence is observed in blood cells of the animals on the 7-th, 14-th, 21-st, 28-th, 35-th, 60-th, 90-th, 120-th and 150-th days of invasion with the maximum 8,2 times expression on the 14-th day of invasion. The indicator of «the comets tail moment» in bone marrow cells was 1,9-6,5 times higher than the control values with the maximum expression on the 21-st day of invasion. Maximum genotoxic 7,1 times effect in the liver was observed on the 14-th day of invasion. The level of apoptotic cells in blood, bone marrow and liver cells of the animals in experimental opisthorchiasis caused by invasion cytotoxic effect increases. Cytotoxic influence of metabolites of catliver fluke maritas is observed in blood on the 7-th, 14-th, 21-st, 28-th, 35-th, 60-th, 90-th, 120-th and 150-th days of invasion with the maximum 8,3 times expression of these changes on the 21-st day. In bone marrow the maximum 10,5 times degree of cells apoptosis was observed on the 14-th and 28-th days of invasion. The liver cells apoptosis in the infected animals 2,3-6,2 times exceeded the levels of the control values with the maximum expression of these changes on the 28-th day of observation.

**Key words:** opisthorchiasis, method of «comet DNA», golden hamsters, genotoxic, cytotoxic influences.

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г.Витебск,  
пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный  
ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра медицинской биологии и общей генетики.  
Тел.моб.: +375 (29) 818-68-61 – Кужель Дмитрий Константинович.

Согласно данным современной литературы, хронический описторхоз – это системное заболевание, вызываемое трематодой *Opisthorchis felinus*, паразитирующей в протоках печени, желчном пузыре и поджелудочной железе, оказывающей аллергическое, механическое, нейрогенное воздействие с возможным присоединением вторичной инфекции и поражающей органы постоянного обитания гельминта, расположенные на путях его миграции, а также интактные органы и системы [1].

Человек может заразиться кошачьим сосальщиком при употреблении в пищу свежей, свежемороженой, вяленой или недостаточно термически обработанной пресноводной рыбы. В организме человека сосальщик живёт в течение 20–30 лет. Основой питания паразита служит гликоген печени. Для поддержания гомеостаза ему требуется кислород, который червь получает из кровеносного русла человека [2].

Несмотря на определённое улучшение санитарного состояния окружающей среды, повышение санитарной грамотности населения, хронический описторхоз остаётся весьма распространённым заболеванием.

В Республике Беларусь поражённость населения кошачьим сосальщиком за последние 12 лет, по данным Республиканского центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, находится в пределах от 3 до 52 случаев в год [3].

Впервые в 1981 году Н.Н. Ильинских [4] показал, что инвазия метацеркариями *O. felinus* вызывает в клетках костного мозга золотистых хомяков повышение количества клеток с вторичными нарушениями в структуре и числе хромосом. Наиболее значимые цитогенетические изменения отмечались на 60-й и 120-й дни инвазии и характеризовались увеличением хромосомных разрывов, транслокаций, а также уровней гипоплоидных, гиперплоидных и полиплоидных клеток. Добавление водно-солевого экстракта описторхисов в культуру лимфоцитов крови доноров приводило

к нарушениям в наследственном аппарате в виде увеличения числа аберрантных и гипоплоидных клеток [5]. По мнению авторов, описторхисы могли стать фактором, способным резко усилить мутационные процессы [6].

В 2006 г. была выявлена прямо пропорциональная зависимость у больных хроническим описторхозом между числом лимфоцитов периферической крови с цитогенетическими нарушениями и титрами антител к антигенам вируса Эпштейн-Барра [7]. Наиболее значимые изменения отмечались у больных с отягощёнными формами хронического описторхоза. Изучение изменений уровней первичных повреждений ДНК соматических клеток хозяина при паразитировании кошачьих сосальщиков, а также апоптотических клеток ранее не проводились.

Целью исследования было изучение возможных генотоксических и цитотоксических эффектов в соматических клетках хозяина при экспериментальном описторхозе.

## Методы

Исследования проводили на 90 золотистых хомяках, которых разделили на две группы (контрольная и опытная) с одинаковым количеством животных в каждой. Контрольной группе вводили внутривентрикулярно стерильный 0,9% раствор хлорида натрия в объеме 0,5 мл. Опытную группу разделили на девять подгрупп по 5 животных в каждой, в зависимости от срока забоя. Всем подгруппам животных вводили внутривентрикулярно жизнеспособных метацеркариев *O. felinus* из расчета 2 на 1 г массы тела животного по разработанному нами методу [8]. Исследования проводили на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни от заражения. На все сроки наблюдения хомяков умерщвляли путем декапитации под эфирным наркозом. Выделяли печень, бедренные кости. Забор периферической крови из сонной артерии производили при помощи вакутайнеров фирмы Monovette с Li-Heparin LH. Кле-

точные суспензии костного мозга, печени получали по разработанному методу [9, 10].

Щелочной гель-электрофорез изолированных клеток (метод «ДНК-комет») проводили по N.P. Singh et al. в нашей модификации [9]. Метод «ДНК-комет» позволяет определить уровни одноцепочечных разрывов, щелочно-лабильных сайтов молекулы ДНК при воздействии генотоксических факторов окружающей среды и уровни апоптоза клеток. Метод основан на регистрации различной подвижности в постоянном электрическом поле ДНК, возможных фрагментов ДНК лизированных клеток, заключенных в агарозный гель. При этом ДНК мигрирует к аноду, формируя электрофоретический след, напоминающий «хвост кометы», параметры которого зависят от степени поврежденности исследуемой ДНК. Метод позволяет определять уровень первично-апоптотических клеток, имеющих минимальные размеры ядра и большой «хвост кометы» [11]. Повреждения молекулы ДНК определяли при помощи автоматической программы «CASP v. 1.2.2». В микропрепаратах ДНК-комет всех трех типов клеток подсчитывали по 50 клеток, где учитывался основной показатель генотоксичности: «момент хвоста», вычисленный программой из «длины хвоста», умноженного на процент ДНК в «хвосте кометы». Для оценки цитотоксического воздействия в 100 случайно выбранных клетках определяли процент апоптотических. Полученные данные от опытных животных сравнивались с показателями контрольной группы.

Результаты обрабатывались статистически с использованием программы Excel 2007. Рассчитывали среднюю арифметическую и ее стандартное отклонение ( $M+SD$ ). Достоверность выявленных различий определяли по t-критерию Стьюдента.

### Результаты

Полученные методом «ДНК-комет» результаты при экспериментальном опи-

сторхозе в контрольных и опытных группах представлены в таблицах 1–3.

При исследовании клеток крови у зараженных хомяков на 7-й день наблюдения было установлено, что длина «хвостов комет» (в пикселях) в 2,5 раза была выше контроля, а процент поврежденной ДНК в «хвостах комет» – в 3,1 раза превышал контрольный уровень (табл. 1). Показатель «момента хвоста комет» достоверно превышал контрольный показатель в 7,3 раза. Процент апоптотических клеток был выше контроля в 2,6 раза. На 14-й день наблюдения показатель длины «хвостов комет» достоверно не изменялся, а процент поврежденной ДНК в «хвостах комет» достоверно возрос в 2,8 раза по отношению к контролю. Основные показатели генотоксичности («момент хвоста» комет) и цитотоксичности (процент апоптотических клеток) в 8,2 и 3,8 раза соответственно достоверно превышали контрольные данные. На 21-й день наблюдения показатели длины «хвостов комет» (в пикселях) и процента поврежденной ДНК в «хвостах комет» возросли в 1,2 и 1,8 раза соответственно по отношению к контролю. Показатель «момента хвоста комет» превысил контрольный показатель в 2,7 раза, а процент апоптотических клеток достоверно увеличился в 8,3 раза по отношению к контролю. На 28-й день наблюдения в клетках периферической крови показатель длины «хвостов комет» достоверно превышал контрольный показатель в 2 раза, а процент поврежденной ДНК в «хвостах комет» достоверно не изменялся. «Момент хвоста комет» и процент апоптотических клеток достоверно возрастали в 3 и 3,8 раза соответственно по сравнению с контрольными величинами. На 35-й день наблюдения длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» достоверно были выше в 2,7 и 2,6 раза соответственно по отношению к контролю. Момент хвоста комет достоверно возрос в 5,1 раза, а процент апоптотических клеток – в 2,5 раза по отношению к контрольным показателям. На 60-й день наблюдения показатели генотоксичности (длина «хвостов комет» и про-

Таблица 1

**Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток  
при описторхозе в крови золотистых хомяков (M+SD)**

Группа исследования		Исследуемый показатель			
		Длина «хвостов комет» (в пикселях)	% ДНК в «хвостах комет»	«Момент хвоста комет»	% апоптотических клеток
7 день	Контроль	7,97±3,11	2,20±0,93	0,37±0,28	1,00±0,71
	Опыт	20,05±6,62*	6,87±1,23*	2,71±0,92*	2,60±0,89*
14 день	Контроль	10,08±2,18	2,62±0,96	0,35±0,15	1,20±0,84
	Опыт	14,82±3,08	7,45±2,67*	2,87±1,40*	4,60±0,89*
21 день	Контроль	10,64 ±0,94	2,58±0,59	0,49±0,18	1,20±0,84
	Опыт	12,89±0,68*	4,83±1,08*	1,34±0,39*	10,00±2,35*
28 день	Контроль	6,93±0 31	3,23±1,78	0,51±0,31	1,20±0,84
	Опыт	14,17±3,28*	5,23±1,49	1,55±0,81*	4,60±0,89*
35 день	Контроль	5,28 ±1,84	1,64±0,76	0,30± 0,24	0,80±0,45
	Опыт	14,27± 5,33*	4,28±2,06*	1,54±0,67*	2,00±0,71*
60 день	Контроль	5,12± 1,10	1,59±0,53	0,29±0,21	1,60±0,55
	Опыт	6,80± 0,21*	3,81±1,22*	1,91±0,91*	0,80±0,45*
90 день	Контроль	5,30±1,39	1,66±0,67	0,29±0,25	0,20±0,45
	Опыт	12,00±3,21*	3,94±0,81*	1,83±0,75*	1,40±0,55*
120 день	Контроль	5,01±1,36	1,50±0,72	0,21±0,13	0,80±0,84
	Опыт	11,44±1,55*	3,91±1,09*	1,71±0,79*	1,60±0,55*
150 день	Контроль	5,37±1,44	1,62±0,67	0,31±0,26	0,40±0,55
	Опыт	13,91±5,76*	3,43±1,03*	1,56±0,75*	1,80±0,45*

Примечание: \* - достоверное отличие от данных контрольной группы при P<0,01–0,05.

цент ДНК в «хвостах комет») достоверно возросли в 1,3 и 2,4 раза соответственно. «Момент хвоста комет» достоверно возрос в 6,6 раза, а процент апоптотических клеток снизился в 2 раза по сравнению с контрольными величинами. При наблюдении на 90-й день было установлено, что показатель «длины хвостов комет» достоверно возрос в 2,26 раза, а процент ДНК в «хвостах комет» – в 2,37 раза превысили контрольные показатели. Основной показатель генотоксичности достоверно превысил контрольный показатель в 6,3 раза, а цитотоксичности – в 7 раз. На 120-й день наблюдения в клетках периферической крови показатель длины «хвостов комет» достоверно превышал контрольный пока-

затель в 2,3 раза, а процент поврежденной ДНК в «хвостах комет» в 2,6 раза. Показатель «момента хвоста комет» превысил контрольный показатель в 8,1 раза, а процент апоптотических клеток достоверно увеличился в 2 раза по отношению к контрольным показателям. На последний срок наблюдения также наблюдались достоверные изменения по всем исследуемым показателям. Так, показатель длины «хвостов комет» возрос достоверно в 2,6 раза, а процент ДНК в «хвостах комет» возрос в 2,1 раза. Основной показатель генотоксичности возрос в 5 раз, а цитотоксичности – в 4,5 раза.

Исследование клеток костного мозга у хомяков также выявило достоверные из-

Таблица 2

**Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток при описторхозе в костном мозге золотистых хомяков (M±SD)**

Группа исследования		Исследуемый показатель			
		Длина «хвостов комет» (в пикселях)	% ДНК в «хвостах комет»	«Момент хвоста комет»	% апоптотических клеток
7 день	Контроль	6,99±1,81	1,27±0,58	0,14±0,08	0,60±0,55
	Опыт	20,41±4,93*	8,05±2,58*	4,46±2,33*	5,40±2,70*
14 день	Контроль	10,17±3,50	2,38±0,55	0,32±0,14	0,40±0,55
	Опыт	13,62±2,33	4,77±1,85*	1,69±1,03*	4,20±2,95*
21 день	Контроль	10,24±1,41	2,28±0,63	0,36±0,08	0,80±0,45
	Опыт	18,04±4,80*	6,69±1,59*	2,34±0,66*	4,20±1,10*
28 день	Контроль	9,63±2,03	3,63±1,32	0,52±0,37	0,40±0,55
	Опыт	14,31±1,13*	7,05±2,94*	2,84±1,69*	4,20±2,95*
35 день	Контроль	5,84±1,11	1,22±0,54	0,14±0,08	0,60±0,55
	Опыт	11,22±2,41*	3,08±0,63*	1,10±0,34*	4,40±1,82*
60 день	Контроль	5,38±0,91	1,05±0,55	0,11±0,07	0,40±0,55
	Опыт	7,46±0,34*	3,65±1,12*	1,59±0,72*	5,00±2,45*
90 день	Контроль	5,42±0,94	1,13±0,63	0,13±0,07	0,20±0,45
	Опыт	13,60±0,64*	3,50±0,81*	1,63±0,79*	4,80±2,28*
120 день	Контроль	4,78±0,57	0,96±0,45	0,10±0,05	1,20±0,40
	Опыт	13,98±0,91*	2,99±0,48*	1,32±0,49*	4,60±2,41*
150 день	Контроль	5,88±0,98	1,10±0,47	0,18±0,09	0,80±0,45
	Опыт	11,66±2,00*	3,56±1,34*	1,01±0,30*	4,20±1,79*

Примечание: \* - достоверное отличие от данных контрольной группы при  $P < 0,01-0,05$ .

менения на всех сроках наблюдения (табл. 2). Так, на 7-й день наблюдения длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» достоверно были выше в 2,9 и 6,3 раз соответственно по отношению к контролю. Основные показатели генотоксичности и цитотоксичности возрастали по отношению к контрольным показателям в 1,9 и 9 раз соответственно. На 14-й день наблюдения показатель длины «хвостов комет» достоверно не изменялся, а процент ДНК в «хвостах комет» достоверно увеличился в 2 раза. Показатель «момента хвоста» превысил в 5,3 раза данные контроля, а процент апоптотических

клеток в 10,5 раз был выше контрольного показателя. К 21-му дню наблюдений в клетках костного мозга длина «хвостов комет» превышала показатель контроля в 1,8 раза, а процент ДНК в «хвостах комет» достоверно возрос в 2,9 раза. Основной показатель генотоксичности увеличился в 6,5 раз, а показатель цитотоксичности – в 5,3 раза по отношению к контрольным уровням. На 28-й день инвазии показатель длины «хвостов комет» был выше данных контроля в 1,5 раза, а процент ДНК в «хвостах комет» – в 1,9 раз контрольного уровня. Основные показатели ген- и цитотоксичности достоверно возросли в 5,5 и 10,5

раза соответственно по отношению к контрольным величинам. На 35-й день наблюдения в клетках костного мозга все показатели достоверно изменялись. Так, длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» достоверно были выше в 1,9 и 2,5 раза соответственно по отношению к контролю. Показатель «момента хвоста» превысил в 7,8 раза данные контроля, а процент апоптотических клеток в 7,3 раз был выше контрольного показателя. На 60-й день наблюдения в клетках костного мозга длина «хвостов комет» превышала показатель контроля в 1,4 раза, а процент ДНК в «хвостах комет» достоверно возрос в 3,5 раза. Основные показатели генотоксичности и цитотоксичности возрастали по отношению к контрольным показателям в 14,4 и 12,5 раза соответственно. На 90-й день наблюдения длина «хвостов комет» превышала показатель контроля в 2,5 раза, а процент ДНК в «хвостах комет» достоверно возрос в 3,1 раза по отношению к контрольным величинам. Основные показатели гено- и цитотоксичности достоверно возросли в 12,5 и 24 раза соответственно. На 120-й день наблюдения показатели генотоксичности (длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет») достоверно возросли в 2,9 и 3,1 раза соответственно. Основные показатели генотоксичности и цитотоксичности возрастали по отношению к контрольным показателям в 13,2 и 3,8 раза соответственно. На последний срок наблюдения (150-й день), все исследуемые показатели достоверно изменялись и возрастали. Показатель длины «хвостов комет» был выше данных контроля в 2 раза, а процент ДНК в «хвостах комет» – в 3,2 раза контрольного уровня. Основные показатели гено- и цитотоксичности достоверно возросли в 5,6 и 5,25 раз соответственно по отношению к контрольным величинам.

В клетках печени у зараженных золотистых хомяков на 7-й день наблюдения показатели длины «хвостов комет» и процента ДНК в «хвостах комет» увеличились по сравнению с данными контроля в 1,6 и 2 раза соответственно (табл. 3). Показа-

тель «момента хвоста комет» возрос в 4,7 раза по отношению к контролю, а процент апоптотических клеток в 3,7 раза превышал контрольные величины. На 14-й день наблюдения показатель длины «хвостов комет» превысил уровень контроля в 2,7 раза, процент ДНК в «хвостах комет» достоверно возрос в 3,6 раз по отношению к данным интактных животных. Показатель «момента хвоста» и процент апоптотических клеток достоверно увеличились в 7,1 и 2,3 раза соответственно в сравнении с контрольными показателями. На 21-й день инвазии в клетках печени золотистых хомяков длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» превышали в 1,9 и 1,8 раза соответственно данные контроля. Основные показатели гено- и цитотоксичности в 3,5 и 5,9 раза соответственно были выше чем у интактных животных. К 28-му дню наблюдений показатель длины «хвостов комет» достоверно не изменился, а процент ДНК в «хвостах комет» возрос в 2,5 раза по отношению к контрольным данным. Основные показатели генотоксичности и цитотоксичности были больше в 5,6 и 6,2 раза соответственно по отношению к контрольным величинам. На 35-й день наблюдения все исследуемые показатели достоверно изменялись. Так, показатели длины «хвостов комет» и процента ДНК в «хвостах комет» увеличились по сравнению с данными контроля в 1,3 и 2,2 раза соответственно. Показатель «момента хвоста комет» возрос в 2,9 раза по отношению к контролю, а процент апоптотических клеток в 3,6 раза превышал контрольные величины. На 60-й день наблюдения показатель длины «хвостов комет» превысил уровень контроля в 2,2 раза, процент ДНК в «хвостах комет» достоверно возрос в 1,4 раза по отношению к данным интактных животных. Показатель «момента хвоста» и процент апоптотических клеток достоверно увеличились в 3 и 3,7 раза соответственно в сравнении с контрольными показателями. На 90-й день наблюдения в клетках печени золотистых хомяков длина «хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» превышали в 1,8 и

Таблица 3

**Показатели щелочного гель-электрофореза изолированных клеток при описторхозе в печени золотистых хомяков (M±SD)**

Группа исследования		Исследуемый показатель			
		Длина «хвостов комет» (в пикселях)	% ДНК в «хвостах комет»	«Момент хвоста комет»	% апоптотических клеток
7 день	Контроль	9,77±1,34	2,48±0,36	0,42±0,16	2,20±0,45
	Опыт	15,28±2,32*	5,10±1,28*	1,98±0,50*	8,20±1,79*
14 день	Контроль	6,80±2,79	1,72±1,36	0,23±0,21	1,60±0,89
	Опыт	18,29±1,53*	6,24±0,74*	1,65±0,39*	3,60±0,89*
21 день	Контроль	8,67±2,46	2,92±1,68	0,55±0,42	1,80±0,45
	Опыт	16,19±3,58*	5,39±0,93*	1,90±0,74*	10,60±7,06*
28 день	Контроль	10,28±3,45	2,32±0,52	0,45±0,18	1,80±0,45
	Опыт	13,30±2,04	5,88±2,35*	2,52±1,71*	11,20±3,70*
35 день	Контроль	7,69±1,14	1,81±0,26	0,42±0,16	2,20±0,45
	Опыт	10,29±1,95*	4,02±1,94*	1,22±0,45*	8,00±1,73*
60 день	Контроль	5,60±0,79	1,94±0,25	0,41±0,17	2,20±0,45
	Опыт	12,27±3,11*	2,83±0,59*	1,26±0,40*	8,20±1,79*
90 день	Контроль	6,22±0,61	2,17±0,26	0,42±0,16	1,60±0,55
	Опыт	11,36±3,22*	3,21±0,68*	1,21±0,38*	7,20±1,30*
120 день	Контроль	6,30±0,35	1,84±0,24	0,40±0,16	1,80±0,45
	Опыт	11,78±3,25*	2,64±0,40*	1,19±0,42*	7,40±1,52*
150 день	Контроль	7,85±0,75	1,90±0,26	0,42±0,11	2,00±0,00
	Опыт	9,65±1,51*	2,66±0,50*	0,81±0,34*	7,20±1,48*

Примечание: \* – достоверное отличие от данных контрольной группы при P<0,01-0,05.

1,5 раза соответственно данные контроля. Основные показатели гено- и цитотоксичности в 2,9 и 4,5 раза соответственно были выше, чем у интактных животных. На 120-й день наблюдения все исследуемые показатели достоверно изменялись и возрастали. Показатель длины «хвостов комет» был выше данных контроля в 1,9 раза, а процент ДНК в «хвостах комет» – в 1,4 раза контрольного уровня. Основные показатели гено- и цитотоксичности достоверно возросли в 3 и 4,1 раза соответственно по отношению к контрольным величинам. На 150-й день наблюдения все исследуемые показатели также достоверно возрастали. Так, показатели длины «хвостов комет» и процента ДНК в «хвостах комет» увеличились по сравнению с данными контроля

в 1,2 и 1,4 раза соответственно. Основные показатели гено- и цитотоксичности в 1,9 и 3,6 раза соответственно были выше, чем у интактных животных.

### Обсуждение

Таким образом, было установлено, что мариты кошачьего сосальщика обладают генотоксическим и цитотоксическим воздействиями на соматические клетки организма хозяина на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни от заражения, которое характеризуется увеличением количества одноцепочечных разрывов и щелочно-лабильных сайтов ядерной ДНК, апоптоза в клетках крови, костного мозга и печени *in vivo*. Рост уровня первичных

повреждений ДНК в клетках хозяина был обусловлен повышением числа мелких разрывов ДНК (рост «длины хвостов комет»), процента поврежденной ДНК, основного показателя генотоксичности – «момента хвоста», а также основного показателя цитотоксичности – процент апоптотических клеток.

В клетках крови «длина хвостов комет» при инвазии достоверно повышалась в среднем в 1,2-2,7 раза с максимальными значениями на 7-й, 21-й и 28-й дни инвазии, а процент ДНК в «хвостах комет» в 1,8-3,1 раза с наибольшими показателями на 7-й, 14-й, 21-й дни наблюдения. Основной показатель генотоксичности возрастал в 2,7-8,2 раза, а цитотоксичности – в 2,6-8,3 раза.

В клетках костного мозга «длина хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» возрастали в 1,8-2,9 и 1,9-6,3 раза соответственно, основной показатель генотоксичности («момент хвоста») – в 1,9-14,4 раза, а процент апоптотических клеток в 5,2-24 раза.

В клетках печени «длина хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» увеличивались в 1,2-2,7 и 1,4-3,6 раза по отношению к контролю. Основной показатель генотоксичности превышал контрольные уровни на всех сроках наблюдения в 1,9-7,1 раза, а цитотоксичности – в 2,3-6,2 раза.

Наиболее выраженные генотоксические эффекты во всех исследуемых типах клеток наблюдались на 7-й, 14-й и 28-й дни наблюдения, а цитотоксический эффект – на 21-й и 28-й дни инвазии. На более поздние сроки наблюдения все исследуемые показатели во всех типах клеток были ниже, чем на ранние сроки, но достоверно превышали контрольные показатели. Исходя из полученных данных, мы можем предполагать, что до 28-го дня у хомяков протекала острая фаза заболевания, которая затем перешла в хроническую. Суммарно генотоксический и цитотоксический эффекты инвазии кошачьими сосальщиками раньше проявлялись в клетках крови и костного мозга

и позднее наблюдались в клетках печени золотистых хомяков.

«Длина хвостов комет» при инвазии достоверно повышалась в среднем в 1,2-2,5 раза в клетках крови на 7-й, 21-й и 28-й дни инвазии, а процент ДНК в «хвостах комет» в 1,8-3,1 раза на 7-й, 14-й, 21-й дни наблюдения. Основным показателем генотоксичности возрастал в 2,7-8,2 раза, а цитотоксичности – в 2,6-8,3 раза. В клетках костного мозга «длина хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» возрастали в 1,8-2,9 и 1,9-6,3 раза соответственно, основным показателем генотоксичности («момент хвоста») – в 1,9-6,5 раза, а процент апоптотических клеток в 5,3-10,5 раза. В клетках печени «длина хвостов комет» и процент ДНК в «хвостах комет» увеличивались в 1,6-2,7 и 1,8-3,6 раза по отношению к контролю. Основным показателем генотоксичности превышал контрольные уровни на всех сроках наблюдения в 3,5-7,1 раза, а цитотоксичности – в 2,3-6,2 раза.

Полученные нами данные характеризующие рост первичных повреждений ДНК и апоптоза соматических клеток хозяина согласуются с результатами проведенных ранее исследований при других трематодозах. О.О. Motorna et al. [12] была изучена способность метаболитов *Fasciola hepatica* вызывать генные мутации в соматических клетках инвазированных млекопитающих. Исследования были проведены на трансгенных мышьях-самцах линии C57BL/6 Big Blue®, которых заражали в дозе 2 метацеркария печеночного сосальщика на особь. К 15-му дню после заражения был установлен рост генных lacI мутаций в гепатоцитах зараженных животных по сравнению с контрольными. У инвазированных мышьях в спектре мутаций значительно повышалось число lacI спонтанных и многократных мутаций (18,2%) по сравнению с незараженными животными (2,8%) (11, 13). S.K. Lundy et al. [13] изучили апоптоз CD4+ Т лимфоцитов в течение шистосомозной инвазии у мышьях-самок линии CBA/Jk. Животных заражали в дозе 25 церкариев *Schistosoma mansoni* и иссле-



довали ранний апоптоз Т-лимфоцитов селезенки и клеток шистосомозных гранулем. Авторы показали, что в течение созревания личинок (4 недели после заражения) апоптоз в селезеночных CD4+ Т-лимфоцитах не повышался, но многократно возрастал к 6-ой неделе инвазии и коррелировал с временем попадания яиц в печень [13]. L. Chen et al. [14] в 2002 г. изучили особенности апоптоза в коже, зараженных абдоминально 250 церкариями *S. mansoni*, мышей линии C57BL/6. Установлено присутствие большого числа апоптотических клеток вокруг мигрирующих личинок паразитов и вокруг шистосомул у зараженных и иммунизированных животных. Иммуногистохимический анализ с использованием анти-CD3 антител показал, что большинство апоптотических клеток вокруг шистосомул у зараженных и иммунизированных животных являются Т-клетками [14].

### Заключение

1. Метаболиты марит кошачьего сосальщика обладают генотоксическим воздействием на соматические клетки золотистых хомяков. Генотоксическое воздействие в клетках крови животных наблюдается на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни инвазии с максимальной выраженностью в 8,2 раза на 14-й день инвазии. В клетках костного мозга показатель «момента хвоста комет» в 1,9-14,4 раза превышал контрольные величины с максимальной выраженностью на 60-й день инвазии. В печени максимальный генотоксический эффект в 7,1 раза наблюдался на 14-й день инвазии.

2. В клетках крови, костного мозга и печени животных при экспериментальном описторхозе повышается уровень апоптотических клеток, обусловленный цитотоксическим эффектом инвазии. Цитотоксическое воздействие метаболитов марит кошачьего сосальщика наблюдается на 7-й, 14-й, 21-й, 28-й, 35-й, 60-й, 90-й, 120-й и 150-й дни инвазии в крови с максимальной выраженностью этих изменений на

21-й день в 8,3 раза. В костном мозге максимальная степень апоптоза клеток в 10,5 раза наблюдалась на 14-й и 28-й дни инвазии. Апоптоз клеток печени у зараженных животных превышал в 2,3-6,2 раза уровни контроля с максимальной выраженностью этих изменений на 28-й день наблюдения.

### Литература

1. Пальцев, А.И. Патоморфоз описторхоза / А.И. Пальцев [и др.] // Мед. паразитолог. – 1994. – №1. – С. 29 – 33.
2. Соловьёва, А.В. Хронический описторхоз и беременность: Руководство для врачей / А.В. Соловьёва. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2007. – 130 с.
3. Якубовский, М.В. Описторхоз: опасность заражения и профилактика / М.В. Якубовский, Э.К. Скурат // Вет. медицина Беларуси. – 2008. – № 1 – 2. – С. 6 – 11.
4. Ильинских, Н.Н. Популяционные исследования цитогенетической патологии в очагах описторхоза в условиях Обь-Иртышского бассейна / Н.Н. Ильинских // Комплекс. гигиен. исслед. в практ. здравоохран. – Новокузнецк, 1981. – С. 481 – 484.
5. Ильинских, Н.Н. Проблема описторхоза на севере Тюменской области в связи с его влиянием на генетические структуры организма / Н.Н. Ильинских // Особенности патолог. у коренного и пришлого населения в условиях Крайнего Севера. – Красноярск, 1981. – Т. 2. – С. 198.
6. Экогенетика описторхоза и персистенция вируса Эпштейна-Барр / Е.Н. Ильинских [и др.]. – Томск: Изд. Сиб. мед. ун-та, 2000. – 268 с.
7. Ильинских, Е.Н. Влияние ассоциации трематод *Opisthorchis felinus* и потенциально онкогенного вируса Эпштейна-Барр на уровень цитогенетических поражений Т-лимфоцитов человека / Е.Н. Ильинских, Н.Н. Ильинских, И.Н. Ильинских // Достижения и перспективы развития соврем. паразитолог. – Витебск: ВГМУ. – 2006. – С. 71 – 73.
8. Кужель, Д.К. Экспериментальная модель описторхоза на золотистых хомяках / Д.К. Кужель // Исслед. молодых учёных: материалы X Междунар. науч. – практ. конф. «Аграрное производство и охрана природы», Витебск, 26 – 27 мая 2011г., под ред. Ятусевича А.И. – Витебск: ВГАВМ. – 2011. – С. 96 – 97.
9. Применение метода щелочного гель-электрофореза изолированных клеток для оценки генотоксических свойств природных и синтетических соединений : метод. рекомендации / А.Д. Дурнев [и др.]; утв. РАМН и РАСН. – М., 2006. – 27 с.
10. Применение щелочного гель-электрофореза

- изолированных клеток в эмбриональных тканях мышей / Е.С. Пашинская [и др.] // Достижения фундам., клин. медицины и фармации: материалы 62 научн. сессии УО «ВГМУ», Витебск, 22-23 марта 2007 г. / Витебск. гос. мед. ун-т; редкол.: В.П. Дейкало [и др.]. – Витебск, 2007. – С. 163-166.
11. Detection by the comet assay of apoptosis induced in lymphoid cell lines after growth factor deprivation / M. Florent [et al.] // Cell Biol. Toxicol. – 1999. – Vol. 15. – P. 185–192.
  12. Analysis of lacI mutations in Big Blue® transgenic mice subjected to parasite-induced inflammation. / O.O. Motorna [et al.] // Mutat. Res. Fund. and Mol. Mech. of Mutagen. – 2001. – Vol. 484. – P. 69–76.
  13. Lundy, S. K. Soluble egg antigen-stimulated T helper lymphocyte apoptosis and evidence for cell death mediated by FasL + T and B cells during murine Schistosoma mansoni infection / S.K. Lundy, S.P. Lerman, D.L. Boros // Infection and Immunity. – Vol. 69, № 1. – 2001. – P. 271–280.
  14. Skin-stage schistosomula of Schistosoma mansoni produce an apoptosis-inducing factor that can cause apoptosis of T cells / L. Chen [et al.] // J. Biol. Chem. – 2002. – Vol. 277, Is. 37. – P. 34329–34335.

*Поступила 29.08.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

#### **Сведения об авторах:**

Кужель Д.К. – аспирант кафедры медицинской биологии и общей генетики УО «ВГМУ»;

Бекиш В.Я. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой медицинской биологии и общей генетики УО «ВГМУ»;

Зорина В.В. – к.б.н., доцент кафедры медицинской биологии и общей генетики, УО «ВГМУ».



© ЛЯХОВСКАЯ Н.В., 2013

## РОТАВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ: КЛИНИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ, ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ

ЛЯХОВСКАЯ Н.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра инфекционных болезней

**Резюме.** Сравнительный анализ клинического течения моноротавирусной инфекции (МРВИ), смешанной ротавирусно-бактериальной инфекции (РВИ/БИ) и ротавирусной инфекции, развившейся на фоне сопутствующей другой инфекционной или соматической патологии (РВИ/СП) показал, что РВИ/БИ достоверно чаще ( $p < 0,001$ ) протекает с поражением толстого кишечника ( $61,32 \pm 4,75\%$ ), более выраженной и длительной температурной реакцией и диареей по сравнению с моноинфекцией. Клиническое течение РВИ/СП характеризуется подострым началом, менее выраженной и продолжительной лихорадкой и интоксикацией, а также более выраженным и длительным кишечным синдромом и большей частотой выявления патологических примесей в стуле в сравнении с МРВИ.

Даны рекомендации по патогенетической терапии ротавирусной инфекции, а также предложены схемы антибактериальной терапии ротавирусной инфекции, протекающей с признаками инвазивной диареи, вызванной присоединением бактериальной флоры.

**Ключевые слова:** ротавирусная инфекция, смешанная ротавирусно-бактериальная инфекция, ротавирусная инфекция, развившаяся нозокоммально, антибиотики.

**Abstract.** The comparative analysis of the clinical course of monorotaviral infection (MRVI), mixed rotaviral and bacterial infection (RVI/BI) and rotaviral infection developed against the background of some other accompanying infectious or somatic pathology (RVI/SP) has shown that RVI/BI is reliably more frequently ( $p < 0,001$ ) accompanied by the large intestine lesion ( $61,32 \pm 4,75\%$ ), more expressed and prolonged fever and diarrhea if compared to mono-infection. The clinical course of RVI/SP is characterized by the subacute onset, less expressed and prolonged fever and general intoxication, as well as more expressed and prolonged intestinal syndrome and higher frequency of pathologic admixtures detection in stools as compared with MRVI.

Recommendations on pathogenetic therapy of rotaviral infection are given; the schemes of antibacterial therapy of rotaviral infection accompanied by the signs of invasive diarrhea caused by the joining of bacterial flora are also proposed.

**Key words:** rotaviral infection, mixed rotaviral and bacterial infection, nosocomial rotaviral infection, antibiotics.

Ротавирусная инфекция (РВИ) является наиболее частой причиной острых кишечных инфекций (ОКИ) в детском возрасте [1, 2, 3]. В странах Западной Европы ежегодно регистрируется

более 3,5 миллионов случаев заболевания среди детей до 5 лет, более 200 случаев заканчивается летально [4]. В США из всех госпитализированных детей младше 5 лет с диагнозом ОКИ более 40% приходится на ротавирусную инфекцию, при этом ежегодно регистрируется от 30 до 40 смертельных случаев [5]. Большинство детей инфицируются в возрасте 2-3 лет и болеют ротавирусным гастроэнтеритом более одного раза [1, 6]. Доля внутрибольничной

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра инфекционных болезней. Тел. моб.: +375 (29) 622-01-39 – Ляховская Наталья Владимировна.

РВИ в общей структуре ротавирусной инфекции в странах Западной Европы колеблется от 5 до 51% у детей младше 5 лет и 33,8 – 41,4% у детей до 13 лет, в США достигает 27% , Израиле - 20,3% [8-11].

В последние годы в Республике Беларусь отмечается неуклонный рост заболеваемости ротавирусной инфекцией [2, 3]. В структуре острых кишечных инфекций установленной этиологии на ротавирусную инфекцию приходится 43-64% [2, 3]. Достаточно часто при кишечных инфекциях выделяется несколько возможных этиологических агентов [3]. Сочетание возбудителей может влиять на клинические проявления заболевания, затрудняя клиническую диагностику и выбор методов лечения пациентов с ОКИ.

Целью нашего исследования явилось определение клинических особенностей ротавирусной инфекции на современном этапе, анализ клинической эффективности при РВИ различных схем патогенетической терапии, рекомендуемых и наиболее часто используемых для лечения ОКИ у детей, а также установление показаний к назначению и тактика выбора антибактериальной терапии при сочетанной ротавирусно-бактериальной инфекции.

### Методы

Нами был проведен сравнительный анализ клинического течения ротавирусной инфекции (РВИ) при сочетании ротавируса с другими возбудителями ОКИ, а также анализ эффективности терапии пациентов с ротавирусной инфекцией в различных клинических ситуациях. Под наблюдением находились 174 пациента с моноротовирусной инфекцией (МРВИ), 106 детей со смешанной ротавирусно-бактериальной инфекцией (РВИ/БИ) в возрасте от 2 месяцев до 17 лет, госпитализированных в Витебскую областную инфекционную клиническую больницу (ВОИКБ) в период с 2010 по 2012 гг. Дополнительно проведен анализ клинического течения ротавирусной инфекции, развившейся на фоне сопутствующей со-

матической или другой инфекционной патологии (РВИ/СП), у 83 детей такого же возраста, находившихся на стационарном лечении в ВОИКБ в период с сентября 2010 г. по сентябрь 2011 г.

Оценка эффективности патогенетической терапии была проведена у 146 пациентов с моноротовирусной инфекцией и 65 пациентов с инвазивными формами смешанной ротавирусно-бактериальной инфекции, протекающей без гемоколита, находившихся на лечении в ВОИКБ в период 2009 – 2012 гг.

Диагноз моноротовирусной или сочетанной ротавирусно-бактериальной инфекции устанавливался на основании клинико-лабораторных признаков кишечной инфекции с обязательным лабораторным подтверждением. Лабораторное подтверждение диагноза было основано на обнаружении антигена ротавируса в кале методом ИФА (набор реагентов «Ротавирус-антиген-ИФА-Бест» производства ЗАО «Вектор-Бест» (Россия)) или ИХТ (набор реагентов «VIKIA® Rota-Adeno» производства «bioMérieux» (Франция)), а также РНК ротавирусов группы А в кале методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией (наборы реагентов «АмплиСенс® ОКИ-скрин-FL» и «АмплиСенс® Rotavirus/Norovirus/Astrovirus-FL» производства ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Москва). Смешанные ротавирусно-бактериальные варианты инфекции лабораторно подтверждались выявлением ДНК *Campylobacter* spp в кале методом ПЦР, а так же выделение сальмонелл, *S.aureus*, других представителей условно-патогенной флоры (*P.mirabilis*, *P.vulgaris*, *K.pneumoniae*, *E.coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Ps.aeruginosae*) бактериологическим методом из кала. Этиологическую роль УПФ в генезе смешанной ротавирусно-бактериальной инфекции устанавливали на основе массивности выделения УПФ в острый период заболевания (титр  $10^5$  КОЕ/г и более) при от-

сутствии бактериологического и молекулярно-генетического подтверждения, свидетельствующего в пользу ОКИ, вызванных патогенной флорой, а также наличие диагностически значимых титров аутоантител к выделенным штаммам УПФ.

Диагноз ротавирусной суперинфекции устанавливался при появлении симптомов поражения ЖКТ в срок не ранее, чем через 48 часов от момента госпитализации в соматическое/инфекционное отделение, или не позже 72 часов после выписки из стационара.

Результаты проведенных исследований обрабатывались статистическим методом с использованием программы Microsoft Excel, Statistika 6.

### Результаты и обсуждение

Как показал проведенный анализ, течение РВИ соответствовало описанию, имеющемуся в литературе, и характеризовалось острым началом заболевания с появления у большинства пациентов характерной триады клинических симптомов: рвоты ( $94,2 \pm 1,8\%$ ), лихорадки ( $97,1 \pm 1,3\%$ ), диареи ( $97,1 \pm 1,3\%$ ) [6, 7]. Однако описанная картина заболевания была характерна только для пациентов с МРВИ, развившейся в домашних условиях. В то же время у  $37,86 \pm 2,9\%$  пациентов с внебольничной ротавирусной инфекцией в бактериологических посевах кала выделялись один или более бактериальных агентов, такие пациенты были отнесены в группу микст ротавирусно – бактериальной инфекции (РВИ/БИ). Наиболее часто ротавирусная инфекция протекала в сочетании со стафилококковой инфекцией ( $64,1 \pm 4,7\%$ ). У  $12,26 \pm 3,2\%$  пациентов ротавирусная инфекция сочеталась с другими представителями УПФ: *P.mirabilis*, *P.vulgaris*, *K.pneumoniae*, *Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *P.aeruginosae*. У  $8,49 \pm 2,72\%$  пациентов был выделен *Campylobacter spp*, у  $15,09 \pm 3,49\%$  - *S.enteritidis/typhimurim*. Проведенный нами анализ также показал, что в  $38,8\%$  регистрируемой ротавирусной инфекции заболевание развивалось на фоне имею-

щейся сопутствующей инфекционной или соматической патологии (РВИ/СП) во время пребывания в стационаре или не позднее 72 часов после выписки из стационара.

Как показал анализ, клиническая картина РВИ имеет существенные отличия в трех исследуемых группах пациентов. Среди наблюдавшихся нами пациентов с МРВИ преобладали дети в возрасте от 1 до 3 лет ( $55,17 \pm 3,78\%$ ). Дети первого года жизни составили  $21,26 \pm 3,11\%$ , старше 3-х лет –  $23,56 \pm 3,23\%$ . Среди пациентов с РВИ/БИ доля детей первого года жизни была значительно выше ( $45,28 \pm 4,86\%$ ), на детей в возрасте от 1 до 3-х лет приходилось  $42,45 \pm 4,82\%$ , старше 3-х лет –  $12,26 \pm 3,20\%$ . Еще выше удельный вес детей первого года жизни был в группе пациентов с РВИ/СП ( $54,22 \pm 5,50\%$ ), на долю детей в возрасте от года до трех пришлось  $45,78 \pm 5,50\%$  этой группы.

Самым частым клиническим симптомов во всех группах явилась диарея, которая регистрировалась в 97-100% случаев и появлялась в первый день болезни у 82-87% пациентов с РВИ/СП и РВИ/БИ и у 76,44% пациентов с моно инфекцией (табл. 1). У пациентов с РВИ/БИ и РВИ/СП заболевание часто протекало с вовлечением в процесс толстого кишечника, что наблюдалось у  $61,32 \pm 4,73\%$  и  $50,6 \pm 5,52\%$  пациентов соответственно. Напротив, при моноротавирусной инфекции значительно чаще наблюдались гастритическая или гастроэнтеритическая формы, на долю которых приходилось  $74,14 \pm 3,32\%$  ( $p < 0,005$ ). Еще более отчетливо различия обнаруживались в разных возрастных группах. Так, у детей первого года жизни колит регистрировался у  $77,08 \pm 6,13\%$  пациентов при сочетанной ротавирусно-бактериальной инфекции и только у  $40,54 \pm 8,18\%$  при моноинфекции ( $p < 0,001$ ), в то время как у детей от года до трех лет - в  $53,33 \pm 7,52\%$  и  $22,92 \pm 4,31\%$  случаев соответственно ( $p < 0,005$ ). Напротив, при РВИ/СП явления колита регистрировались с одинаковой частотой во всех возрастных группах. Гемоколит наблюдался только у пациентов с РВИ/БИ и РВИ/СП ( $11,32 \pm 3,09\%$  и

Таблица 1

**Сравнительная характеристика клинических симптомов при моноротавирусной (МРВИ), смешанной ротавирусно-бактериальной инфекции (РВИ/БИ) и ротавирусной инфекции, развившейся на фоне сопутствующей патологии (РВИ/СП)**

Клинические симптомы	РВИ/СП (n=83)		МРВИ (n=174)		РВИ/БИ (n=106)		P
	абс.ч	%	абс.ч	%	абс.ч	%	
Гастрит	0	0,0	5	2,87±1,27	0	0,0	0,05
Гастроэнтерит или энтерит	41	49,4±5,52	124	71,26±3,43	41	38,68±4,73	<0,0001* <0,001**
Гастроэнтероколит или энтероколит	42	50,6±5,52	45	25,86±3,32	65	61,32±4,73	<0,0001* <0,005**
Катаральный синдром	13	15,66±4,01	81	46,55±3,79	54	50,94±4,88	<0,0001** <0,0001***
t 36-36,9°C	6	7,23±2,86	5	2,87±1,27	4	3,77±1,86	>0,05
t 37,1 – 38,0°C	15	18,07±4,25	38	21,84±3,14	13	12,26±3,20	>0,05
t 38,1 – 39,0°C	52	62,65±5,34	93	53,45±3,79	63	59,43±4,79	>0,05
t > 39,0°C	10	12,05±3,59	38	21,84±3,14	26	24,53±4,20	<0,05** <0,05***
t ≤ 2 дней	46 из 77	59,74±5,63	87 из 169	51,48±3,86	44 из 102	43,14±4,93	<0,05***
t ≥ 5 дней	3 из 77	3,90±2,22	15 из 169	8,88±2,19	19 из 102	18,63±3,87	<0,05* <0,005***
Наличие рвоты	66	79,52±4,46	164	94,25±1,77	80	75,47±4,20	<0,0001* <0,001**
Множественная рвота	52 из 66	78,79±5,07	123 из 164	75,00±3,99	51 из 80	63,75±5,41	<0,05***
Рвота ≥ 3 дней	17 из 66	25,76±5,42	59 из 164	35,98±3,76	17 из 80	21,25±4,60	<0,05*
Диарея	83	100,00±0,0	169	97,13±1,27	106	100,00±0,00	>0,05
Диарея ≤ 5 раз/сут	43	51,81±5,52	92 из 169	54,44±3,84	58	54,72±4,86	>0,05
Диарея 6 – 10 раз/сут	24	28,92±5,01	57 из 169	33,73±3,65	37	34,91±4,65	>0,05
Диарея > 10 раз/сут	16	19,28±4,36	20 из 169	11,83±2,49	11	10,38±2,98	>0,05
Диарея < 4 дней	33	40,96±5,43	90 из 169	53,25±3,78	32	30,19±4,45	<0,0005*
Диарея 4 - 6 дней	35	42,17±5,45	66 из 169	39,05±3,76	44	41,51±4,81	>0,05
Диарея > 6 дней	15	18,07±4,25	13 из 169	7,69±2,06	30	28,30±4,40	<0,0001* <0,05**
Патологические примеси в стуле	49	59,04±5,43	62 из 169	36,69±3,72	84	79,25±3,99	<0,0001* <0,001** <0,005***
Слизь	42	50,60±5,52	45 из 169	26,63±3,41	65	61,32±4,75	<0,0001* <0,001**
Гемоколит	6	7,23±2,86	0	0,0	12	11,32±3,09	<0,0001**

Примечание: \* - при сравнении МРВИ и РВИ/БИ; \*\* - при сравнении РВИ/СП и МРВИ; \*\*\* - при сравнении РВИ/СП и РВИ/БИ.

7,23±2,86% соответственно), также как и лабораторные признаки инвазивной диареи (55,66±4,85% и 26,51±4,87% соответственно). В то же время примесь слизи макроскопически отмечалась у 26,63±3,41% пациентов при моноинфекции и более чем у половины пациентов в двух других группах. При РВИ/БИ чаще, чем при моноинфекции в стуле наблюдались патологические примеси – непереваренные остатки пищи, хлопья, слизь, зелень. У 52-55% пациентов стул был не более 5 раз в сутки, однако, у 19,28±4,36% пациентов с РВИ/СП кратность стула превышала 10 раз, при МРВИ и РВИ/БИ диарея с такой частотой наблюдалась только у 11,83±2,49% и 10,38±2,98% пациентов соответственно, хотя различия оказались недостоверными. В то же время, длительная диарея (>6 дней) чаще регистрировалась при РВИ/БИ (28,3±4,4%) по сравнению с РВИ/СП (18,07±4,25%) и МРВИ (7,69±2,06%).

В большинстве случаев независимо от сопутствующих факторов ротавирусная инфекция сопровождалась повышением температуры, однако у 2,9-7,2% она оставалась нормальной (табл. 1). Более высокая и длительная лихорадка была характерна для внебольничной инфекции ( $p<0,05$ ), что, вероятно, связано с более ранним применением жаропонижающих средств и дезинтоксикационной терапии в условиях стационара.

Рвота регистрировалась у 94,25±1,77% пациентов при моноинфекции и только у 75,5-79,5% пациентов двух других групп ( $p<0,001$ ). При моноинфекции она чаще сохранялась более длительно и чаще, чем в других группах, являлась начальным симптомом заболевания.

Катаральный синдром регистрировался с одинаковой частотой у двух групп пациентов при внебольничной инфекции (46,55-50,94%) и значительно реже при возникновении ротавирусной инфекции на фоне имевшейся сопутствующей патологии (15,66±4,01%,  $p<0,0001$ ). Частое отсутствие катарального синдрома у пациентов с РВИ/СП, по нашему мнению, может быть объяснено манифестацией носитель-

ства ротавируса на фоне других инфекционных или соматических заболеваний, что подтверждается отмеченным в литературе частым вирусоносительством среди детей младшего возраста (4,4-20%) [12], а также полученными нами результатами исследований кала у 102 детей в возрасте от 0 до 3 лет, госпитализированных в стационар с соматической и инфекционной патологией, не сопровождающейся симптомами поражения ЖКТ. Выделение антигена ротавируса было выявлено у 9,8±2,96% обследованных.

Несмотря на сочетанную вирусно-бактериальную природу заболевания, лейкоцитоз регистрировался нами только у 7,55±2,58%, а ускорение СОЭ у 34,91±4,65% пациентов с РВИ/БИ, однако, уровень ее повышения значительно превышал таковой у детей с моноинфекцией. При РВИ, возникшей в стационаре, умеренный лейкоцитоз и повышение СОЭ регистрировались чаще (53,01±5,51%), что, на наш взгляд, обусловлено наличием фонового заболевания.

Среди пациентов с ротавирусной инфекцией, развившейся в стационаре, в 43,37±5,47% она возникла на фоне уже имевшихся других кишечных инфекций, в 48,19±5,52% случаев - на фоне респираторных инфекций, в 8,43±3,07% – на фоне соматической патологии. Более чем у половины пациентов (51,81±5,52%) РВИ развивалась во время пребывания ребенка в стационаре на 4-5 день от момента госпитализации, у 48,19±5,22% детей – в течение 1-2 дней после выписки из стационара.

У 40,96±5,43% пациентов РВИ/СП протекала в виде смешанной ротавирусно-бактериальной кишечной инфекции.

Более детальный анализ позволил установить отличия в течение РВИ/СП развившейся на фоне ОКИ или острой респираторной инфекции (ОРИ). Лихорадка в первые сутки заболевания регистрировалась чаще при наложении ротавирусной инфекции на другую кишечную инфекцию, чем на респираторные инфекции - 72,22±7,57% vs 55,55±7,97% случаев соответственно. В свою очередь, при

инфицировании на фоне ОРИ рвота в первые сутки заболевания появлялась чаще ( $72,50 \pm 7,15\%$  vs  $55,56 \pm 8,40\%$  случаев соответственно,  $p < 0,05$ ). Достоверно чаще вовлечение в процесс толстого кишечника наблюдалось при наслоении ротавирусной инфекции на другие ОКИ ( $63,89 \pm 8,12\%$  vs  $45,00 \pm 7,97\%$  во II и I группах соответственно,  $p < 0,01$ ), хотя гемоколит встречался с одинаковой частотой в обеих сравниваемых группах ( $8,33 \pm 4,67\%$  и  $7,50 \pm 4,22\%$ ). В этой же группе чаще, чем при наслоении на ОРИ, регистрировались и изменения в копрограмме, отражающие наличие инвазивной диареи ( $61,11 \pm 8,24\%$  vs  $12,50 \pm 5,30\%$  соответственно). Тяжелые формы заболевания регистрировались с одинаковой частотой в обеих группах, однако более выраженная и продолжительная температурная реакция наблюдалась у детей при наслоении ротавирусной инфекции на другие ОКИ. У большинства пациентов в обеих группах нормализация температуры тела произошла не позже вторых суток. Частота и длительность диареи в сравниваемых группах достоверно не отличалась.

Особенности клинического течения имела и внутрибольничная инфекция, развившаяся на фоне соматической патологии, при этом начало заболевания носило более острый характер, у подавляющего большинства пациентов регистрировалась лихорадка выше  $38^\circ\text{C}$ , у всех пациентов наблюдались рвота и диарея, однако заболевание редко сопровождалось поражением толстого кишечника и характеризовалось кратковременностью с исчезновением симптомов заболевания на 4-5 день болезни.

В настоящее время практическая медицина не располагает препаратами, обладающими специфическим антиротавирусным действием, поэтому базовыми элементами комплексной терапии ротавирусного гастроэнтерита являются лечебное питание и патогенетическая терапия.

Нами проведен анализ клинической эффективности различных схем патогенетической терапии, рекомендуемых и наиболее часто используемых для лечения

ОКИ у детей. Все пациенты при поступлении в стационар получали базисную терапию, которая включала в себя диетическое низколактозное питание, оральную или парентеральную регидратацию. Для оценки клинической эффективности патогенетической терапии, пациентам с клиникой водянистой диареи рандомизированно назначалась одна из 4 схем патогенетической терапии. Пациенты, у которых диагноз ротавирусной инфекции в последующем не подтверждался лабораторно или была установлена сочетанная инфекция, исключались из групп сравнения. В результате пациенты были разделены на 4 группы: I группа – 41 ребенок получал базисную терапию; II группа – 25 пациентов получали базисную терапию и энтеросорбент; III группа – 58 пациентов получали базисную терапию, энтеросорбент и пробиотик; IV группа – 22 пациента получали базисную терапию, энтеросорбент, пробиотик и ферментный препарат.

Группы пациентов были сопоставимы по возрасту, преморбидному фону, тяжести течения заболевания, срокам назначения терапии.

Как показал анализ, включение в схему лечения РВИ в дополнение к инфузионной терапии энтеросорбента позволило достоверно сократить длительность диареи. Так, средняя длительность диареи в группе пациентов, получавших только регидратацию составила 4,09 дня (95% ДИ  $3,60 \dots 4,59$ ), в то время как в группе, получавших в схеме терапии наряду с регидратацией энтеросорбент 3,09 дня (95% ДИ  $2,60 \dots 3,59$ ) (табл. 2). В динамике исчезновения лихорадки и рвоты достоверных различий не было, хотя наблюдалась тенденция к более раннему их купированию, а также отмечались некоторые другие положительные симптомы по сравнению контрольной группой на вторые сутки после приема энтеросорбента: менее выраженным было вздутие живота, урчание по ходу кишечника, наблюдалась тенденция к нормализации стула в виде уменьшения его кратности и объема, появления каловых масс.



Таблица 2

**Сравнительная характеристика динамики купирования основных клинических симптомов ротавирусной инфекции у детей, получавших различные схемы терапии**

Симптомы	I группа n=41	II группа n=25	III группа n=58	IV группа n=22
Длительность рвоты, mean, дней (95% ДИ)	1,96 (1,65...2,29)	1,18 (1,0...1,36)	1,59 (1,32...1,87)	1,59 (1,14...2,04)
Длительность лихорадки, mean, дней (95% ДИ)	2,75 (2,31...3,18)	2,21 (1,90...2,51)	2,08 (1,77...2,39)	2,19 (1,54...2,84)
Длительность диареи, mean, дней (95% ДИ)*	4,09 (3,60...4,59)	3,09 (2,60...3,57)	3,46 (3,09...3,82)	3,30 (2,75...3,85)
Длительность инфузионной терапии, mean, дней (95% ДИ)	2,81 (2,38...3,22)	2,40 (2,04...2,76)	2,65 (2,37...2,92)	2,77 (2,34...3,20)

Примечание: \* -  $p < 0,01$  при сравнении I группы и II группы,  $p < 0,05$  при сравнении I группы и III группы,  $p < 0,05$  при сравнении I группы и IV группы.

При анализе продолжительности основных клинических симптомов установлено, что включение в базисную схему патогенетической терапии РВИ пробиотика и панкреатина не способствовало более быстрой динамике их купирования. Во всех сравниваемых группах не было обнаружено достоверных различий в сроках нормализации температуры тела, прекращения рвоты и диареи.

Как отмечено выше, при ротавирусной инфекции часто наблюдаются признаки инвазивной диареи, вызванной присоединением бактериальной флоры. При этом проведенный нами анализ показал, что при инвазивных формах смешанной ротавирусно-бактериальной инфекции, протекающей без гемоколита у  $64,52 \pm 8,74\%$  находящихся под нашим наблюдением пациентов первого года жизни, и у  $73,53 \pm 7,68\%$  детей старше года, получающих только базовую патогенетическую терапию, диарея купировалась самостоятельно. При этом у пациентов с прогрессированием симптомов инвазивной диареи и

утяжелением течения заболевания, потребовавшим назначения антибиотика на 3-и и позже сутки от начала болезни, в этиологической структуре смешанной ротавирусно-бактериальной инфекции у детей до года преобладал *S.aureus* ( $81,82 \pm 12,2\%$ ), а у пациентов возрастной группы старше года - патогенная флора (в  $77,78 \pm 14,7\%$  - *Salmonella* spp.).

Следует отметить, что у детей первого года жизни преобладающими в этиологической структуре смешанной ротавирусно-бактериальной инфекции, протекающей с гемоколитом, в равной степени являются представители условно-патогенной (в  $42,86 \pm 8,49\%$  случаев - *S.aureus*, в  $8,57 \pm 4,80\%$  другие представители условно-патогенной флоры - *P.mirabilis*, *P.vulgaris*, *K.pneumoniae*, *E.coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp.) и патогенной флоры (в  $34,29 \pm 8,14\%$  - *Salmonella* spp. и у  $14,29 \pm 6,0\%$  *Campylobacter* spp. соответственно), а у детей старше года преобладают представители патогенной флоры (*Salmonella*

spp –  $64,52 \pm 8,74\%$ , *Campylobacter* spp –  $22,58 \pm 7,63\%$ ).

Анализ этиологической структуры РВИ/СП, протекающей с признаками инвазивной диареи, показал, что у  $81,82 \pm 8,42\%$  пациентов, у которых РВИ/СП развилась на фоне другой кишечной инфекции, из кала продолжала выделяться флора, являющаяся причиной первичной госпитализации пациента в кишечное отделение. В случае же смешанной РВИ/СП, протекающей на фоне другой сопутствующей патологии, причинными бактериальными этиологическими агентами диареи в 100,0% явились представители условно-патогенной флоры (в  $41,67 \pm 14,8\%$  *S.aureus*, а в  $58,33 \pm 14,8\%$  - другая условно-патогенная флора - *P.mirabilis*, *P.vulgaris*, *K.pneumoniae*, *E.coli*, *Citrobacter* spp., *Enterobacter* spp., *Ps.aeruginosae*).

Таким образом, у пациентов с сочетанной ротавирусно-бактериальной инфекцией, протекающей с симптомами инвазивной диареи при отсутствии явления гемоколита, назначение антибактериальной терапии может быть ограничено только пациентами, у которых имеется отсутствие эффекта на фоне патогенетической терапии. Выбор антибактериальной терапии в этом случае может определяться с учетом выделенной бактериальной флоры, а при ее отсутствии возрастом пациента и наиболее вероятным возбудителем, которым является *S.aureus* у детей первого года жизни, и *Salmonella* spp. у пациентов старше года. При наличии гемоколита у детей старше года антибактериальная терапия должна определяться активностью в отношении сальмонеллы и кампилобактера, а у детей первого года жизни быть достаточно активной и в отношении золотистого стафилококка. При возникновении ротавирусной инфекции в условиях стационара выбор антибактериальной терапии при наличии показаний к ее назначению определяется бактериальным возбудителем предшествующей ОКИ или чувствительностью условно-патогенной флоры при наложении ротавирусной инфекции на ОРИ.

## Заключение

1. У  $37,86 \pm 2,9\%$  пациентов с ротавирусной инфекцией в бактериологических посевах кала выделялись один или более бактериальных агентов, которые оказывали влияние на течение ротавирусной инфекции, изменяя клиническую картину и затрудняя диагностику заболевания.

2. При сочетанной ротавирусно-бактериальной инфекции достоверно чаще по сравнению с моноротавирусной инфекцией наблюдались явления колита, более выраженная и длительная температурная реакция, у  $55,66 \pm 4,85\%$  пациентов имели место копрологические изменения, отражающие наличие инвазивной диареи и воспалительного процесса в толстом кишечнике, у  $11,32 \pm 3,09\%$  детей регистрировался гемоколит.

3. Доля ротавирусной инфекции, развившейся в условиях стационара, составляет  $38,8 \pm 3,34\%$  в общей структуре ротавирусной инфекции, у  $40,96 \pm 5,43\%$  пациентов она протекала в виде смешанной ротавирусно-бактериальной кишечной инфекции, преимущественно в сочетании с условно-патогенной флорой и по своему клиническому течению была близка к смешанной ротавирусно-бактериальной инфекции с внебольничным инфицированием.

4. Включение в базовую схему патогенетической терапии ротавирусной инфекции пробиотика и ферментного препарата не способствует более быстрой динамике купирования симптомов инфекции по сравнению с базовой терапией, включающей диету, регидратацию и энтеросорбент.

5. Показания к назначению и выбор антибактериальной терапии при сочетанной ротавирусно-бактериальной инфекции должен определяться наличием признаков инвазивной диареи, возрастом ребенка, условиями возникновения инфекции и чувствительностью к антибиотикам наиболее вероятной бактериальной флоры.

## Литература

1. Rotavirus and severe childhood diarrhea / U. D. Parashar [et al.] // *Emerg. Infect. Dis.* - 2006. – Vol.

12. – Р. 304-306.
2. Ротавирусная инфекция в Республике Беларусь: Характеристика эпидемического процесса, оценка бремени заболевания и структура G-P популяции возбудителя / В.Г. Гудков [и др.] // *Здравоохранение*. — 2010. - № 11. - С. 28—33.
  3. Ляховская, Н.В. Эпидемиологические особенности ротавирусной инфекции / Н.В. Ляховская // *Актуальные вопросы медицины и фармации: материалы 65-ой итоговой научно-практической конференции студентов и молодых ученых*. Витебск, ВГМУ, 24-25 апреля 2013 / МЗ РБ, Витебский государственный медицинский университет ; редкол.: С.А. Сушков [и др.] - Витебск, 2013. - С. 449-451.
  4. Hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis among European children younger than 5 years of age / J. Forster [et al.] // *Pediatrics*. - 2009. – Vol. 123. – P. 393-400.
  5. Hospitalizations and Deaths from Diarrhea and Rotavirus among Children <5 Years of Age in the United States, 1993–2003 / Т.К. Fischer [et al.] // *Journal of Infectious Diseases*. - 2007. – Vol. 195. – P. 1117-1125.
  6. Ротавирусная инфекция у детей / А.А. Ключаева [и др.] // *Мед. новости*. - 2002. — № 5. - С. 6-12.
  7. Воротынцева, Н. В. Острые кишечные инфекции у детей / Н.В. Воротынцева, Л.Н. Мазанкова – М. : Медицина, 2001. – С. 266-277.
  8. Giaquinto, C. The paediatric burden of rotavirus disease in Europe / C. Giaquinto // *Epidemiol Infect.* – 2006. – Vol. 134, № 5. – P. 908-916.
  9. Impact of Rotavirus Vaccination on Hospital-Acquired Rotavirus Gastroenteritis in Children / E.J. Anderson [et al.] // *Pediatrics*. - 2011. – Vol. 127, № 2. – P. 264-270.
  10. The percentage of nosocomial-related out of total hospitalizations for rotavirus gastroenteritis and its association with hand hygiene compliance / O.Waisbourd-Zinman [et al.] // *Am J Infect Control*. - 2011. – Vol. 39, № 2. – P. 166-168.
  11. Nosocomial rotavirus gastroenteritis in a Canadian paediatric hospital: incidence, disease burden and patients affected / P.Verhagen [et al.] // *Journal of Hospital Infection*. - 2011. – Vol. 79, № 1. – P. 59-63.
  12. Symptomatic and asymptomatic infections of rotavirus, norovirus, and adenovirus among hospitalized children in Xian, China / S. Zhang [et al.] // *J Med Virol*. - 2011. – Vol. 83, № 8. – P. 1476-1484.

*Поступила 04.07.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

#### **Сведения об авторах:**

Ляховская Н.В. - ассистент кафедры инфекционных болезней УО «ВГМУ».



© СОЛКИН А.А., 2013

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ИНТЕРВАЛЬНОЙ НОРМОБАРИЧЕСКОЙ ГИПОКСИТЕРАПИИ У ПАЦИЕНТОВ С ИШЕМИЧЕСКИМ ИНСУЛЬТОМ В ВОССТАНОВИТЕЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

СОЛКИН А.А.

*УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра неврологии и нейрохирургии*

**Резюме.** Интервальная нормобарическая гипокситерапия (ИНГ) была применена в комплексном лечении у 46 пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде. Контрольную группу составили 52 пациента, перенесших ишемический инсульт, получавших стандартную терапию. Использование ИНГ в комплексном лечении приводило к усилению мощности альфа-колебаний, бета-1-колебаний и уменьшению мощности дельта-колебаний, что свидетельствовало о достоверном улучшении функционального состояния головного мозга пациентов.

Применение интервальной нормобарической гипокситерапии у пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде в середине курса лечения (начальной стадии адаптации к гипоксии) вызывало напряжение компенсаторных механизмов, т.е. увеличение концентрации в сыворотке крови стресс-гормона кортизола. По окончании курса лечения наблюдалось восстановление гормонального статуса до исходных значений, что свидетельствовало о сформировавшейся адаптации к гипоксии.

*Ключевые слова:* восстановительный период ишемического инсульта, интервальная нормобарическая гипокситерапия.

**Abstract.** Interval normobaric hypoxotherapy (INH) was used in complex treatment of 46 patients with ischemic stroke during the recovery period. The control group consisted of 52 patients who had survived ischemic stroke and were given standard therapy. The use of INH in complex treatment led to the increase of spectral power of alpha activity, beta-1 activity and to the decrease of spectral power of delta activity that was indicative of a significant improvement of the functional state of the patients brain.

The use of interval normobaric hypoxotherapy in patients with ischemic stroke during the recovery period in the middle of the treatment course (initial stage of adaptation to hypoxia) caused compensatory mechanisms tension, that is, an increase in the concentration of the stress-hormone cortisol in the blood serum. At the end of the course of treatment restoration of the hormonal status to the base-line values was observed that testified to the formed adaptation to hypoxia.

*Key words:* recovery period of ischemic stroke, interval normobaric hypoxotherapy.

**В** последнее время для оценки функционального состояния мозга в норме и при патологии применяется спек-

тральный анализ ЭЭГ, который позволяет получить тонкую характеристику частотного состава ЭЭГ в количественных величинах. На спектрограммах отражается мощность или амплитуда частотных составляющих ЭЭГ за данный исследуемый отрезок времени. Это дает возможность определить соотношение разных ритмов, составляющих ЭЭГ, и выявить те частоты, которые не определяются при визуальном анализе в связи с

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра неврологии и нейрохирургии. Тел.моб.: +375 (025) 943-54-03. E-mail: solkinsa@mail.ru – Солкин Александр Александрович.

их малой амплитудой или замаскированностью другими ритмами. Поэтому большой интерес представляет изучение изменений функционального состояния головного мозга у пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде под влиянием интервальной нормобарической гипокситерапии (ИНГ) с помощью количественного спектрального анализа ЭЭГ [1, 2, 3]. В то же время влияние ИНГ на гормональный статус пациентов, перенесших ишемический инсульт, также остается малоизученным.

Целью исследования было оценить изменения спектра мощности ЭЭГ и гормонального статуса у пациентов в восстановительном периоде ишемического инсульта под влиянием ИНГ.

### Методы

Интервальная нормобарическая гипокситерапия была применена в комплексном лечении наряду с медикаментозной патогенетической терапией (дезагреганты, нейропротекторы, сосудорегулирующие препараты), физиотерапией, ЛФК, массажем у 46 пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде (16 пациентов в правом каротидном бассейне, 19 – в левом каротидном бассейне, 11 – в вертебрально-базилярном бассейне). Контрольную группу составили 52 пациента с ишемическим инсультом в восстановительном периоде (17 пациентов в правом каротидном бассейне, 19 – в левом каротидном бассейне, 16 – в вертебрально-базилярном бассейне), получавших стандартную терапию. Группы пациентов были сопоставимы по полу, возрасту и степени выраженности клинической симптоматики.

Всем пациентам проводили запись ЭЭГ на компьютерном электроэнцефалографе Нейрон-Спектр-4/ВП фирмы Нейрософт (г. Иваново, Россия). Использовали международную систему установки электродов «10-20%» (монтаж «монополярный 16»). Два референтных (пассивных) электрода располагали на мочках ушей ипсилатерально (А1 и А2), заземляющий электрод – в области лба. Применяли

фильтры верхних частот – 0,5 Гц, нижних частот – 35 Гц. Пациенты находились сидя в кресле, в расслабленной позе, с закрытыми глазами. ЭЭГ регистрировалась в течение не менее 5 минут. Для проведения спектрального анализа с помощью программы электроэнцефалографа «Нейрон-Спектр.NET» выбирали не содержащие артефакты 8-10 эпох анализа по 5,12 секунд. Параметры спектральной мощности рассчитывали для каждого диапазона ЭЭГ: дельта (0,5-3,9 Гц), тета (4,0-7,9 Гц), альфа (8,0-12,9 Гц), бета-1 (13,0-19,9 Гц) и бета-2 (20,0-40,0 Гц) [2]. Пациенты обследовались утром, до приема лекарственных средств до и после курса лечения.

До начала курса ИНГ пациентам проводили гипоксический тест (вдыхание гипоксической смеси в течение 10 минут) с целью оценки переносимости гипоксии. Сама процедура ИНГ осуществлялась в циклически-фракционном режиме: в течение 5 минут через кислородную маску пациенты вдыхали гипоксическую газовую смесь, содержащую 10-12 % кислорода в азоте при нормальном атмосферном давлении. Затем следовал 5-минутный интервал, во время которого пациенты дышали атмосферным воздухом (содержание кислорода 20,9 %). Один сеанс ИНГ включал 6 таких циклов дыхания гипоксической газовой смесью. Общее время гипоксического воздействия составляло 30 минут. Курс лечения состоял из 12-15 сеансов, которые проводили ежедневно. Для получения нормобарической гипоксической газовой смеси с регулируемой концентрацией кислорода использовали мембранную газоразделительную установку волоконного типа фирмы «Био-Нова-204».

Гормональный статус проанализирован у 12 пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде, получавших курс интервальной нормобарической гипокситерапии (ИНГ). Радиоиммунным методом определяли в сыворотке крови содержание следующих гормонов: трийодтиронина, тироксина, тиреотропного гормона (ТТГ), кортизола. Исследования проводили до начала, в середине (5-6 день) и по окончании курса лечения.

Сравнение данных до и после лечения проводили с помощью теста Вилкоксона. За уровень статистической значимости принимали  $p < 0,05$ . Статистический анализ полученных данных выполнен с помощью программы STATISTICA 6.0 [4].

### Результаты и обсуждение

Проведенный перед курсом ИНГ гипоксический тест не выявил индивидуальной непереносимости кислородной недостаточности ни у одного пациента. При проведении сеансов ИНГ какие-либо новые жалобы, побочные реакции, нежелательные явления не были зафиксированы.

У пациентов с ишемическим инсультом в правом каротидном бассейне по окончании курса ИНГ (по сравнению с данными до начала лечения) наблюдалось статистически достоверное снижение мощности дельта-колебаний во всех отведениях ( $p < 0,05$ ) за исключением левого теменного (P3A1) и затылочных отведений, а также снижение мощности тета-колебаний в левом передне-лобном отведении (Fp1A1) ( $p = 0,03$ ). Наряду с этим отмечалось достоверное повышение спектральной мощности альфа-колебаний с акцентом на левое передне-височное ( $p = 0,04$ ) и теменные отведения ( $p = 0,03$ ). Кроме того, имелась тенденция усиления мощности альфа-колебаний в левом задне-лобном, левом центральном, правом передне-височном, задних височных, затылочных отведениях. Спектральная мощность бета-1-колебаний достоверно увеличилась только в правом теменном отведении ( $p = 0,02$ ). Мощность спектра бета-2-колебаний в большинстве отведений достоверно не изменялась, только в правом затылочном отведении отмечалось некоторое достоверное снижение его мощности ( $p = 0,02$ ).

В группе сравнения на фоне стандартной терапии у пациентов с ишемическим инсультом в правом каротидном бассейне к концу курса лечения отмечалась статистически достоверное снижение мощности дельта-колебаний только в отведении F7A1 ( $p = 0,02$ ), а в передне-лобных

и левом средне-лобном отведениях в данном диапазоне колебаний имелась лишь тенденция к снижению. Статистически значимых изменений спектра мощности ЭЭГ в диапазонах альфа-, тета-, бета-1- и бета-2-колебаний не было выявлено.

У пациентов, перенесших ишемический инсульт в левом каротидном бассейне, получавших курс ИНГ, мощность спектра в диапазоне дельта-колебаний достоверно уменьшалась практически во всех отведениях ( $p < 0,05$ ), за исключением отведений T5A1, P3A1, O2A2 и O1A1. Спектральная мощность тета-колебаний достоверно не изменялась. Мощность в диапазоне альфа-колебаний достоверно усилилась в отведениях Fp2A2 ( $p = 0,04$ ), F4A2 ( $p = 0,02$ ), C3A1 ( $p = 0,01$ ), T4A2 ( $p = 0,04$ ), T3A1 ( $p = 0,04$ ), O2A2 ( $p = 0,05$ ), O1A1 ( $p = 0,04$ ). Мощность спектра низкочастотных бета-колебаний достоверно увеличилась в отведениях F4A2 ( $p = 0,004$ ), C3A1 ( $p = 0,03$ ), T6A2 ( $p = 0,03$ ). Мощность же высокочастотных бета-колебаний уменьшилась в отведении C4A2 ( $p = 0,03$ ).

В группе же пациентов, перенесших инсульт в левом каротидном бассейне и получавших стандартную терапию, к концу курса лечения статистически достоверных изменений спектральной мощности в диапазонах дельта-, тета- и альфа-колебаний не было выявлено. Отмечалась лишь тенденция к увеличению спектральной мощности альфа-колебаний и уменьшению мощности дельта-колебаний. В диапазоне бета-1-колебаний имелось снижение мощности в отведениях T6A2 ( $p = 0,03$ ), O1A1 ( $p = 0,04$ ), в диапазоне бета-2 – изменений не было выявлено.

При применении ИНГ у пациентов с ишемическим инсультом в вертебрально-базиллярном бассейне мощность дельта-колебаний статистически достоверно уменьшилась в левом лобно-полюсном (Fp1A1), левом лобном (F3A1), левом нижнелобном (F7A1), центральных (C4A2 и C3A1), левом височном (T3A1) и левом теменном (P3A1) отведениях (рис. 1). В диапазоне тета- и бета-2-колебаний изменений не было выявлено. Мощность альфа-колебаний значительно усилилась в задневисочных

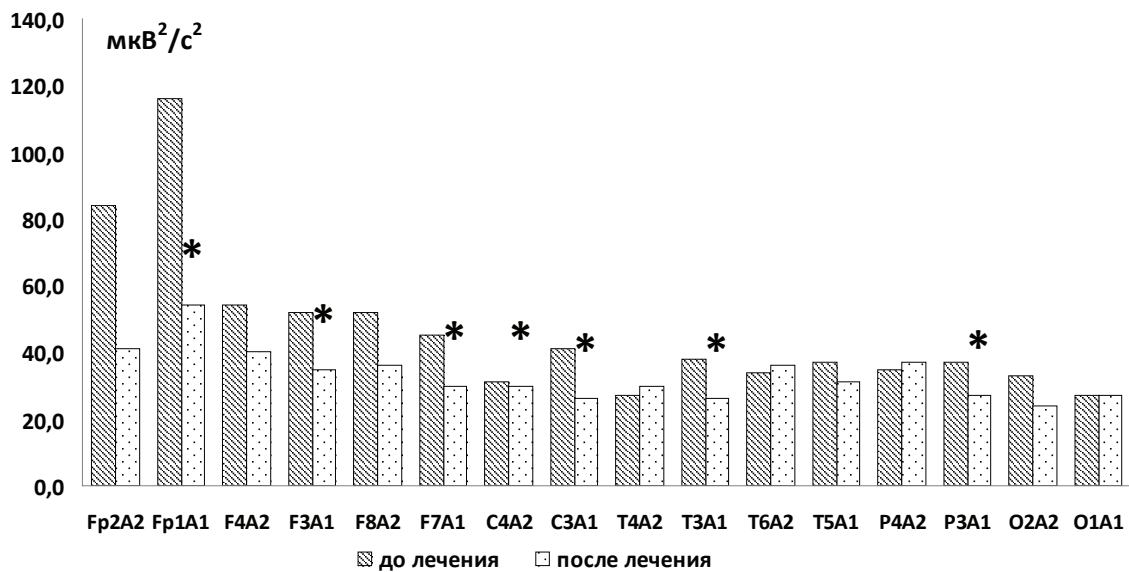


Рис. 1. Динамика изменений мощности дельта-колебаний у пациентов с вертебрально-базиллярным ишемическим инсультом при применении в комплексном лечении ИНГ. Примечание: \* – различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ).

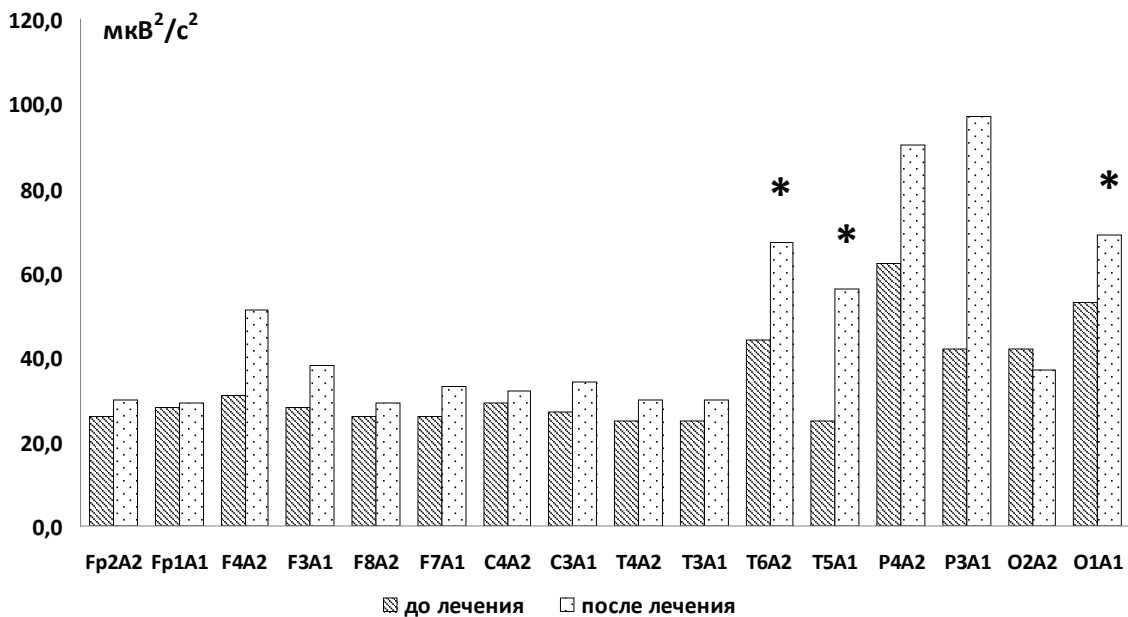


Рис. 2. Динамика изменений мощности альфа-колебаний у пациентов с вертебрально-базиллярным ишемическим инсультом при применении в комплексном лечении ИНГ. Примечание: \* – различия статистически достоверны ( $p < 0,05$ ).

и левом затылочном отведениях (рис. 2). Спектральная мощность бета-1-колебаний достоверно увеличилась в правом задневисочном (Т6А2) и правом теменном (Р4А2) отведениях.

В контрольной группе (пациенты с ишемическим инсультом в вертебрально-

базиллярном бассейне, которые получали стандартную терапию) к концу курса лечения отмечалось статистически значимое снижение мощности дельта-колебаний в левых лобном полюсном и лобном отведениях. Имелась тенденция к увеличению альфа-колебаний в отведениях С4А2,

T6A2, T5A1, O2A2, O1A1. Мощность спектра в диапазоне бета-1-, бета-2- и тета-колебаний достоверно не изменялась.

При исследовании гормонального статуса полученные данные свидетельствовали о достоверном возрастании в сыворотке крови уровня кортизола в середине курса комплексного применения ИНГ у пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде. В конце курса лечения у данных пациентов наблюдалось снижение уровня кортизола до исходных значений. Помимо этого, в середине курса лечения выявлено достоверное снижение в сыворотке крови уровня тироксина при одновременном возрастании уровня тиротропного гормона. К концу курса лечения уровни указанных гормонов достоверно не отличались от исходных значений. Статистически достоверных изменений содержания трийодтиронина в сыворотке крови не происходило (табл. 1).

Таким образом, использование ИНГ к концу курса лечения приводило к улучшению спектрально-мощностных показателей ЭЭГ: усилению мощности альфа-колебаний, бета-1-колебаний и уменьшению мощности дельта-колебаний. При этом в группе пациентов, получавших в комплексном лечении курс ИНГ, наблюдалось более значительное уменьшение головных болей, головокружения, шаткости при ходьбе, утомляемости, «чувства тяжести в голове», улучшение параметров физического здоровья, когнитивных функций,

настроения, способности физически двигаться по сравнению с пациентами, которые принимали стандартную терапию. На фоне ИНГ у многих пациентов происходила постепенная нормализация уровня артериального давления при применении более низких доз гипотензивных препаратов.

Увеличение мощности альфа-колебаний у пациентов под действием ИНГ, вероятно, связано с улучшением кровообращения в головном мозге, так как, исходя из литературных данных, под влиянием адаптации к гипоксии происходит увеличение плотности микроциркуляторного русла в мозге, а альфа-активность более чувствительна к изменению регионарного кровотока и содержанию кислорода [5-10]. Усиление альфа-активности внезатылочной локализации к концу курса ИНГ объясняется повышением активности нейронов диэнцефально-стволового уровня и появлением другой доминирующей активности [2, 11]. Увеличение средней мощности бета-1-колебаний, возможно, отражает адаптационные реакции со стороны восходящей активирующей системы головного мозга. Уменьшение дельта-активности под влиянием ИНГ практически во всех отведениях свидетельствует об улучшении нейрометаболизма как в интактном, так и в пораженном полушарии, а также на мезэнцефальном уровне [2]. Изменения средней мощности в диапазонах бета-2- и тета-колебаний были незначительными.

Представленные данные показывают, что в начальные сроки адаптации к пери-

Таблица 1

**Динамика изменений содержания гормонов в сыворотке крови пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде под влиянием ИНГ**

Гормоны	До начала лечения	В середине курса лечения	По окончании курса лечения
Кортизол, нмоль/л	239,8 (204,0; 324,2)	427,9 (369,9; 476,9)*	271,1 (227,4; 326,7)
Тироксин, нмоль/л	137,7 (132,3; 147,5)	120,2 (113,4; 128,1)*	135,5 (128,6; 146,5)
Трийодтиронин, нмоль/л	2,4 (2,3; 2,6)	2,6 (2,5; 2,8)	2,5 (2,3; 2,7)
ТТГ, мМЕ/л	3,0 (2,5; 3,4)	4,6 (4,1; 5,2)*	3,1 (2,4; 3,2)

Примечание: \* –  $p < 0,05$  по сравнению с исходными показателями.



одической гипоксии (через 5-6 сеансов гипоксического воздействия) происходят изменения гормонального статуса пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде, характерные для общего адаптационного синдрома, т.е. увеличение содержания в сыворотке крови кортизола, концентрация которого к концу курса лечения полностью восстанавливается до исходных значений. Со стороны реакции щитовидной железы на гипоксическое влияние выявлено типичное для стрессорных воздействий снижение уровня тироксина в сыворотке крови. Параллельно со снижением тироксина по принципу обратной связи происходит увеличение содержания тиреотропного гормона [12, 13, 14].

### Заключение

Комплексное использование интервальной нормобарической гипокситерапии у пациентов, перенесших ишемический инсульт, приводит к усилению мощности альфа-колебаний, бета-1-колебаний и уменьшению мощности дельта-колебаний, что свидетельствует о достоверном улучшении функционального состояния головного мозга по данным спектрального анализа ЭЭГ.

Применение интервальной нормобарической гипокситерапии у пациентов с ишемическим инсультом в восстановительном периоде в середине курса лечения (начальной стадии адаптации к гипоксии) вызывает напряжение компенсаторных механизмов, т.е. увеличение концентрации в сыворотке крови стресс-гормона кортизола. По окончании курса лечения наблюдается восстановление гормонального статуса до исходных значений, что свидетельствует о сформировавшейся адаптации к гипоксии.

### Литература

1. Биоэлектрическая активность головного мозга при различных аффективных расстройствах у больных с церебральным инсультом / Е.А. Петрова [и др.] // Жур. неврол. и психиатрии. – 2010. – № 6. – С. 77-85.
2. Иванов, Л.Б. Прикладная компьютерная электроэнцефалография / Л.Б. Иванов. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ПБОЮЛ Т.М. Андреева, 2004. – 352 с.
3. QEEG prognostic value in acute stroke / E. Cuspineda [et al.] // Clin. EEG Neurosci. – 2007. – V. 38 (3). – P. 155-160.
4. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: МедиаСфера, 2002. – 312 с.
5. Effect of chronic continuous or intermittent hypoxia and reoxygenation on cerebral capillary density and myelination / Amjad Kanaan [et al.] // J. Physiol. Regulatory Integrative Comp. Physiol. – 2006. – № 290. – P. 1105-1114.
6. Expression of hypoxia-inducible factor-1 in the brain of rats during chronic hypoxia / J.C. Chavez [et al.] // J. Appl. Physiol. – 2000. – Vol. 89. – P. 1937-1942.
7. Increased brain capillaries in chronic hypoxia / A. Jaime [et al.] // J. Appl. Physiol. – 1999. – Vol. 86. – P. 1211-1219.
8. Kui Xu. Chronic hypoxia and the cerebral circulation / Kui Xu, Joseph C. LaManna // J. Appl. Physiol. – 2006. – Vol. 100. – P. 725-730.
9. LaManna, J.C. Brain adaptation to chronic hypobaric hypoxia in rats / J.C. LaManna, L.M. Vendel, R.M. Farrell // J. Appl. Physiol. – 1992. – Vol. 72. – P. 2238-2243.
10. Ward, N.L. Cerebral angiogenic factors, angiogenesis and physiological response to chronic hypoxia differ among four commonly used mouse strains / N.L. Ward, E. Moore, K. Noon // J. Appl. Physiol. – 2007. – Vol. 102. – P. 1927-1935.
11. Клиническая психология и психофизиология. Учебное пособие / Г.М. Яковлев [и др.]; под ред. Г.М. Яковлева. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2003. – 296 с.
12. Городецкая, И.В. Зависимость эффективности адаптации к теплу от тиреоидного статуса организма / И.В. Городецкая // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. – 2000. – № 3. – С. 116-120.
13. Завьялов, А.В. Адаптация и защитные функции организма / А.В. Завьялов, В.М. Смирнов // Нормальная физиология: учебник; под ред. А.В. Завьялова, В.М. Смирнова. – М.: Медпресс-информ, 2009. – С.794-798.
14. Щербатых, Ю.В. Психология стресса и методы коррекции / Ю.В. Щербатых. – 2-е изд. – СПб.: Питер, 2012. – 256 с.

Поступила 29.04.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Солкин А.А. – аспирант кафедры неврологии и нейрохирургии УО «ВГМУ».

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

## АКАНТОЛИТИЧЕСКАЯ ВУЛЬГАРНАЯ ПУЗЫРЧАТКА, ВЕГЕТИРУЮЩАЯ ФОРМА АЛЛОПО

ДРАГУН Г.В., СОХАР С.А., АБДЕЛЬ МАЛАК ВАЛИД

УО «Гомельский государственный медицинский университет»,  
курс дерматовенерологии кафедры внутренних болезней №3

**Резюме.** Описано клиническое наблюдение пациента с вегетирующей пузырьчаткой Аллопо. Дан литературный обзор по этиологии, патогенезу, клиническим проявлениям, диагностики и лечению данной патологии.

**Ключевые слова:** акантолитическая вульгарная пузырьчатка, вегетирующая форма Аллопо, клиника, диагностика, лечение.

**Abstract.** Clinical observation of a patient with pemphigus vegetans Hallopeau type has been described. Literature review regarding etiology, pathogenesis, clinical manifestations, diagnosis and treatment of this disease has also been done.

**Key words:** pemphigus vulgaris acantholysis, pemphigus vegetans Hallopeau type, clinical picture, diagnosis, treatment.

**А**кантолитическая пузырьчатка, или пемфигус, относится к группе аутоиммунных пузырных заболеваний кожи и слизистых, гистологической характеристикой которых являются эпидермальные пузыри, обусловленные акантолизом, а иммунологическим признаком – связанный *in vivo* циркулирующий иммуноглобулин G, направленный против клеточной поверхности кератиноцитов [1].

История открытия пузырьчатки и её разновидностей изложена в монографии Левра «Pemphigus and pemphigoid» [1]. В 1886 г. G. Neumann из группы истинной пузырьчатки выделил вегетирующую пузырьчатку, а в 1898 г. H. Hallopeau описал вегетирующую пиодермию, которые не-

которые авторы стали рассматривать как измененную форму вегетирующей пузырьчатки. W.F. Lever, G. Schaumburg-Lever (1983) рассматривают вегетирующую пузырьчатку как вариант вульгарного пемфигуса, выделяя в ней классическую форму (тип Ноймана) и доброкачественную (тип Аллопо) [2].

Нозология пузырьчатки приведена в таблице 1 [1].

Вульгарная пузырьчатка наиболее часто встречается у евреев и выходцев из стран Средиземноморья и Ближнего Востока. Заболеваемость пузырьчаткой практически одинакова как у мужчин, так и у женщин [1]. Однако вегетирующей формой вульгарной пузырьчатки мужчины болеют несколько чаще [2]. Средний возраст начала заболевания – 40-60 лет [1].

Основой патогенеза пузырьчатки является появление IgG-аутоантител к белкам межклеточной адгезии: десмоглеину 1

**Адрес для корреспонденции:** УО «Гомельский государственный медицинский университет», курс дерматовенерологии. Тел.моб.: +375 (44) 771-63-35, e-mail: doctordr4@gmail.com – Драгун Геннадий Викторович.

Таблица 1

## Классификация пузырчатки

Тип	Форма
Вульгарная пузырчатка	Вегетирующая пузырчатка Лекарственно-индуцированная
Листовидная пузырчатка	Эритематозная пузырчатка Бразильская-эндемическая Лекарственно-индуцированная
Паранеопластическая пузырчатка	
IgA-пузырчатка	Субкорнеальный пустулёзный дерматоз Интраэпидермальный нейтрофильный IgA-дерматоз

и 3 [3]. Предполагается, что десмоглеины являются молекулами клеточной адгезии. В тех случаях, когда вульгарная пузырчатка поражает преимущественно слизистые оболочки, отмечаются антитела к десмоглеину – 3; при наличии слизисто-кожных высыпаний у больных регистрируется два вида антител: антитела к десмоглеину 3 и антитела к десмоглеину 1. Аутоантитела нарушают выполняемую десмоглеинами функцию межклеточной адгезии или же препятствуют участию десмоглеинов в сборке десмосом, это вызывает акантолиз и образование внутриэпидермальных пузырей [1].

Клиническая картина вегетирующей формы вульгарной пузырчатки характеризуется внезапным возникновением пузырей, чаще на слизистой полости рта, преимущественно на местах перехода ее в кожу. Одновременно с поражением слизистой оболочки или позже дряблые пузыри возникают на коже вокруг естественных отверстий и в складках кожи (пахово-бедренная, межъягодичная, подмышечных, в области пупка). Покрышка пузырей быстро вскрывается, обнажая ярко-красные эрозии, имеющие тенденцию к периферическому росту, на поверхности которых появляются сочные вегетации со зловонным отделяемым. Сливаясь между собой, эрозии образуют вегетирующие бляшки диаметром 5-10 см овальной, округлой или неправильной формы, по периферии кото-

рых в ряде случаев наблюдаются пустулы. Симптом Никольского положителен в непосредственной близости от очага поражения, а на неизменной коже – лишь в терминальной стадии [2].

Выделяют два типа вегетирующей пузырчатки: классическую форму (тип Ноймана) и доброкачественную (тип Аллопо). При типе Ноймана процесс носит распространенный характер, отмечается тяжелое течение заболевания. Гистопатология в области пузырей и эрозий, близка к вульгарной пузырчатке. Веррукозные разрастания характеризуются явлениями папилломатоза и акантоза с внутриэпидермальными абсцессами, состоящими из эозинофилов. Тип Аллопо поражения носят локализованный характер (интертригинозные зоны), реже поражаются слизистые оболочки. Эта форма всегда сопровождается пустулезными и фолликулярными элементами, сливающимися в инфильтрированные бляшки с вегетациями. Течение заболевания более благоприятное и характеризуется длительными ремиссиями. Гистологически очаги представлены пустулами, акантолизом с образованием небольших расщелин и полостей, заполненных эозинофилами и акантолитическими клетками. В эпидермисе отмечается эозинофильный спонгиоз в дерме выраженный эозинофильный инфильтрат [2].

Лабораторная диагностика акантолитической вульгарной пузырчатки ос-

нована на выявлении методом прямой иммунофлюоресценции IgG на поверхности кератиноцитов. Непрямая иммунофлюоресценция выявляет в сыворотке крови IgG, связывающихся с клеточной поверхностью нормальных кератиноцитов. Твердофазный иммуноферментный анализ является более чувствительным и специфичным методом диагностики пузырчатки, позволяет определять антитела к конкретным белкам межклеточной адгезии. Выявление акантолитических клеток Тцанка в содержимом пузырей в настоящее время не является специфическим методом лабораторной диагностики акантолитической пузырчатки [3].

Терапия акантолитической пузырчатки должна осуществляться с момента возникновения первичных проявлений, так как в дальнейшем заболевание будет иметь крайне неблагоприятный прогноз. Основным направлением терапии пузырчатки применение системных глюкокортикоидов – преимущественно преднизолона. До сегодняшнего дня рекомендовалось назначать высокие начальные дозы преднизолона. Большинство исследователей полагают, что низкие дозы глюкокортикоидов в сочетании с иммуносупрессивной терапией приводят к меньшему числу осложнений. Обычно рекомендуется начинать лечение с сочетанного приема иммуносупрессивного препарата и преднизолона в малых и средних дозах в зависимости от активности заболевания [1].

Несмотря на то, что исследования с группами контроля проводились редко, многие исследователи полагают, что такие иммуносупрессивные препараты, как микофенолата мофетил, азатиоприн, циклофосфамид сокращают число побочных эффектов стероидной терапии и способны повысить частоту ремиссий [1]. В том случае если стандартная терапия оказывается неэффективной, могут быть использованы дополнительные методы лечения. К таковым, в частности, относится внутривенная пульс-терапия метилпреднизолоном в дозе от 250 мг до 1000 мг [1]. Другим методом, позволяющим понизить концентрацию

аутоантител в сыворотке, является внутривенное введение высоких доз гаммаглобулина. Данный метод является эффективной, но дорогостоящей терапией. К тому же терапия может иметь серьезные побочные эффекты [1]. В лечении тяжелых форм пузырчатки, а также в том случае, если заболевание не реагирует на сочетание преднизолона и иммунодепрессантов, возможно параллельно назначение плазмафереза. Плазмаферез понижает сывороточные уровни аутоантител [2]. Реже в лечении пузырчатки используются циклоспорин, препараты золота, антималярийные препараты, а также экстракорпоральная фотохимиотерапия [1].

Приводим наше клиническое наблюдение.

Больной М., 1951 года рождения, обратился в районный КВК с жалобами на поражение кожи лица. Высыпания связывает с травмой, полученной в конце июля 2012 года. Со слов пациента, процесс на лице возник через месяц после травмы иглой дикой сливы. Наблюдался врачами-дерматологами и получал лечение амбулаторно в КВК, а также проходил стационарное лечение в межрайонном КВД с диагнозами: пиодермия, микробная (паратравматическая) экзема лица. Из назначенных препаратов: системная терапия (антибактериальная терапия, антигистаминные и десенсибилизирующие препараты, витаминотерапия); местное лечение (спиртовые болтушки, анилиновые красители, цинковая мазь, мази с антибиотиками, кортикостероидные и комбинированные мази); физиотерапия (УФО, точечный лазер на пораженный участок и шею). Учитывая отсутствие эффекта от проводимой терапии, пациент был направлен в ГОККВД на консультацию с целью уточнения диагноза и лечения.

Пациент поступил в кожное отделение ГОККВД в конце октября с жалобами на поражение кожи лица и волосистой части головы. Общее состояние удовлетворительное. При осмотре: процесс носит ограниченный, асимметричный, регионарный характер. На коже волосистой части головы, преимущественно лобно-теменной области, имеются единичные пустулы, эрозии величиной с двухкопеечную монету, с инфильтрированным валом по периферии. На коже правой половины лица от носо-щечной складки до височной области, включая кожу щеки и скуловую область, опре-

деляется очаг в виде бляшки неправильной формы, с четкими границами, гиперемией и незначительной инфильтрацией, на поверхности которой - корки, единичные эрозии и микротрещины. Границы четкие (рис. 1). Проведены микроскопическое и культуральное исследования из очага на грибковую инфекцию. Микроскопически нити мицелия не выявлены и до получения результатов бактериологического исследования, в связи с подозрением на споротрихоз, было назначено пробное антимикотическое лечение итраконазолом 0,1 по 1 капсуле 2 раза в день. На протяжении 10 дней приема итраконазола положительного эффекта не наблюдалось. На 10-14 сутки пребывания в стационаре отмечается увеличение в размерах очагов поражения на волосистой части головы, появление высыпаний на слизистых рта, паховой складке справа, перианальной области.

При осмотре: на слизистых рта (слизистая правая щеки, боковая поверхность языка) определяются белесоватые болезненные афты. На волосистой части головы эрозии округлой и неправильной формы с выраженным валом по периферии, четкими границами, дно эрозий имеет вегетирующий характер, выполнено мозаично гнойным отделяемым (рис. 2). На коже правой паховой складки с переходом на переднюю поверхность бедра очаг с явлениями вегетации, выраженным валом по периферии, микротрещины. Вблизи от основного очага имеются единичные эрозии, пустулы. В перианальной области – вегетации (рис. 3-5). На основании анамнеза, жалоб, клинических проявлений предположительно был выставлен диагноз акантолитической вульгарной вегетирующей пузырчатки. В мазках-отпечатках из очагов слизистой рта, волосистой части головы, паховой и перианальной областей



Рис. 1. Очаг поражения на коже правой половины лица.

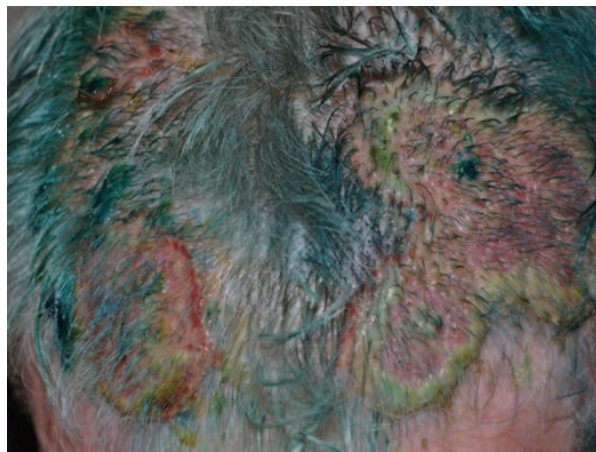


Рис. 2. Эрозии с гнойным валиком по периферии на волосистой части головы.

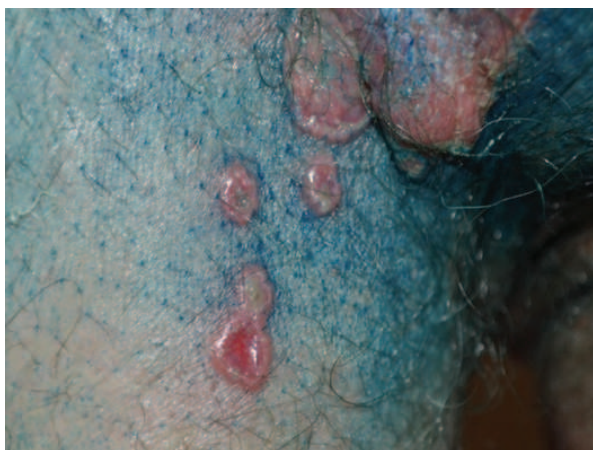


Рис. 3. Очаги паховой области с переходом на переднюю поверхность бедра.

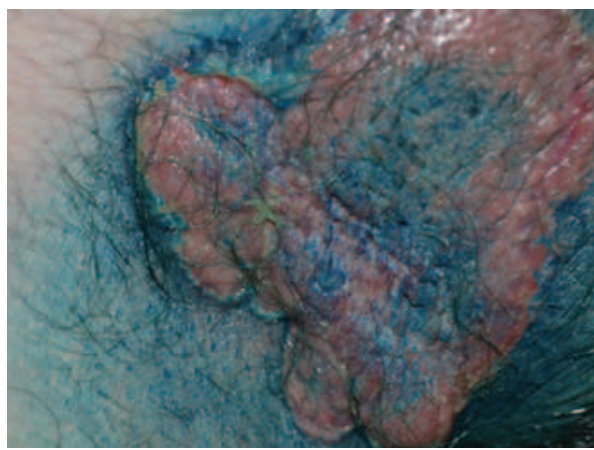


Рис. 4. Вегетирующие очаги паховой области.



Рис. 5. Вегетации перианальной области.

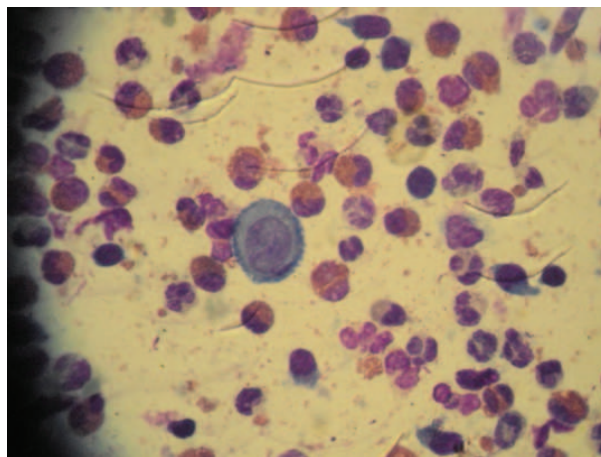


Рис. 6. В центре акантолитическая клетка окруженная преимущественно эозинофилами.

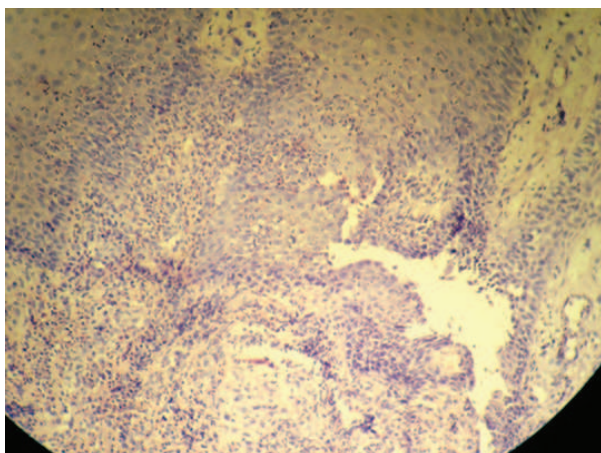


Рис. 7. В акантолитической щели супрабазальной локализации – единичные клетки Тцанка. В акантолитических тяжах – эозинофильный спонгиоз (проникновение эозинофилов между клетками шиповатого слоя и их разрушение). В дерме – умеренно выраженная полиморфноклеточная инфильтрация, расширенные сосуды.

обнаружены акантолитические клетки (рис. 6), окруженные эозинофилами (до 90% от общего количества клеток). Для уточнения диагноза, с согласия больного, под местной анестезией произведена биопсия кожи с очага поражения. Результаты патогистологического исследования (рис. 7): выраженный акантоз эпидермиса, умеренновыраженный папилломатоз. В центре – расщелина эпидермиса, заполненная некротизированной клеточной массой, большинство которой – эозинофилы. Видны акантолитические щели супрабазальной локализации. В акантолитической щели супрабазальной ло-

кализации – единичные клетки Тцанка. В акантолитических тяжах – эозинофильный спонгиоз (проникновение эозинофилов между клетками шиповатого слоя и их разрушение). В дерме – умеренно выраженная полиморфноклеточная инфильтрация, преимущественно из эозинофилов, расширенные сосуды.

Заключение: гистологическая картина соответствует акантолитической вегетирующей пузырьчатке, типу Аллопо.

Результаты лабораторных исследования: общий анализ крови, общий анализ мочи, биохимические показатели без патологии. Серологические исследования крови: МРП – отр., ВИЧ – отр. Бактериоскопическое исследование на грибы – нити мицелия не обнаружены. Культуральное исследование: посев роста не дал. Цитологическое исследование: в мазках-отпечатках обнаружены клетки Тцанка. Рентгенография органов грудной клетки: органы грудной клетки без патологии. УЗИ внутренних органов без видимой патологии. Колоноскопия: полипы (3) восходящей ободочной кишки. Контроль через 1 год.

Назначено лечение: преднизолон 90 мг/сутки. На 10-е сутки наблюдался выраженный положительный эффект (рис. 8).

### Обсуждение

Интерес к вышеизложенному случаю обоснован тем, что вегетирующая пузырьчатка Аллопо часто не диагностируется, и пациенты с данной патологией наблюдаются с иными диагнозами (микробная экзема, споротрихоз, хромомикоз, вегетирующая форма дискератоза Дарье,



Рис. 8. В процессе лечения на 10-е сутки.

хроническая семейная доброкачественная пузырчатка Хейли — Хейли). Для точной верификации диагноза врачам-дерматовенерологам необходимо учитывать следующие признаки:

– первичными элементами являются пустулы, сливающиеся в инфильтрированные бляшки, на которых быстро развиваются вегетации и появляется зловонное отделяемое;

– поражения носят локализованный характер (интертригинозные зоны), реже поражаются слизистые оболочки;

– гистологически очаги представлены пустулами, акантолизом с образованием небольших расщелин и полостей, заполненных эозинофилами и акантолитическими клетками. В эпидермисе отмечается эозинофильный спонгиоз, в дерме выраженный эозинофильный инфильтрат;

– выявление методом прямой иммунофлюоресценции IgG на поверхности кератиноцитов и клеток Тцанка в содержимом пузырей;

– течение заболевания благоприятное, хорошо поддается терапии глюкокортикостероидами.

### Литература

1. Дерматология Фицпатрика в клинической практике / К. Вольф [и др.]. – М., 2012. – Т. 1. – С. 500–510.
2. Кожные и венерические болезни : рук. для врачей / под ред. Ю.К. Скрипкина. – М., 1995. – Т. 1. – С. 268–273.
3. Караулов, А.В. Иммунология, микробиология и иммунопатология кожи / А. В. Караулов, С.А. Быков, А.С. Быков. – М., 2012. – С. 254.

Поступила 05.03.2013 г.  
Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Драгун Г.В. – ассистент курса дерматовенерологии УО «ГГМУ»,

Сохар С.А. – зав.курсом дерматовенерологии УО «ГГМУ»,

Абдель Малак Валид – ассистент курса дерматовенерологии УО «ГГМУ».

---

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ТОКСИЧНОСТИ И ОПАСНОСТИ СМАЗОЧНО-ОХЛАЖДАЮЩИХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СОСТАВОВ НА АЛЬТЕРНАТИВНЫХ ТЕСТ-МОДЕЛЯХ

ТРЕЙЛИБ В.В., ПОЛОВИНКИН Л.В., ГОМОЛКО Т.Н., ДРОЗДОВА Е.В.

ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены»

**Резюме.** В статье приводятся результаты изучения острой токсичности смазочно-охлаждающих технологических составов на минеральной и синтетической основах на тест-объектах *Tetrahymena pyriformis*, ракообразных и одноклеточных водорослях, сперме крупного рогатого скота и люминесцентном бактериальном тесте. На основании проведенных исследований констатировано, что они не соответствуют экспериментальным данным, полученным на лабораторных животных.

**Ключевые слова:** смазочно-охлаждающие технологические составы, токсичность, альтернативные тест-модели, тест-объекты, *in vitro*.

**Abstract.** The results of studying acute toxicity of lubricating and cooling technological compositions on mineral and synthetic bases on test objects of *Tetrahymena pyriformis*, crustaceans and unicellular algae, cattle sperm and the luminescent bacterial test are presented in this article. On the basis of the performed studies it has been noted that they don't correspond to the experimental data obtained on laboratory animals.

**Key words:** lubricating and cooling technological compositions, toxicity, alternative test models, test objects, *in vitro*.

**П**роблема химической безопасности в настоящее время приобрела глобальное значение. Многообразие химических веществ, обращающихся в среде обитания, разнообразие их химической структуры и физико-химических свойств, сложность управления рисками превратили химические соединения в реальную угрозу выживания человека и природы. В этой связи основным элементом предотвращения негативного воздействия на человека является получение максимально полной информации об их токсических эффектах [1].

Принимая во внимание обоснованно сложившуюся в последние годы тенден-

цию применения скрининговых методов оценки токсичности, по возможности исключение из токсикологического эксперимента теплокровных животных, ВОЗ и UNEP рекомендуют использование низкоорганизованных тест-моделей [2-4].

В этом аспекте интерес представляют смазочно-охлаждающие технологические составы (СОТС), которые имеют многокомпонентный состав и достаточно полно изучены в токсикологическом плане на теплокровных животных [5, 6], что позволит сделать заключение о правомочности использования тест-моделей при оценке их токсичности и опасности.

Целью работы было изучить и сопоставить особенности токсического действия СОТС на минеральной и синтетической основах в опытах *in vitro* на тест-объектах *Tetrahymena pyriformis*, ра-

---

**Адрес для корреспонденции:** г. Минск, ул. Голубева, д. 11, кв. 271. Тел.моб.: +375 (029) 687 03 53, e-mail: treilibvic@mail.ru – Трейлиб Виктория Васильевна.



кообразных и одноклеточных водорослях, сперме крупного рогатого скота и люминесцентном бактериальном тесте.

### Методы

Экспериментально-токсикологическому исследованию подвергали СОТС на минеральной «ЭК-2М» (масло рапсовое и минеральное, триэтанолламин, моноэтанолламин, калия гидроокись, вода) и синтетической «СК-1» (борная кислота, калий едкий, моноэтанолламин, триэтанолламин, нитрит натрия, олеиновая кислота, неол, вода) основах.

Для проведения исследований из испытуемых СОТС на дистиллированной воде готовили серию разведений от 0,01 до 500 мг/мл, а также использовались нативные композиции.

Токсичность СОТС на тест-объекте *Tetrahymena pyriformis* изучали в острых и подострых экспериментах согласно методическим рекомендациям [7, 8]. Во флаконы объемом 10 мл вносили 1 мл каждой концентрации СОТС, а затем добавляли инокулят инфузории в стандартной фазе роста (2000/мл). В качестве контроля использовали дистиллированную воду. Пробы инкубировали при 25°C в течение 3 часов (острый опыт) и 24 часа (подострый опыт). По истечении сроков инкубации под микроскопом в счетной камере Фукса-Розенталя подсчитывали число погибших инфузорий до фиксации и их общее число после фиксации. На основании расчета % летальности установлены основные параметры токсичности - ЛД<sub>16</sub>, ЛД<sub>50</sub>, ЛД<sub>84</sub>, К<sub>кум</sub>.

Класс токсичности устанавливали согласно классификационным характеристикам, приведенным в таблице 1.

Острую токсичность СОТС с использованием батареи тестов на основе водных тест-объектов (ракообразные – *Daphnia magna*, *Cypridopsis vidua* и *Heterocypris incongruens*; одноклеточные водоросли – *Chlorella vulgaris* и *Chlorella sp.*) проводили согласно стандартизованным методикам [9-11].

В ходе исследования ракообразные в течение 48 часов (дафнии), 72 часа (*Heterocypris incongruens*) и 96 часов (*Cypridopsis vidua*) подвергались воздействию различных концентраций СОТС в трех повторностях по 10 особей в группах.

В качестве контроля использовали дистиллированную воду. На основании полученных экспериментальных данных рассчитывались среднеэффективные концентрации ЭК<sub>16</sub>, ЭК<sub>50</sub>, ЭК<sub>84</sub>.

Методика биотестирования с использованием пресноводных одноклеточных водорослей *Chlorella vulgaris* и *Chlorella sp.* основана на установлении различий между интенсивностью роста тест-культур в анализируемой пробе с различными концентрациями СОТС (опыт) и культуральной среде (контроль).

Критерием острого токсического действия СОТС является снижение на 50% и более численности клеток водорослей в опыте по сравнению с контролем за 72 часа биотестирования («острая токсичность») при условии, что в контрольной группе снижение численности клеток не превышает 10%.

Для количественной оценки токсичности СОТС устанавливали медианную

Таблица 1

### Классификация вредных веществ по степени токсичности по результатам острых и подострых экспериментов на *Tetrahymena pyriformis*

Показатель	Классы по убывающей степени токсичности и опасности			
	1	2	3	4
ЛД <sub>50</sub> , мг/мл	менее 0,1	0,1-1,0	1,1-20	более 20
Ккумас	менее 0,1	0,10-0,30	0,31-0,50	более 0,50

эффективную концентрацию за 72 часа ( $ЭК_{50-72}$ ).

Интерпретация полученных данных проводилась в соответствии с критериями, установленными в Согласованной на глобальном уровне системе классификации и маркировки химических веществ: острая 1 –  $ЭК_{50} \leq 1$ , острая 2 –  $ЭК_{50} > 1 - \leq 10$ , острая 3 –  $ЭК_{50} > 10 \leq 100$ .

Расчет смертельных и эффективных концентраций проводили методом пробит-анализа Литчфилда-Уилкоксона в изложении М.Л. Беленького с использованием программы Microsoft Excell и доверительным интервалом 95%.

Определение острой токсичности СОТС с использованием клеточного тест-объекта спермы крупного рогатого скота (прибор «Анализатор изображения АТ-05», Россия) и люминесцентного бактериального теста (прибор «Биотокс-10М», Россия) проводили в соответствии с требованиями, изложенными в нормативно-методических документах [12, 13]. Результаты исследований оценивали по индексам токсичности – до 69 (нетоксичное вещество), 70-120 (допустимый интервал токсичности) и свыше 121 (токсическое вещество) для спермы крупного рогатого скота и для люминесцентного бактериального теста – допустимая степень токсичности

вещества при индексе токсичности  $I_{tox}$  меньше 20; вещество токсично, когда  $I_{tox}$  равен или больше 20 и меньше 50; сильно токсичное –  $I_{tox}$  равен или более 50.

### Результаты и обсуждение

В острых и подострых экспериментах на тест-объекте *Tetrahymena pyriformis*, установлено, что воздействие СОТС «ЭК-2М» в концентрации 1-100 мг/мл и СОТС «СК-1» (С=1 мг/мл) вызывают заметные изменения формы тела и характера движений организмов и их обычную гибель. При увеличении концентрации СОТС «ЭК-2М» до 500 мг/мл (время инкубирования 24 часа) и СОТС «СК-1» (С=10 мг/мл, инкубация 3 часа) наблюдалась 100% гибель популяции тест-объекта *Tetrahymena pyriformis*.

Параметры токсикометрии СОТС «ЭК-2М» и «СК-1», рассчитанные по результатам острых и подострых экспериментов на *Tetrahymena pyriformis* представлены в таблице 2.

Анализируя данные, представленные в таблице, можно констатировать, что в условиях острого воздействия на *Tetrahymena pyriformis* по величине  $LD_{50}$  СОТС «ЭК-2М» относится к умеренно токсичным веществам (3 класс), а СОТС

Таблица 2

#### Параметры и класс токсичности СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» при остром и подостром воздействиях на *Tetrahymena pyriformis*

Показатель токсичности	Величина токсичности		Класс токсичности	
	«ЭК-2М»	«СК-1»	«ЭК-2М»	«СК-1»
Острый эксперимент				
$LD_{16}$ , мг/мл	1,81	0,03	-	-
$LD_{50}$ , мг/мл	4,75 0,01	0,35 ±	3	2
$LD_{84}$ , мг/мл	7,68	0,68	-	-
Подострый эксперимент				
$LD_{50}$ , мг/мл	1,56 ±	0,17 ±	-	-
$LD_{84}$ , мг/мл	3,78	0,59	-	-
$K_{кум}$	0,33	0,49	3	3

«СК-1» – высокотоксичным (2 класс). По результатам подострого воздействия обе композиции обладают умеренными кумулятивными свойствами.

Изучение острой токсичности СОТС с использованием батареи тестов на основе водных тест-объектов (ракообразные и одноклеточные водоросли) показало, что при воздействии СОТС «ЭК-2М» в концентрации 100 мг/мл к концу срока экспозиции отмечается 100% эффект у всех тест-организмов. Аналогичная картина наблюдается и под влиянием композиции СОТС «СК-1» в концентрации 50 мг/мл, за исключением дафний. Начало проявления токсического эффекта под влиянием СОТС «ЭК-2М» на дафнии регистрируется в концентрации выше 0,1 мг/мл, а на остальные тест-организмы – 1 мг/мл.

Концентрации СОТС «СК-1» свыше 10 мг/мл вызывали 100% гибель ракообразных в первые сутки эксперимента. В отношении водорослей СОТС «СК-1» проявляет несколько меньшую токсичность, что выражается 100% эффектом к концу

периода экспозиции в концентрации 100 мг/мл.

Результаты расчета средних эффективных концентраций СОТС после воздействия на ракообразных и одноклеточных водорослях представлены в таблице 3.

Исходя из значений ЭК<sub>50</sub> и согласно классификационным характеристикам СОТС «ЭК-2М» относится к категории «острая 3» по наиболее чувствительной тест-модели водоросли *Chlorella vulgaris* (ЭК<sub>50-72</sub> 11,5 мг/л), а СОТС «СК-1» – категории «острая 2» *Daphnia magna* (ЭК<sub>50-48</sub> 2,5 мг/л).

В результате исследования острой токсичности СОТС на сперме крупного рогатого скота установлено, что по значению индекса токсичности на уровне – 80,3 СОТС «ЭК-2М» является композицией с допустимым уровнем токсичности, а СОТС «СК-1» (Itox 128,8) – токсичной.

Экспрессное определение (период экспозиции – 5 минут) острой токсичности СОТС «СК-1» и «ЭК-2М» с помощью люминесцентного бактериального теста проводили по изменению интенсивно-

Таблица 3

**Параметры и категории токсичности СОТС «ЭК-2М» (I) и «СК-1» (II) при остром воздействии на батарею тестов на основе водных тест-объектов**

Параметры острой токсичности, мг/мл	Наименование тест-объекта					
	Ракообразные			Одноклеточные водоросли		
	<i>Daphnia magna</i>	<i>Cypridopsis vidua</i>	<i>Heterocypris incongruens</i>	<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Chlorella sp.</i>	
ЭК <sub>16</sub>	I	0,8	7,8	9,4	3,0	1,8
	II	0,2	1,9	0,9	2,8	0,7
ЭК <sub>50</sub>	I	12,1 ± 0,0	16,4 ± 0,0	26,2 ± 0,0	11,5 ± 0,0	11,9 ± 0,0
	II	2,5 ± 0,0	2,6 ± 0,0	2,7 ± 0,0	11,7 ± 0,0	6,1 ± 0,0
ЭК <sub>84</sub>	I	90	34,4	35,4	45,2	54,0
	II	4,8	3,5	6,1	50,2	50,9
Категория острой токсичности	I	3				
	II	2				

сти биоллюминесценции биосенсора при воздействии испытуемых композиций по сравнению с контролем и вычислением индекса токсичности. Согласно классификационным критериям, СОТС «ЭК-2М» имеет допустимую степень токсичности при  $I_{tox}=6,09 \pm 4,81$ , а СОТС «СК-1» при  $I_{tox}=99,5 \pm 0,06$  относится к веществам с высокой токсичностью.

Сравнительный анализ результатов исследований позволяет констатировать, что по значению показателей острой токсичности на изученных тест-объектах более выраженную токсичность проявляет СОТС на синтетической основе «СК-1» по сравнению с СОТС на минеральной основе «ЭК-2М». Более выраженные токсичные эффекты СОТС «СК-1» обусловлены, вероятнее всего, особенностями компонентного состава указанной композиции, в рецептуру которой до 15% входит триэтанолламин. Аналогичную закономерность по степени выраженности неблагоприятного действия СОТС «СК-1» по отношению к СОТС «ЭК-2М» установлены в экспериментах на животных (белые крысы и мыши) в условиях повторного воздействия (эпикутанного, внутрижелудочного и ингаляционного) композиций [5, 6].

Вместе с тем, следует отметить, что использованные в эксперименте тест-объекты (*Tetrahymena pyriformis*, ракообразные и одноклеточные водоросли, сперма крупного рогатого скота и люминесцентный бактериальный тест) и полученные результаты по оценке токсичности и кумулятивного действия (*Tetrahymena pyriformis*) не соответствуют данным экспериментальных исследований на лабораторных животных, согласно которым по параметрам острой внутрижелудочной токсичности СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» относятся к 4 классу опасности ( $LD_{50} > 5000$  мг/кг) и не обладают способностью к кумуляции на уровне проявления смертельных эффектов ( $K_{кум} > 5,0$ ) [5].

Использованные в острых опытах тест-модели в большей степени применимы в экологической токсикологии для оценки токсичности водных объектов и почвы.

## Заключение

– в условиях острого и подострого экспериментов на *Tetrahymena pyriformis* СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» относятся соответственно к 3 (умеренно токсичное вещество) и 2 классу токсичности (высоко-токсичное вещество) и обладают умеренно выраженными кумулятивными свойствами;

– по величине среднесмертельных доз, установленных в остром опыте на батареях тестов из водных тест-организмов (ракообразные и одноклеточные водоросли), СОТС «ЭК-2М» и «СК-1» относятся к веществам категории «острая 3» и «острая 2»;

– согласно классификационным критериям в условиях острого опыта по значению индексов токсичности на сперме крупного рогатого скота СОТС относятся к композициям с допустимым уровнем токсичности («ЭК-2М») и токсической («СК-1»), а в люминесцентном бактериальном тесте соответственно как вещества с допустимой и высокой токсичностью;

– более выраженная острая токсичность СОТС «СК-1» по сравнению с «ЭК-2М» на изученных тест-моделях обусловлена рецептурным составом (содержание триэтанолламина до 15%);

– использованные тест-модели для изучения острой токсичности СОТС не приемлемы, так как полученные результаты не соответствуют таковым, установленным в опытах на лабораторных животных.

## Литература

1. Лукьянов, А.С. Биозтика. Альтернативы экспериментам на животных / А.С. Лукьянов. – М., 1996. – 84 с.
2. Acute and chronic effects of carrier solvents in aquatic organisms: a critical review / Т.Н. Hutchinson [et al.] // Aquatic toxicol. – 2006. – Vol. 76. – P. 69-92.
3. Combes, R.D. Some thoughts on the use of replacement alternatives for toxicity testing and risk assessment / R.D. Combes // Arch Toxicol. – 2009. – № 83 (3). – P. 199-201.
4. Derksen, J.G.M. Microbiotests, possibilities and limitations / J.G.M. Derksen. – Amsterdam: AquaSense, 2002. – 75 p.
5. Сравнительная токсиколого-гигиеническая оценка смазочно-охлаждающих технологиче-

- ских составов на минеральной и синтетической основах / В.В. Трейлиб [и др.] // Здоровье и окружающая среда: сб. науч. тр. / Респ. науч.-практ. центр гигиены; гл. ред. Л.В. Половинкин. – Минск, ГУ РНМБ, 2011. – Вып. 17. – С. 142-148.
6. Влияние смазочно-охлаждающих технологических составов и продуктов термодеструкции в условиях повторного ингаляционного воздействия на организм экспериментальных животных / В.В. Трейлиб [и др.] // Здоровье и окружающая среда [Электронный ресурс]: сб. науч. тр. Респ. науч.-практ. центра гигиены; гл. ред. Л.В. Половинкин. – Минск: РНПЦГ, 2012. – Вып. 21. – Электрон. дан. и прогр. – 1 электрон.опт. диск (CD-ROM): зв., цв.
  7. Комплексная биологическая оценка объектов природного и искусственного происхождения *Tetrahymena pyriformis*: метод. рекомендации / разработ.: Белорус. науч.-иссл. сан-гиг. ин-т; авт. сост. А.С. Богдан. – Минск, 1996. – 19 с.
  8. Инструкция № 2.1.7.11-42-2004. Определение токсичности отходов, содержащих органические вещества: утв. Гл. гос. сан. врачом РБ 2004. – Минск, 2004.
  9. ИСО 6341:1996. Качество воды. Определение иммобилизации *Daphnia magna* Straus (Cladocera, Crustacea). Тест на острую токсичность.
  10. ИСО 8692:2012. Качество воды. Испытание на торможение роста водорослей в пресной воде с применением одноклеточных зеленых водорослей.
  11. OECD/OCDE 202. Руководство OECD для тестирования химических веществ. *Daphnia* sp. Острый иммобилизационный тест.
  12. МУ 1.1.037-95. Биотестирование продукции из полимерных и других материалов: утв. Гл. гос. сан. врачом РФ 20.12.1995. – М., 1995.
  13. Инструкция по применению № 090-0610. Определение токсичности химических соединений, полимеров, материалов и изделий, ПКП и объектов окружающей среды с помощью люминесцентного бактериального теста: утв. Гл. гос. сан. врачом РБ 28.06.2010. – Минск, 2010.

*Поступила 13.06.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

#### **Сведения об авторах:**

Трейлиб В.В. – научный сотрудник лаборатории микробиологии ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены»;

Половинкин Л.В. – д.м.н., доцент, ведущий научный сотрудник лаборатории промышленной токсикологии ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены»;

Гомолко Т.Н. – научный сотрудник лаборатории профилактической и экологической токсикологии ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены»;

Дроздова Е.В. – к.м.н., доцент, заведующий лабораторией питьевого водоснабжения и санитарной охраны водоемов ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены».



© ДЕНИСЕНКО А.Г., ЯБЛОНСКИЙ М.Ф., 2013

## ЗНАЧЕНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИХ КРИТЕРИЕВ ДАВНОСТИ НАСТУПЛЕНИЯ СМЕРТИ

ДЕНИСЕНКО А.Г., ЯБЛОНСКИЙ М.Ф.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра судебной медицины

**Резюме.** С целью установления давности наступления смерти (ДНС) разработаны способы определения в динамике изменений метаболической активности нейтрофилов (спонтанный и индуцированный НСТ-тест), Т- и В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD3, CD4, CD8, CD22, CD25 эритроцитарных диагностикумов. Выявлены изменения НСТ-теста и количества Т- и В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы-маркеры CD3, CD4, CD8, CD22, CD25. У лиц, умерших от ишемической болезни сердца (ИБС), отравления этиловым алкоголем и прочих причин смерти, отмечено достоверное снижение показателей функциональной активности нейтрофилов к концу 2-х суток с момента наступления смерти. Установлено, что в посмертном периоде у лиц, умерших от механических травм и асфиксий в результате повешения, происходит изменение количества Т- и В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD3, CD4, CD8, CD22, CD25 с подавлением их активности до 65-78 часов после смерти.

**Ключевые слова:** давность наступления смерти, НСТ-тест, Т- и В-лимфоциты, экспрессия молекул CD3, CD4, CD8, CD22, CD25.

**Abstract.** To establish the remoteness of death (RD) methods of assessment of the dynamic changes of neutrophil metabolic activity (the spontaneous and induced NBT-test), T- and B-lymphocytes expressing CD3, CD4, CD8, CD22, CD25 molecules of erythrocytic diagnosticum sets were worked out. The changes of NBT-test and the amount of T- and B-lymphocytes expressing molecules-markers CD3, CD4, CD8, CD25, CD22 were found out. In persons who died of ischemic heart disease (IHD), poisoning with ethyl alcohol and other causes of death statistically significant decrease in neutrophil functional activity indices was determined by the end of 2 days from the moment of death. It was established that in the postmortem period in persons, who died of mechanical traumas and asphyxias as a result of hanging the quantity of T- and B-lymphocytes expressing CD3, CD4, CD8, CD22, CD25 molecules changed with the suppression of their activity up to 65-78 hours after death.

**Key words:** remoteness of death, NBT-test, T- and B-lymphocytes, expression of CD3, CD4, CD8, CD22, CD25 molecules.

**П**роблема диагностики давности наступления смерти (ДНС) разрабатывается на протяжении полутора столетий многими учёными мира. Одним из основных направлений в разработке

данной проблемы являются исследования посмертных явлений, протекающих в органах, тканях и жидкостях [1].

Полученные результаты указывали на необходимость более углубленного изучения этого объекта, в том числе на основе иммунологических методов исследования. Применялись иммунологические тесты, основанные на оценке свойств сохранения жизнеспособности лимфоцитов, участвующих в иммунном реагировании орга-

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра судебной медицины. Тел.моб.: +375 (29) 710-20-18 – Денисенко Александр Григорьевич.

низма на раздражитель – травму, болезнь, и использовании информации о времени воздействия раздражителя на организм. Исследователями установлено, что нейтрофилы достаточно быстро разрушаются в крови в посмертном периоде и при хранении крови в пробирках, в то время как лимфоциты крови сохраняются значительно более длительный срок [2].

В последние годы с целью решения вопроса о ДНС судебно-медицинская наука и практика пошла путём поиска новых направлений, связанных с использованием более объективных лабораторных методов исследований. Установлена возможность применения реакции бласттрансформации, розеткообразования Т- и В-лимфоцитов и количественного содержания иммуноглобулинов для определения ДНС, а также сроков пригодности трупной крови для диагностики ДНС при хранении её в различных условиях [3].

Сафиним Р.Я. [4] изучен количественный состав лейкоцитов, процент живых лейкоцитов, функциональная активность нейтрофилов в крови умерших лабораторных крыс в различные промежутки времени после наступления смерти. Автор нашёл, что с увеличением времени, прошедшего с момента наступления смерти, отмечается постепенное снижение общего числа лейкоцитов крови, изменение функциональной активности нейтрофильных лейкоцитов вплоть до полного их исчезновения в трупной крови к 72-м часам посмертного интервала времени. Однако автором не предложено обоснованных методов определения ДНС на основании динамики иммунологических параметров.

Следует отметить, что в литературе отсутствуют сведения о взаимосвязи ДНС, показателей клеточного и гуморального иммунитета и уровня НСТ-теста.

Целью данного исследования явилось изучение уровня спонтанного и индуцированного НСТ-теста и количества Т- и В- лимфоцитов, экспрессирующих молекулы – маркеры CD3, CD4, CD8, CD25, CD22 в зависимости от ДНС.

## Методы

Для определения метаболической активности нейтрофилов методом НСТ кровь обрабатывали по методике В.Н. Park et al. [5] в модификации М.Г. Шубича [6]. Выделены 2 группы клеток: 1-ая группа – нейтрофилы, не имеющие гранул формазана, 2-ая группа – с наличием в клетках гранул, занимающих различную площадь нейтрофила. Подсчитывали количество клеток, принадлежащих к каждой из двух групп на 200 сегментоядерных нейтрофилов. Спонтанную активность НСТ-теста выражали в процентах [6].

Изменение экспрессии CD22 В-лимфоцитами, CD3, CD4, CD8, CD25 Т-лимфоцитами определяли методом розеткообразования с помощью соответствующих эритроцитарных диагностикумов. Подсчитывали процент розеткообразующих лимфоцитов при обычной световой микроскопии, явно имевших не менее 3-х прикрепившихся эритроцитов к диагностикумам с анти-CD моноклональными антителами [7].

Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Pimer of Biostatistics. Так как распределение изучаемых величин отличалось от нормального, для описательного статистического анализа применяли показатель медианы, 25 и 75 перцентиль. При сравнении достоверности различий между группами был использован U-критерий Манна-Уитни [8]. Статистически достоверными считали различия при  $p < 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

В настоящий момент вопрос о влиянии вида смерти на функциональную и метаболическую активность лейкоцитов для установления ДНС остается неизученным. В связи с этим нами апробированы методы исследования по определению в динамике функциональной и метаболической активности лейкоцитов 28 трупов людей, умерших от ИБС, отравления этиловым алкоголем (ОЭА), прочих причин

смерти (ППС) (механических асфиксий в результате повешения, геморрагического инсульта, множественных травм), а также у здоровых лиц (доноров).

В ходе проведенных исследований выявлено, что после наступления смерти человека происходит постепенное уменьшение процентного содержания нейтрофильных лейкоцитов трупной крови. Снижение процентного содержания показателей наблюдалось до интервала времени 27-31 час. Показатели функциональной активности лейкоцитов трупной крови, полученные при спонтанном и индуцированном НСТ-тесте в первые 2-6 часов после смерти, сравнивались с контрольной группой доноров. Показатели в остальных интервалах времени сравнивали с предыдущим интервалом (табл. 1).

Исследования показали, что в крови доноров процент содержания нейтрофильных лейкоцитов при проведении спонтанного НСТ-теста составил 8,9% [7,9;9,5], индуцированного – 54,2% [52,7;55,2].

Полученные данные выделены в три подгруппы в зависимости от причины смерти.

В группах умерших от ИБС (n=13) и отравления этиловым алкоголем (n=9) отмечено достоверное снижение показателей ( $p<0,001$ ) спонтанного НСТ-теста на протяжении от 12-16 часов до 22-26 часов, а так же при ОЭА через 2-6 часов после наступления смерти (табл. 1). В остальных интервалах времени показатели активности нейтрофильных лейкоцитов были достоверно ниже. При ИБС данные показатели распределились следующим образом: через 7-11 часов – 7,1% [4,1;7,8]; 32-41 час – 0,9% [0,5;1,8] ( $p<0,01$ ) и спустя 27-31 час после смерти – 1,8% [1,3;2,7] ( $p<0,05$ ), а в интервалах времени от 12-16 часов до 22-26 часов – 4,2% [3,3;6,7]; 3,4% [3,1;3,7] и 2,4% [2;2,7] ( $p<0,001$ ) соответственно. В группе умерших от отравления этиловым алкоголем НСТ снижался в следующих интервалах времени: через 7-11 часов – 4,1% [3,8;4,2] ( $p<0,05$ ), от 12-16 часов – до 22-26

Таблица 1

**Процент НСТ-положительных лейкоцитов трупной крови в зависимости от причины и давности наступления смерти**

Время после смерти	НСТ-спонтанный			НСТ-индуцированный		
	Ишемическая болезнь сердца, n=13	Прочие причины смерти, n=6	Отравления этиловым алкоголем, n=9	Ишемическая болезнь сердца, n=13	Прочие причины смерти, n=6	Отравления этиловым алкоголем, n=9
2-6	7,9(7,1-8,7)	8,3(4,4-8,5)	4,5(3,9-4,7)***	47(41-55)***	52(45-59)	41(36-44)***
7-11	7,1(4,1-7,8)**	7,6(4,3-8,0)	4,1(3,8-4,2)*	42(37-48)**	38(34-43)*	36,5(33-38)**
12-16	4,2(3,3-6,7)***	3,0(2,7-4,2)*	3,3(3,1-3,6)***	36(29-50)**	31(24-35)**	31(28-33)***
17-21	3,4(3,1-3,7)***	2,5(2,0-3,6)	2,5(2,2-2,8)***	31(22-47)*	26(20-33)	27(22-28)***
22-26	2,4(2,0-2,7)***	2,0(1,1-2,5)**	1,7(1,4-1,9)***	28 (24-31)**	23(14-29)	22(21-25)***
27-31	1,8(1,3-2,7)*	1,4(0,3-2,1)	1,4(1,2-1,8)**	23(18-27)***	22,5(20-24)	21(17-23)
32-41	0,9(0,5-1,8)**	1,0(0,3-2,0)	0,5(0,3-0,6)**	4(2-11)***	9(7-16)***	1,2(0,6-1,8)**
КГ (n=15)	8,9%(7,9-9,5)			54,2%(52,7-55,2)		

Примечание: \* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,001$ , отсутствие звездочки  $p>0,05$  - различие не достоверно; КГ – контрольная группа.



часов – 3,3% [3,1;3,6]; 2,5% [2,2;2,8]; 1,7% [1,4;1,9] ( $p<0,001$ ) и от 27-31 часа до 32-41 часа после смерти – 1,4% [1,2;1,8]; 0,5% [0,3;0,6] ( $p<0,01$ ) соответственно.

При сравнении между собой двух групп умерших от ИБС и ОЭА отмечено, что показатели спонтанного НСТ-теста у лиц, умерших от ИБС, были достоверно ниже в интервалах времени от 2-6 часов до 27-31 часа. Достоверность различий между группами составила  $3,78\pm 2,0\%$ . Из полученных данных видно, что наличие алкогольной интоксикации в крови трупов подавляет активность нейтрофильных лейкоцитов при спонтанном НСТ-тесте в указанных промежутках времени.

Для определения функциональной активности Т- и В-лимфоцитов исследовалась в динамике кровь умерших ( $n=10$ ) от прочих причин: механических травм (черепно-мозговых травм, падениях с высоты) и механических асфиксий в результате повешения. Интервал времени с 7 до 16 часов сравнивали с контрольной группой доноров, а остальные показатели Т-лимфоцитов сравнивали с результатами предыдущих интервалов ДНС.

Достоверное снижение показателей лимфоцитов ( $p<0,001$ ), экспрессирующих молекулу CD3, отмечалось после смерти в интервалах времени от 7-16 часов 52% до 51-64 часа 29% [48,55; 43,50; 35,43; 31,39; 24,33]. Менее достоверное снижение показателя ( $p<0,05$ ) получено в промежутке времени от 65 до 78 часов 23% [21;28] (табл. 2).

Количество CD4 (Т-хелперов) также достоверно снижалось в интервалах времени: 17-26 часов 30,5% [25;35] ( $p<0,001$ ), 27-36 часов 28% [22;30] ( $p<0,05$ ), 37-50 часов 23,5% [20;27] ( $p<0,01$ ), 51-64 часов 18% [17;20] ( $p<0,001$ ) и через 65-78 часов после наступления смерти 14% [12;16] ( $p<0,001$ ).

Статистически значимое снижение CD8 (маркера цитотоксических лимфоцитов) определялось в интервалах времени от 7-16 часов 18% до 27-36 часов 12%, через 51-64 часов 7,5% [17,19;12,17;11,14;5,9] ( $p<0,001$ ), через 37-50 часов 11% и 65-78 часов 4,5% [8,12;2,5] ( $p<0,01$ ) после наступления смерти.

Снижение экспрессии рецептора на Т-лимфоцитах к ИЛ-2 (CD25) отмечалось в интервалах времени: от 7-16 часов 15,5% до 17-26 часов 13%, через 51-64 часов 5%

Таблица 2

**Показатели Т- и В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD3, CD4, CD8, CD25, CD22 (в %) у лиц ( $n=10$ ), умерших от прочих причин смерти (механических травм и асфиксий в результате повешения)**

Показатель	КГ ( $n=15$ )	Время наступления смерти, часы					
		7-16	17-26	27-36	37-50	51-64	65-78
CD3	58,1(55,0-59,1)	52,0(48,0-55,0)***	46,0(43,0-50,0)***	42,0(35,0-43,0)***	36,0(31,0-39,0)***	29,0(24,0-33,0)***	23,0(21,0-28,0)*
CD4	42(40,3-53,5)	36,0(31,0-38,0)***	30,5(25,0-35,0)***	28,0(22,0-30,0)*	24,0(20,0-27,0)**	18,0(17,0-20,0)***	14,0(12,0-16,0)***
CD8	22,6(21,5-24,0)	18,0(17,0-19)***	15(12,0-17,0)***	12,0(11,0-14,0)***	11,0(8,0-12,0)**	7,5(5,0-9,0)***	4,0(2,0-5,0)**
CD25	17(15,9-18,1)	15,5(13,0-17,0)***	13,0(10,0-14,0)***	10,0(9,0-12,0)**	8,0(6,0-11,0)**	5,0(3,0-7,0)***	3,0(2,0-5,0)*
CD22	19,4(18,3-20,3)	15,0(13,0-16,0)***	12,0 (10,0-14,0)**	10,0 (8,0-12,0)***	8,0(6,0-9,0)**	4,5(4,0-5,0)***	2,5 (2,0-3,0)***

Примечание: \* -  $p<0,05$ , \*\* -  $p<0,01$ , \*\*\* -  $p<0,001$ ; КГ – контрольная группа.

[13,17;10,14;3,7] ( $p < 0,001$ ), спустя 27-36 часов 10%, 37-50 часов 8% [9,12;6,11] ( $p < 0,01$ ), и через 65-78 часов после наступления смерти 3% [2;5] ( $p < 0,05$ ).

Снижение экспрессии рецептора CD22 на В-лимфоцитах отмечалось в интервалах времени: 7-16 часов 15% [13;16], 27-36 часов 10% [8;12], 51-64 часа 4,5% [4;5], 65-78 часов 2,5% [2;3] ( $p < 0,001$ ), 17-26 часов 12% [10;14], и спустя 37-50 часов после наступления смерти 8% [6;9] ( $p < 0,01$ ).

### Заключение

Характеристика показателей системы иммунитета позволяет оценить ДНС. В течение первых 6-ти часов после смерти от ишемической болезни сердца, отравления этиловым алкоголем и прочих причин смерти отмечается повышение уровня внутриклеточного кислородзависимого метаболизма. Полная утрата функциональной активности нейтрофилов происходила к окончанию вторых суток с момента наступления смерти.

2. В группе умерших от прочих причин смерти количество Т- и В-лимфоцитов, экспрессирующих молекулы CD3, CD4, CD8, CD22, CD25, достоверно снижается во всех интервалах времени (до 65-78 часов).

3. Определение CD-рецепторов на лимфоцитах при помощи стандартного эритроцитарного диагностикума с моноклональными антителами позволяет определять ДНС по содержанию соответствующих клеток в стандартных условиях. Методики по определению CD-антигенов,

функциональной активности лейкоцитов (спонтанный и индуцированный НСТ-тест) могут быть использованы в лаборатории судебно-медицинской экспертизы.

### Литература

1. Мельников, Ю.Л. Судебно-медицинское определение времени наступления смерти / Ю.Л. Мельников, В.В. Жаров. – М.: Медицина. – 1978. – 168 с.
2. Казарновская, М.Л. Репродукция лимфоцитов трупной крови. Судебно-медицинские и биологические аспекты / М.Л. Казарновская. – Кишинев: Штиинца, 1983. – 104 с.
3. Костылев, В.И. Зависимость иммунных показателей крови умерших от заболеваний в динамике раннего посмертного периода / В.И. Костылев // *Вопр. теории и практики суд.-мед. экспертизы.* – 1999. – С. 76–77.
4. Сафин, Р.Я. Применение иммунологических методов исследования трупной крови для определения давности наступления смерти / Р.Я. Сафин // *Естествознание и гуманизм: сб. науч. тр. / под ред. Н.Н. Ильинских.* – Томск, 2006. – Т. 3, № 2. – С. 94–95.
5. Park, V.H. Infection and nitroblue-tetrazolium reduction by neutrophils / V.H. Park, S.M. Fikrig, E.M. Smithwick // *A diagnostic acid.* – *Lancet* 2. – 1968. – P. 532–534.
6. Шубич, М.Г. НСТ-тест у детей в норме и при гнойно-бактериальных инфекциях / М.Г. Шубич // *Лаб. дело.* – 1978. – № 9. – С. 515–518.
7. Новиков, Д.К. Методы определения Т- и В-лимфоцитов диагностикумами на основании моноклональных антител / Д.К. Новиков, П.Д. Новиков, В.Я. Янченко // *Иммунология, аллергология, инфектология.* – 2000. – № 2. – С. 31–33.
8. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва. – М.: Медиа Сфера. – 2006. – 312 с.

Поступила 24.06.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Денисенко А.Г. – к.м.н., ассистент кафедры судебной медицины УО «ВГМУ»;

Яблонский М.Ф. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой судебной медицины УО «ВГМУ».

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

## ПЛАСТИКА ПЕРЕДНЕЙ СТЕНКИ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНОЙ ПАЗУХИ

КАБАНОВА А.А., КАБАНОВА С.А., БОГДАН Н.Ю., ЧЕРНИНА Т.Н.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра стоматологии детского возраста и челюстно-лицевой хирургии

**Резюме.** Цель - разработать и апробировать метод пластики передней стенки верхнечелюстной пазухи местным костно-надкостничным лоскутом.

Разработанный и апробированный в клинике способ пластики передней стенки верхнечелюстной пазухи местным костно-надкостничным лоскутом хорошо переносится пациентами и повышает эффективность оперативного лечения синуситов. Способ показан при различных манипуляциях на верхнечелюстной пазухе.

*Ключевые слова:* пластика, передняя стенка верхнечелюстной пазухи.

**Abstract.** The aim of this study is to develop and to test the method of plasty of the anterior wall of the maxillary sinus by the local bone-periosteal graft.

The developed and tested at the clinic method of plasty of the anterior wall of the maxillary sinus by local bone-periosteal graft is well tolerated by the patients and increases the efficacy of surgical treatment. The method is recommended for different surgical manipulations on the maxillary sinus.

*Key words:* plasty, the anterior wall of the maxillary sinus.

**П**роблема верхнечелюстных синуситов продолжает привлекать внимание специалистов двух направлений – оториноларингологии и стоматологии. По данным стоматологов, одонтогенный синусит обнаруживается в 12-50% от общего числа пациентов с хроническим синуситом. Лица с одонтогенным верхнечелюстным синуситом составляют около 25,8% среди пациентов с воспалительными процессами верхнечелюстной пазухи и около 7,6% всех пациентов челюстно-лицевых стационаров. В последние годы наблюдается устойчивая

тенденция к увеличению числа пациентов с одонтогенными синуситами [1-3].

Одним из основных методов лечения пациентов с синуситами до настоящего времени является радикальное хирургическое вмешательство. Существующие методы лечения пациентов с верхнечелюстными синуситами несовершенны, травматичны и малоэффективны. Наиболее распространены в клинической практике являются операции по Колдуэллу-Люку, А.И. Иванову и Денкеру, которые производятся через преддверие полости рта.

Многие авторы считают противоестественным и травматичным разрушение передней костной стенки, когда мягкие ткани щеки, лишённые опоры, впоследствии втягиваются в сторону пазухи и вместе с рубцами образуют в пазухе перемычки или заполняют ее, приводя к рецидиву и необходимости повторной операции. Поэтому

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра стоматологии детского возраста и челюстно-лицевой хирургии. Тел.моб.: +375 (29) 295-33-54 – Кабанова Арина Александровна.

имеется большое количество предложений о костно-пластическом восстановлении передней стенки пазухи после наружной антротомии. Г.Н. Марченко (1968) с целью костной пластики передней стенки пазухи после выпиливания трепаном пластинки круглой формы и вмешательства на пазухе пластинку реплантировал на прежнее место и укреплял кетгутовыми швами через заранее проделанные отверстия [4].

В последнее время получают распространение различные остеоиндуктивные материалы, такие, как колапан, колапол, остеопласт, которые используются для закрытия костного дефекта. Совместно с этими материалами необходимо применение резорбируемой или нерезорбируемой биологической мембраны (викрил, пародонкол).

По данным различных авторов, реконструкция стенок верхнечелюстной пазухи проводится с применением костных, хрящевых и фасциальных аутооттрансплантатов, а также с использованием аллопластических материалов, в частности деминерализованных костных трансплантатов. В случае обширных дефектов применяются пластины из титана и высокомолекулярного полиэтилена, корундовая керамика [5, 6].

По данным литературы, одним из материалов для пластики послеоперационных дефектов в передних стенках верхнечелюстных пазух являются деминерализованные костные трансплантаты (ДКТ). ДКТ, как материал для имплантации при закрытии послеоперационного дефекта в передней стенке верхнечелюстной пазухи имеет некоторые преимущества перед другими имплантатами, так как он в отдаленном послеоперационном периоде восстанавливает структуру и форму разрушенной плоской кости передней стенки пазухи. ДКТ обладает упругостью, возможностью легкого моделирования, минимальной антигенной активностью, способностью интенсивно индуцировать остеогенез. Кроме того, в послеоперационном периоде после имплантации ДКТ не отмечается расхождение швов. Недостатком является необходимость забора костной ткани, до-

полнительная травма и связанные с этим проблемы заживления [7].

Для закрытия дефекта ряд клиницистов используют имплантаты из пористого проницаемого никелида титана с памятью формы. Перед проведением пластики, снимают незначительную часть компактного слоя кости передней стенки. Затем формируют соответствующий диск из пористого никелида титана и укладывают его на края костного дефекта поднадкостнично, укрывают мягкими тканями, рану ушивают наглухо рассасывающейся нитью. Однако данные импланты доступны далеко не всем клиникам [8].

По методике Р.М. Николаева (1999) на костный дефект в области передней стенки верхнечелюстной пазухи поднадкостнично укладывается имплантат из титановой сетки с ситалловым напылением, которая обладает высокой пластичностью, пористостью за счет напыления порошка биоситалла, что должно обеспечивать хорошую биосовместимость с мягкими и костными тканями, высокую адгезию к ним. Но края имплантата из титановой сетки с напыленным биоситаллом очень острые, что представляет значительную трудность при введении его под мягкие ткани и последующим закрытии тканями [9].

Известен способ лечения хронического одонтогенного перфоративного верхнечелюстного синусита, при котором производится дополнительно пластика передней стенки верхнечелюстной пазухи деминерализованной аллокостью для профилактики прорастания мягких тканей подглазничной области в синус. В данной ситуации возникает вопрос заживления костной раны. В качестве оптимизаторов репаративного остеогенеза используется обширный арсенал препаратов, имеющих различное происхождение и химический состав. Данные материалы в процессе биотрансформации способствуют постановлению нативной костной ткани в области изъяна костной ткани челюстей, возникших в результате травматического повреждения или во время выполнения

оперативного вмешательства на твердых тканях костей лицевого скелета. Наиболее перспективным является синтетический материал «ЛитАр». Неорганический компонент композита представлен гидроксоапатитом, являющимся основным минералом нативной кости, а органический – ксеногенным коллагеном. Материал представляет собой плотное вещество, легко моделирующееся в дефектном участке кости, не обладающее иммуногенным и канцерогенным эффектом, доступное для широкой практики [10].

Таким образом, рассмотренные выше методики пластики передней стенки верхнечелюстной пазухи далеко не совершенны. Некоторые из них требуют проведения дополнительных вмешательств для забора аутоотрансплантата, другие основаны на внедрении в организм пациента инородных тел. И в том и другом случае, наиболее значимой проблемой является несовершенство условий для приживания трансплантата или остеоинтеграции в случае использования имплантата.

Цель исследования - разработать и апробировать метод пластики передней стенки верхнечелюстной пазухи местным костно-надкостничным лоскутом.

### Методы

Для реализации разработанного метода используются оборудование, инструменты и лекарственные препараты для анестезиологического пособия; антисептики (фурациллин, хлоргексидин и т.п.); местные анестетики (новокаин, лидокаин или артикаин); набор инструментов для манипуляций на верхнечелюстной пазухе; бор-машина с прямым наконечником; шаровидный стоматологический бор, фиссурный бор, фреза; синтетический рассасывающийся шовный материал (ПГА 4/0 (USP)).

Способ показан при различных манипуляциях на верхнечелюстной пазухе, таких как синусотомия (радикальная и щадящая), синуслифтинг, ревизия пазухи по другим показаниям (биопсия, удаление

инородного тела). Способ противопоказан при подозрении на злокачественную опухоль и остеомиелите в области верхней челюсти, а также тяжелых общесоматических состояниях.

Разработанный метод включает в себя ряд последовательных этапов:

1. Обработка операционного поля.
2. Проведение общего и/или местного обезболивания по показаниям.
3. Проведение разреза по переходной складке от клыка до второго моляра верхней челюсти на толщину слизистой оболочки.
4. Отслоение распатором слизистого лоскута, обнажая переднюю стенку верхнечелюстной пазухи, покрытую надкостницей.
5. Рассечение скальпелем надкостницы в форме полуэллипса, в области клыковой ямки по периметру будущего трепанационного отверстия, оставляя перемычку – питающую ножку – в месте наиболее толстой надкостницы. Отслоение надкостницы на 1-2 мм в сторону от линии разреза.
6. Фенестрирование передней стенки верхнечелюстной пазухи по линии рассечения надкостницы тонким шаровидным бором. Формирование фрагмента передней стенки верхнечелюстной пазухи в виде полуэллипса, фиксированного к надлежащей надкостнице.
7. С помощью гладилки, распатора или кровоостанавливающего зажима, проведение остеотомии тонкого кортикального слоя кости в области сохранившейся костной перемычки, подъем полученного костно-надкостничного фрагмента передней стенки верхнечелюстной пазухи, создавая доступ к пазухе. При этом выпиленный и приподнятый участок остается связанным за счет питающей ножки с надкостницей верхней челюсти.
8. Проведение необходимых манипуляций в верхнечелюстной пазухе и её тампонада по показаниям.
9. Укладка костно-надкостничного фрагмента на место. Наложение швов по периметру фрагмента на надкостницу. Наложение швов на слизистую оболочку.

10. Проведение обработки антисептиками и гемостаза по ходу операции.

Для обоснования эффективности предложенной методики обследовано 26 пациентов с хроническим одонтогенным верхнечелюстным синуситом, находившихся на стационарном лечении в стоматологическом отделении Витебской областной клинической больницы. Пациенты были разделены на две группы: пациентам контрольной группы (10 человек) была проведена классическая синусотомия, пациентам основной группы (16 человек) – синусотомия с разработанным способом пластики передней стенки верхнечелюстной пазухи. У 5 (50%) пациентов контрольной группы и 9 (56%) пациентов основной группы имело место синусо-оральное соустье и одновременно с синусотомией проведена пластика соустья. Все операции проводилась одной бригадой хирургов под нейролептаналгезией и местной анестезией 4 % раствором артикаина. Тяжелой общесоматической патологии у пациентов выявлено не было. Возраст пациентов варьировал от 18 до 48 лет, при этом распределение лиц по полу и возрасту в сравниваемых группах было одинаковым. Все пациенты были госпитализированы в плановом порядке, длительность заболевания варьировала от 2 месяцев до 3 лет. Для каждого пациента определяли: субъективно – жалобы пациента после операции; объективно – выраженность отека на следующие сутки после операции в баллах от 0 до 2, наличие гематомы после операции, рентгенологическую картину в динамике. По истечению среднего для данной патологии срока лечения пациенты были выписаны, у них не наблюдались послеоперационных осложнений.

Полученные результаты обрабатывались с помощью компьютерных программ Statistica 6.0 и «Excel». Перед использованием методов описательной статистики определяли тип распределения количественных признаков. Для признаков с нормальным распределением рассчитывали среднюю арифметическую (M) и стандартное отклонение ( $\delta$ ). При распределении признака, отличном от нормального, вы-

числяли медиану (Me), нижний 25-й (LQ) и верхний 75-й квартили (UQ). Для оценки статистической значимости между несвязанными группами использовался критерий Манна-Уитни (U) [11].

## Результаты и обсуждение

Жалобы пациентов после хирургического вмешательства синусотомии сводились к наличию умеренных болей в области послеоперационной раны, отека мягких тканей. Субъективно пациенты основной группы, которым была проведена пластика передней стенки верхнечелюстной пазухи по разработанному методу, отмечали менее выраженный болевой синдром и менее выраженную асимметрию лица по сравнению с пациентами контрольной группы, в лечении которых не использовалась пластика передней стенки пазухи.

Объективно в группе контроля выраженность послеоперационного отека составила 1,5 (1;2) балла, тогда как в основной группе данный показатель составил 1 (0;1) балл,  $p=0,02$ .

Полученные данные указывают на менее выраженный послеоперационный отек у пациентов, которым была проведена пластика передней стенки верхнечелюстной пазухи по предложенной нами методике.

У трех пациентов (33%) контрольной группы имела место различной степени выраженности послеоперационная гематома, тогда как в основной группе лишь у одного пациента (6%) после операции развилась умеренно выраженная гематома, что указывает на снижение вероятности образования гематомы после синусотомии с использованием пластики передней стенки верхнечелюстной пазухи.

Наиболее значимые отличия были получены при сравнении рентгенологической картины прооперированных верхнечелюстных пазух пациентов контрольной и основной групп.

При поступлении у всех пациентов рентгенологически определяли либо тотальное затемнение ВЧП (у 18), либо

уровень жидкости с пристеночным отеком слизистой (у 8). На 10-11-й день после классической синусотомии рентгенограммы выявили снижение пневматизации синуса с пристеночным затемнением. На контрольных рентгенограммах через 1,5-2 месяца снижение пневматизации сохранялось, хотя пристеночное затемнение значительно уменьшилось. При синусотомии с пластикой передней стенки пазухи рентгенография на 10-11-й день после операции выявила снижение пневматизации верхнечелюстных пазух с пристеночным затемнением, а через 1,5-2 месяца оперированная и здоровая пазуха практически не различались.

### Заключение

На основании полученных результатов исследования можно сделать вывод, что разработанный и апробированный в клинике способ пластики передней стенки верхнечелюстной пазухи местным костно-надкостничным лоскутом легче переносится пациентами относительно классической синусотомии. Рентгенологическая картина свидетельствует о полном восстановлении анатомии и функции оперированных предложенным методом верхнечелюстных пазух. Метод прост, доступен и может быть рекомендован к применению в отделениях челюстно-лицевой хирургии стационаров и в хирургических кабинетах стоматологических поликлиник.

### Литература

1. Евдокимов, А.И. Руководство по хирургической стоматологии / под ред. А.И. Евдокимова. – М., 1972. – 192 с.
2. Кабанова, С.А. Одонтогенный гемисинусит у ребенка раннего возраста / С.А. Кабанова, М.В. Олевский, А.А. Кабанова // *Стоматолог.* – 2011. – № 3. – 60–62.
3. Походенько-Чудакова, И.О. Комплексное лечение одонтогенных синуситов с применением рефлексотерапии / И.О. Походенько-Чудакова, Ю.М. Казакова, Ю.А. Адамчик // *Стоматол. журн.* – 2005. – № 2. – С. 28–30.
4. Тимофеев, А.А. Руководство по челюстно-лицевой хирургии и хирургической стоматологии / А.А. Тимофеев. – К., 2004. – 1062 с.
5. Груздев, Н.А. Щадящие методы операций на гайморовой полости / Н.А. Груздев // *Сб. науч. работ Волгоград. мед. ин-та.* – 1970. – Т. 23/а. – С. 500–502.
6. Еловигов, А. М. Пластика костных дефектов и полостей конструкциями, изготовленными из углерод-углеродного материала «Углекон-М» при хирургических вмешательствах на околоносовых пазухах : автореф. дис. ... к.м.н. / А.М. Еловигова. – Пермь, 2003. – 22 с.
7. Combination of transconjunctival and endonasal-transantral approach in the repair of blowout fractures involving the orbital floor / M. Kakibuchi [et al.] // *J. Plast. Surg.* – 2004. – Vol. 57, № 1. – P. 37–44.
8. Яценко, В. В. Сравнительный анализ способов реконструкции стенок околоносовых пазух / В.В. Яценко, И. М. Король // *Мед. панорама.* – 2007. – № 7. – С. 49–51.
9. Волков, А.Г. Закрытие послеоперационного дефекта передней стенки верхнечелюстной пазухи имплантатом из никелида титана / А.Г. Волков, А.Р. Боджоков // *Материалы V Всерос. науч.-практ. конф.* – М., 2006. – С. 201–202.
10. Волков, А.Г. Пластика передней стенки верхнечелюстной пазухи сеткой из титана с ситалловым покрытием / А.Г. Волков, А.Р. Боджоков // *Материалы II науч.-практ. конф. оторинолар. ЮФО.* – Лос, 2006. – С. 18–19.
11. Реброва, О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О.Ю. Реброва – М. : МедиаСфера, 2002. – 312 с.

*Поступила 30.04.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

### Сведения об авторах:

Кабанова А.А. – к.м.н., доцент кафедры стоматологии детского возраста и челюстно-лицевой хирургии УО «ВГМУ»;

Кабанова С.А. – к.м.н., доцент, декан стоматологического факультета УО «ВГМУ»;

Богдан Н.Ю. – студентка 5 курса стоматологического факультета УО «ВГМУ»;

Чернина Т.Н. – старший преподаватель кафедры стоматологии детского возраста и челюстно-лицевой хирургии УО «ВГМУ».

© ЧЕРНЯВСКИЙ Ю.П., ШУПИЛКИН Н.В., 2013

## ЭФФЕКТИВНОСТЬ ОБТУРАЦИИ СИСТЕМЫ КОРНЕВОГО КАНАЛА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РУЧНОГО И МЕХАНИЧЕСКОГО ЭНДОДОНТИЧЕСКОГО ИНСТРУМЕНТАРИЯ

ЧЕРНЯВСКИЙ Ю.П., ШУПИЛКИН Н.В.

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра терапевтической стоматологии

**Резюме.** В работе представлены результаты оценки эффективности obturation системы корневого канала с использованием ручного и машинного никель-титанового эндодонтического инструментария. Объектами исследования явились 18 групп поперечных срезов экстрагированных зубов человека, корневые каналы которых обрабатывались с использованием ручного эндодонтического инструментария методом «Step back» и obturировались методом латеральной конденсации гуттаперчи. Группой сравнения служили 18 групп поперечных срезов зубов человека, корневые каналы которых обрабатывались с использованием машинного инструментария (файлы Pro Taper) методом «Crown down» и obturировались методом одного штифта с использованием гуттаперчевых штифтов повышенной конусности. Оценка эффективности плотности obturation проводилась по значениям коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала, количеству пор и проникновению окрашенного силера в структуру корневого дентина. В результате исследования установлено, что с помощью ротационного инструментария можно в 2 раза быстрее обработать и obturировать корневой канал, придав ему правильную конусовидную форму, причём obturation проводилась равномерно качественно на всём протяжении с максимумом у апекса, при этом наблюдалось меньше пор и поднутрений.

*Ключевые слова:* система корневых каналов, obturation, силер, «step back», «crown down», pro taper.

**Abstract.** This paper presents the results of the efficacy evaluation of the root canal system obturation with the use of handworked and mechanical nickel-titanium endodontic instrumentation. The objects of the study were 18 groups of cross sections of extracted human teeth, root canals of which were processed with the use of handworked endodontic instrumentation by the «step back» method and obturated by means of the gutta-percha lateral condensation method. The comparative group included 18 groups of cross sections of human teeth, root canals of which were processed with the use of mechanical instrumentation («pro taper» files) by the «crown down» method and obturated by means of one dowel method with the use of gutta-percha dowels. The efficacy assessment of obturation density was conducted according to the values of correlation coefficients of the sealer area with the root canal area, pores quantity and the penetration of the painted sealer into the structure of the root dentine. As a result of this study we have found that by means of rotary instruments it is possible to process and obturate the root canal 2 times quicker having given correct cone-shaped form to it, obturation being performed evenly qualitatively on all length with maximum at apex, less pores and undercuts are observed at that.

*Key words:* root canal system, obturation, sealer, «step back», «crown down», pro taper.

Согласно современным представлениям после постановки диагноза «пульпит», «апикальный перио-

донтит» успех эндодонтического лечения предопределяется качественным проведением основных этапов включающих механическую и медикаментозную обработку корневых каналов с последующей трёхмерной obturation [1, 2]. Инструментальная обработка корневого канала должна быть направлена, с одной стороны, на механическое удаление любых воспаленных,

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра терапевтической стоматологии. Тел.раб.: 8 (0212) 56-12-35 – Чернявский Юрий Павлович.



инфицированных, дегенеративно измененных и некротизированных тканей пульпы внутри корневого канала, с другой стороны, на трёхмерное формирование канала, которое является обязательным условием для обеспечения очистки и, в дальнейшем, качественной его obturation [3, 4, 5].

В связи с этим большое значение имеет наличие знаний анатомии коронковой и корневой частей зуба. Система корневого канала, имеет сложное строение. В ней наряду с основными каналами, находятся дополнительные каналы, ответвления и анастомозы, где микроорганизмы в виде биопленки продолжают свою жизнедеятельность [6].

Таким образом, весьма актуальным представляется исследование, направленное на изучение эффективности методов механической обработки и obturation системы корневых каналов, что будет способствовать повышению качества эндодонтического лечения.

Целью препарирования корневого канала является: создание воронкообразной формы канала с минимальным диаметром в области физиологического сужения и максимальным - у его входа; сохранение анатомической формы отпрепарированного канала; сохранение баланса между диаметром канала и толщиной его стенок, согласно принципам щадящего препарирования, с учетом того, что размер каналов в вестибуло-оральном направлении чаще больше, чем в мезио-дистальном [7].

В современной эндодонтии используются новые технологии обработки корневых каналов. При этом на смену традиционным классическим инструментам с конусностью 2% приходят никель-титановые с повышенной конусностью (Profile, GT Rotary, ProTaper и др.), применение которых облегчает работу врача, требуя меньшего количества инструментов для получения равномерной конической формы корневого канала по всей длине. Конусность канала, улучшает распределение ирригационных растворов и очистку апикальной части корневого канала, что способствует более полному удалению бак-

териальной флоры и подходит для любой техники пломбирования [3].

Основным достоинством ручных инструментов является возможность обрабатывать изогнутые и тонкие корневые каналы с наименьшим процентом поломки, а недостатком - низкая скорость механической обработки каналов.

Ротационные инструменты позволяют достаточно быстро обработать корневой канал с формированием более выраженной конусности его стенок, что необходимо для эффективной ирригации и obturation. Современные эндодонтические моторы контролируют момент вращения (оптимальным считается 200-300 об/мин) с целью предотвращения заклинивания и перелома инструмента в корневом канале. Однако машинная обработка снижает мануальные ощущения у стоматолога. В результате чего, резко возрастает число ошибок и осложнений в виде поломки инструментов, нарушения физиологического сужения, проталкивания инфицированных опилок корневого дентина за апикальное отверстие, перегрев и травма периодонта. Визуальный контроль качества, являющийся основным при использовании ручных инструментов, в этом случае теряет свою эффективность.

Разработаны основные принципы и методики инструментальной обработки, согласно которым, после формирования доступа к устьям корневых каналов, в асептических условиях определяют рабочую длину канала и проводят его обработку оптимальной методикой.

Методы механической обработки корневых каналов подразделяются на две группы:

1) Апикально-корональные: корневой канал препарируется от верхушки к устью инструментами увеличивающихся размеров.

2) Коронально-апикальные: корневой канал препарируется от устья к верхушке инструментами уменьшающихся размеров.

В практической работе врачи-стоматологи в основном используют два метода:

«Step back» и «Crown down». Эти техники применяют самостоятельно или в сочетании друг с другом. Каждая из техник имеет свои показания и недостатки [8].

Апикально-корональные методы просты в освоении, риск осложнений при их применении минимален. Техника «Step Back» («Шаг назад») предусматривает использование комплекта К-файлов и инструментов для расширения корневого канала (например, «Gates glidden»). Обработку канала проводят от апикальной части к устьевой с помощью инструментов возрастающего диаметра. Техника «Step Back» применяют при хорошо проходимых каналах. В тоже время недостатком техники «Step Back» является возможность проталкивания инфицированных дентинных опилок за верхушечное отверстие или образование дентинной «пробки»; нарушение позиции апикального сужения за счёт неконтролируемого изменения рабочей длины зуба во время обработки и выпрямления искривлённых каналов; возможность перфорации канала [9].

Коронально-апикальные методы показаны при значительной инфицированности содержимого корневого канала, при работе никель-титановыми инструментами. Проведение техники «Crown down» обеспечивает хороший доступ к апикальной части канала, уменьшает риск инфицирования периапикальных тканей, наблюдается более полное удаление смазанного слоя благодаря улучшенному контакту хелатного агента со стенками канала, осуществляется более точный контроль за рабочей длиной, очисткой и расширением канала с учетом биологии апикальных тканей корня и окружающих тканей. Кроме того, облегчается проведение медикаментозной обработки, снижается риск заклинивания и перелома инструмента в апикальной части канала, снижается риск «потери рабочей длины» и риск блокирования апикальной части канала мягкими тканями и дентинными опилками. Сохраняется первоначальная анатомическая форма и направление канала, улучшается тактильный контроль.

Недостаток заключается в невозможности точно определить проходимость и рабочую длину канала в начале работы [10]. Техника «Crown Down» (от коронки вниз) лежит в основе техники применения никель-титановых файлов Pro Taper [11]. Существуют две техники препарирования файлами Pro Taper: для средних и длинных каналов и для коротких каналов.

Успех эндодонтического лечения во многом зависит от качества obturation корневого канала. Для заполнения корневых каналов различными школами отечественной стоматологии традиционно отдавалось предпочтение тем или иным материалам. В зависимости от исходной и конечной консистенции они подразделялись на твердеющие (цементы и некоторые пасты, нетвердеющие (пасты), твердые (штифты).

Целью пломбирования системы корневых каналов является сохранение ее биологически инертного состояния, предотвращение повторного инфицирования и проникновения микроорганизмов в периодонт. Трехмерная obturation системы корневых каналов после качественно проведенных этапов механо-медикаментозной обработки предотвращает микроподтекание и повторное инфицирование периодонта, а также создает благоприятные условия для регенерации тканей. Современные методики пломбирования предусматривают сочетание различных форм гуттаперчи (филера) с корневым цементом (силером) и обеспечивают трехмерное заполнение корневого канала на контролируемую глубину [1, 2].

Основные методы obturation корневых каналов на современном этапе: метод одной пасты, метод одного штифта, метод латеральной конденсации гуттаперчи, вертикальное уплотнение гуттаперчи, термомеханическое уплотнение гуттаперчи, введение гуттаперчи на носителе (термафилы), латерально-вертикальная конденсация.

При методе одного штифта канал пломбируется пастой, после чего вводится 1 гуттаперчевый штифт, предварительно

припасованный в канале. Метод одного штифта позволяет запломбировать корневой канал более надёжно, чем при применении одной лишь пасты. Положительными сторонами его являются простота проведения и относительно низкая стоимость. Кроме того, при данной технологии могут применяться штифты из любого материала. Отрицательной стороной является недостаточно надёжная obturation канала. Метод одного штифта рекомендуется применять только при пломбировании каналов округлого сечения, когда штифт плотно прилегает к стенкам канала [12, 13].

Метод латеральной конденсации холодной гуттаперчи представляет ряд этапов: припасовка основного штифта, введение герметика, введение основного штифта, смазанного силером; оттеснение штифта спредером к стенке канала, введение дополнительного штифта с силером, рентгенологический контроль, срезание гуттаперчи и ее расплавление разогретым инструментом на уровне устья корневого канала. После припасовки основных и дополнительных штифтов производится срезание на уровне режущего края или бугров зуба и рентгенконтроль. Затем штифты срезаются на уровне устья корневого канала и дополнительно расплавляются с помощью разогретого инструмента. Недостатком этого метода является возможность раскола зуба (перелом). Методика латеральной конденсации является простой, относительно дешёвой и в то же время очень эффективной. При этом достигается очень надёжное закрытие апикального отверстия и полноценное заполнение всего просвета корневого канала.

Целью нашего исследования явилась оценка эффективности obturation системы корневого канала с использованием ручного и машинного никель-титанового эндодонтического инструментария.

### Методы

Для оценки качества obturation использовали 36 экстрагированных по медицинским показаниям зубов пациентов.

Зубы с кариесом корня, открытым апексом, трещинами, внутренней или внешней резорбцией или кальцификациями исключались из наблюдения. Согласно методике удалённые зубы хранились в 10% растворе формальдегида на протяжении 14 дней. Затем с помощью щёточек для микромотора и пасты «Полидент №1» (ВладМиВа, РФ) удалялся зубной налёт и органические остатки с поверхности корня зуба. Шаровидным алмазным бором №3 трепанировалась коронка зуба со стороны окклюзионной поверхности, экскаватором удалялась коронковая пульпа, канал проходили файлом №10 до апикального отверстия. Все манипуляции выполнялись под ванночкой 3% раствора «Белодез» (ВладМиВа, РФ). Далее с помощью шприца с дистиллированной водой проводили проверку проходимости апикального отверстия. Зубы, через апикальное отверстие которых не проходила жидкость, исключались из эксперимента.

Далее образцы зубов делились на 2 группы количеством по 18. В каждую группу входило 2 трёхкорневых моляра, 2 двухкорневых моляра, 6 двухкорневых премоляров и 8 однокорневых зубов.

В группе № 1 на следующем этапе техникой Step back проводилась механическая обработка корневых каналов ручными инструментами до 40 размера. Использовались К-файлы для расширения каналов и Н-файлы для выравнивания стенок. После каждой смены инструмента канал промывали 3% раствором гипохлорита натрия с помощью эндодонтического шприца.

Каналы пломбировались методом латеральной конденсации гуттаперчевыми штифтами с использованием пасты «Тиэ-дент» (ВладМиВа, РФ) в качестве силера. Для придания ему цветовой контрастности к порошку силера добавляли порошок красителя генцианфиолетовый [14, 15]. Проводился хронометраж механической обработки и obturation.

В группе № 2 на следующем этапе проводилась механическая обработка корневых каналов микромотором «X-Smart»

со скоростью 250 - 300 об/мин при помощи эндодонтического набора «РгоТарег» (Maillefer, Швейцария) для машинной обработки корневого канала до размеров файлов F2 и F3.

Предварительно перед их использованием устья корневых каналов расширялись инструментами Gates Glidden № 1-3 (Maillefer, Швейцария), а в канале создавалась «ковровая дорожка» при помощи ручных инструментов – К-файлов №8. Определялась рабочая длина и каналы обрабатывали К-файлами до 15 номера. Машинные инструменты использовались только после внесения в канал препарата «Эндогель №2» (ВладМиВа, РФ). После каждой смены инструмента канал промывали дистиллированной водой в объёме 10 см<sup>3</sup> с помощью эндодонтического шприца.

Каналы пломбировались методом одного штифта с использованием гуттаперчи повышенной конусности и пасты «Тиэ-дент» (ВладМиВа, РФ) в качестве силера. Для придания контрастности запломбированному каналу к порошку силера добавляли порошок красителя генцианфиолетовый, также проводился хронометраж механической обработки и obturation.

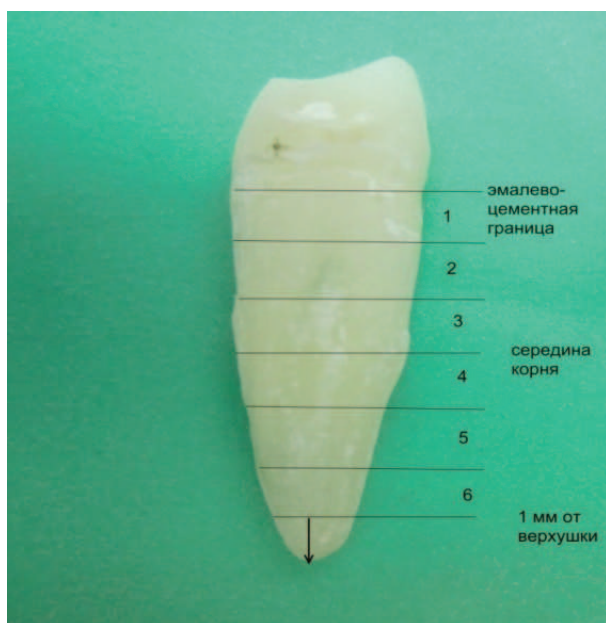


Рис. Уровни срезов зуба.

Для отверждения корневой пломбы делался перерыв на 3 дня. Зубы хранились в банке с притёртой крышкой.

Корень каждого зуба для проведения в дальнейшем поперечных срезов размечали тонким маркером (рис. 1).

Нижний уровень среза проходил на 1 мм отступя от апикального отверстия, верхний уровень размечался по эмалево-цементной границе. Далее наносилась метка на середине расстояния между двумя предыдущими уровнями. Затем расстояние между условной срединной меткой, нижней и верхней делилось на три равные части каждое. Таким образом мы намечали шесть границ будущих срезов. Затем проводились срезы зубов в горизонтальной проекции на шести уровнях с последующей фотофиксацией цифровой фотокамерой Samsung S100. Все изображения обрабатывались в компьютерной программе PhotoM 1.21. dedicated, где изображения негативировали для лучшей визуализации. Проводилась оценка качества обработки системы корневого канала.

На каждом уровне срезов (при обработке корневых каналов техникой «Step back» и последующей obturation методом латеральной конденсации) оценивался коэффициент соотношения площади силера к площади корневого канала. Аналогичным образом оценивался коэффициент соотношения площади силера к площади корневого канала при обработке корневых каналов техникой «Crown down» и последующей obturation методом одного штифта с использованием штифтов повышенной конусности.

Далее рассчитывались средние показатели коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала в двух группах для каждого уровня срезов.

Также учитывали количество пор и степень проникновения окрашенного силера в дентинные каналы корневого канала на всех уровнях срезов.

Полученные данные обрабатывались с помощью компьютерной программы StatPlus 2009 Professional 5.8.4-1.

### Результаты и обсуждение

Нами было получено 216 поперечных срезов 36 зубов. При их визуализации и последующей компьютерной обработке установлено, что в результате механической обработки корневого канала ручным инструментарием с последующей obturацией методом латеральной конденсации наблюдались не обработанные участки и канал в 60% случаев имел форму неправильной геометрической фигуры. При обработке корневого канала никель-титановыми инструментами Pro Taper и последующей obturацией методом одного штифта с использованием штифтов повышенной конусности стенки канала были равномерно обработаны по периметру и канал имел правильную конусовидную форму.

Произведены расчёты коэффициентов соотношения площади силера к пло-

щади корневого канала при обработке корневых каналов техникой «Step back» и последующей obturации методом латеральной конденсации. Данные представлены в таблицах 1, 2.

Рассчитаны коэффициенты соотношения площади силера к площади корневого канала при обработке корневых каналов техникой «Crown down» и последующей obturации методом одного штифта с использованием штифтов повышенной конусности. Данные представлены в таблицах 3, 4.

На четвёртом, пятом и шестом апикальных уровнях срезов наблюдается слабая прямая корреляция между коэффициентами двух групп срезов ( $r=0,959$ ;  $0,894$ ;  $0,923$ ). С первого по третий уровни отмечается слабая обратная корреляция коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала ( $r=-0,136$ ;  $-0,163$ ;  $-0,02$ ).

Таблица 1

#### Значение коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала

Уровни срезов	Нумерация срезов								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0,339	0,412	0,653	0,489	0,333	0,429	0,522	0,623	0,643
2	0,416	0,526	0,585	0,42	0,565	0,425	0,517	0,336	0,634
3	0,463	0,623	0,533	0,266	0,471	0,451	0,519	0,487	0,589
4	0,357	0,595	0,482	0,391	0,339	0,649	0,261	0,583	0,597
5	0,568	0,667	0,62	0,427	0,196	0,536	0,412	0,558	0,571
6	0,574	0,533	0,571	0,558	0,58	0,441	0,432	0,609	0,557

Таблица 2

#### Значение коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала

Уровни срезов	Нумерация срезов								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0,507	0,408	0,302	0,606	0,342	0,641	0,246	0,394	0,516
2	0,393	0,402	0,394	0,526	0,57	0,679	0,437	0,433	0,541
3	0,383	0,581	0,489	0,377	0,592	0,539	0,504	0,542	0,427
4	0,621	0,613	0,556	0,402	0,610	0,491	0,438	0,479	0,485
5	0,623	0,38	0,508	0,503	0,413	0,509	0,484	0,506	0,515
6	0,612	0,441	0,586	0,54	0,494	0,55	0,529	0,523	0,559

Средние показатели коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала в двух группах для каждого уровня срезов приведены в таблице 5. Чем ниже значения коэффициента, тем более качественная obturation на данном уровне.

Данные о количестве пор, не заполненных силером и гуттаперчей на всех уровнях срезов в процентах от общего числа срезов данной группы представлены в таблице 6.

Степень проникновения окрашенного силера в структуру корневого дентина на всех уровнях срезов отражена в таблице 7.

В группе, где корневые каналы обрабатывались ручным эндодонтическим инструментарием методом «Step back» и obturировались методом латеральной конденсации гуттаперчи, время обработки одного корневого канала составило около 8 минут, время obturation корневого канала составило около 6 минут.

Таблица 3

### Значения коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала

Уровни срезов	Нумерация срезов								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	0,339	0,371	0,448	0,439	0,492	0,388	0,594	0,353	0,326
2	0,416	0,420	0,498	0,539	0,511	0,407	0,434	0,451	0,391
3	0,463	0,309	0,442	0,523	0,530	0,471	0,529	0,629	0,372
4	0,357	0,426	0,36	0,297	0,56	0,519	0,492	0,54	0,474
5	0,568	0,664	0,553	0,507	0,539	0,659	0,691	0,669	0,494
6	0,574	0,67	0,602	0,705	0,541	0,601	0,647	0,798	0,552

Таблица 4

### Значения коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала

Уровни срезов	Нумерация срезов								
	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1	0,345	0,346	0,198	0,636	0,46	0,457	0,424	0,489	0,348
2	0,367	0,449	0,472	0,402	0,477	0,506	0,455	0,602	0,465
3	0,368	0,42	0,353	0,465	0,434	0,488	0,442	0,764	0,474
4	0,458	0,404	0,431	0,492	0,534	0,489	0,442	0,604	0,449
5	0,536	0,554	0,704	0,569	0,532	0,481	0,451	0,739	0,663
6	0,465	0,484	0,637	0,736	0,652	0,646	0,768	0,857	0,549

Таблица 5

### Средние показатели коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала в двух группах для каждого уровня срезов

Уровни срезов	1	2	3	4	5	6
Метод одного штифта с использованием штифтов повышенной конусности	0,467± 0,13	0,489± 0,095	0,491± 0,09	0,497± 0,11	0,5± 0,11	0,538± 0,06
Метод латеральной конденсации	0,412± 0,1	0,457± 0,06	0,466± 0,11	0,468± 0,07	0,583± 0,09	0,637± 0,11

Таблица 6

**Количество визуально определяемых пор в % не заполненных силером  
и гуттаперчей на всех уровнях срезов в каждой группе**

Уровни срезов	1	2	3	4	5	6
Метод латеральной конденсации	5,556	8,333	4,63	3,704	0,926	0
Метод одного штифта с использованием штифтов повышенной конусности	4,63	2,778	0,926	0	0	0

Таблица 7

**Оценка проникновения окрашенного силера в структуру корневого дентина  
на всех уровнях срезов**

Уровни срезов	1	2	3	4	5	6
Метод одного штифта с использованием штифтов повышенной конусности	17	13	4	2	0	0
Метод латеральной конденсации	18	18	18	18	11	3

В группе, где корневые каналы обрабатывались с использованием машинного эндодонтического инструментария (Pro Taper) методом «Crown down» и obturировались методом одного штифта с использованием гуттаперчевых штифтов повышенной конусности, время обработки одного корневого канала составило около 7 минут, время, затраченное на obturацию корневого канала, составило 1,5 минуты.

### Заключение

1. При механическом методе обработки корневых каналов с использованием никель-титановых инструментов Pro Taper и последующей obturацией методом одного штифта с использованием штифтов повышенной конусности установлено, что с помощью Pro Taper в 2 раза быстрее обработать и obturировать корневой канал. На всех уровнях срезов не наблюдалось не обработанных участков и канал имел правильную конусовидную форму. Средние значения коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого

канала на пятом и шестом уровнях срезов уменьшались в сравнении с группой, где обработка проводилась ручным методом и obturация методом латеральной конденсации, что в данном случае свидетельствует о более качественной obturации на этих уровнях. На остальных уровнях наблюдалась менее качественная obturация. Obturация равномерно качественная на всём протяжении, о чём свидетельствует плавное увеличение средних значений коэффициента Силера/Сканала на 0,071. Это в 3,17 раза меньше, чем при проведении метода латеральной конденсации гуттаперчи. Поры при данном методе наблюдались до третьего уровня срезов включительно и составили суммарно 8,334% от всего количества срезов данной группы. В 2,77 раза меньше пор, чем при методе латеральной конденсации гуттаперчи. Окрашенный силер проникал в дентинные каналы до 4 уровня срезов включительно, причём степень проникновения постепенно уменьшалась к апексу. На последних двух апикальных уровнях силер не заполняет латеральные каналы.

2. При механическом методе обработки корневых каналов с использованием ручных инструментов и последующей obturацией методом латеральной конденсации на срезах в поперечном сечении наблюдались не обработанные участки и канал часто имел форму неправильной геометрической фигуры. Средние значения коэффициентов соотношения площади силера к площади корневого канала на пятом и шестом уровнях срезов увеличивались при сравнении с группой, где обработка проводилась механическим методом с использованием никель-титановых инструментов Pro Taper и obturация методом одного штифта с использованием штифтов повышенной конусности, что свидетельствует о менее качественной obturации на этих уровнях. На остальных уровнях наблюдалась более качественная obturация. Поры при данном методе наблюдались до пятого уровня срезов включительно и составили суммарно 23,149% от всего количества срезов данной группы. Окрашенный силер проникал в дентинные каналы до 6 уровня срезов включительно, причём степень проникновения максимальна на первых двух уровнях и постепенно уменьшается на последующих. На срезах первых четырёх уровней окрашенный силер в 100% проникал в структуру корневого дентина.

3. Высокое качество обработки корневых каналов достигается применением комбинированной (ручной и машинной) техники препарирования. Проведенные исследования показали, что применение ручного и комбинированного (сочетание ручного и машинного) методов препарирования корневого канала современными эндодонтическими инструментами позволяет эффективно провести его обработку, требуя разной затраты времени. Так, при ручном методе механической обработки затрачивается 8 мин. Метод позволяет мануально оценить анатомию корневого канала с целью сохранения ее в процессе препарирования, а тактильный контроль предупреждает расширение верхушки корня и травму тканей периодонта. Меньше

всего времени требуется при комбинированном методе препарирования – 7 мин. Использование данного метода позволяет снизить затраты времени необходимого на механическую обработку канала, позволяя при минимальном риске ошибок мануально контролировать процесс с учетом особенностей анатомического строения и принципов щадящего препарирования.

4. Производя поперечные срезы корневых каналов можно оценить качество и эффективность различных техник пломбирования, а также отработать различные техники механического препарирования и obturации системы корневых каналов.

5. В современной эндодонтии нет идеального метода обработки и obturации корневого канала, что требует дальнейшего усовершенствования и унифицирования.

### Литература

1. Боровский, Е.В. Клиническая эндодонтия / Е.В. Боровский. – М. : Изд-во Символ Плюс. – 2003. – С. 196.
2. Луцкая, И.К. Эндодонтия : практ. рук. / И.К. Луцкая, И.Г. Чухрай, Н.В. Новак. – М. : Мед. лит., 2009. – 208 с.
3. Коэн, С. Эндодонтия : учебник : пер. с англ. / С. Коэн, Р. Берне Интерлайн, 2000. – 691 с.
4. Латышева, С.В. Основные принципы эндодонтического препарирования зубов / С.В. Латышева, О.И. Абаимова, Е.А. Бондарик // Стomat. журн. – 2003. – № 2. – С. 2–6.
5. Овсепян, А.П. Система ПроТейпер: эндодонтия по правилам / А.П. Овсепян // Стоматология сегодня. – 2002. – № 7. – С. 30–45.
6. Пименов, А.Б. Участки корневых каналов, недоступные для инструментальной обработки / А. Б. Пименов // Эндодонтия today. – 2003. – № 2. – С. 23–25.
7. Луцкая, И.К. Этапы эндодонтического лечения / И.К. Луцкая, Н.В. Новак // Современ. стоматология. – 2007. – № 1. – С. 29–34.
8. Николаев, А.И. Практическая терапевтическая стоматология : учеб. пособие / А. И. Николаев, Л. М. Цепов. – М., 2008. – С. 651–666, 739–761.
9. Дубова, М.А. Современные технологии в эндодонтии : учеб. пособие. – СПб., 2005. – С. 53–54.
10. A preliminary analysis of the morphology of lateral canals after root canal filling using a tooth-clearing technique / M. Vertucci [et al.] // Int Endod J. – 2003 Jan. – Vol. 36. N 1. – P. 54–63.



11. Морфологическое обоснование использования машинных файлов в эндодонтической практике / Л.А. Дмитриева [и др.] // Стоматология сегодня. – 2011. – № 3. – С. 18–21.
12. Buchanan, L.S. The standardizer-taper root canal preparation. Part I. Concepts for variably tapered shaping instruments / L. S. Buchanan // Эндодонтия today. – 2001. – № 1. – С. 31–40.
13. Методика получения прозрачного препарата удалённого зуба / Л.Ю. Орехова [и др.] // Стоматология сегодня. – 2010. – № 2. – С. 26–29.
14. Шупилкин, Н.В. Эффективность obturation системы корневого канала с использованием ручного эндодонтического инструментария (лабораторное исследование) / Н. В. Шупилкин, Ю. П. Чернявский // Студенческая медицинская наука XXI в. : материалы XII междунар. конф. ВГМУ. – Витебск : ВГМУ, 2012. – С. 198–199.
15. Юдина, Н.А. Современные подходы к проведению эндодонтического лечения: Учебно-методическое пособие / Н. А. Юдина, Ю.П. Чернявский. – Минск : БелМАПО, 2006. – С. 13–16, 20–22.

*Поступила 24.05.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

**Сведения об авторах:**

Чернявский Ю.П. – к.м.н., доцент, зав. кафедрой терапевтической стоматологии УО «ВГМУ»;

Шупилкин Н.В. – студент 5 курса стоматологического факультета УО «ВГМУ».



© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

## РОЛЬ ГРАНУЛОЦИТОВ В ПАТОГЕНЕЗЕ РАЗВИТИЯ АЛЛЕРГИИ НА ЗУБОПРОТЕЗНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И МЕТОД ЕЕ ДИАГНОСТИКИ

КАРПУК И.Ю.\*, НОВИКОВ Д.К.\*\*, КАРПУК Н.А.\*\*\*, СЕМЕНОВА И.В.\*\*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»,  
кафедра общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии,\*  
кафедра клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК,\*\*  
кафедра терапевтической стоматологии\*\*\*

**Резюме.** Целью данного исследования было установление роли гранулоцитов в патогенезе развития аллергии на зубопротезные материалы; разработка и клиническая апробация метода выявления сенсибилизации к металлам путем оценки индуцированного ими специфического повреждения гранулоцитов.

Были обследованы пациенты с аллергией на металлы (n=61) и пациенты без аллергии на металлы (n=26).

В результате данного исследования было установлено, что диагностическая эффективность реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) с раствором соли  $\text{NiCl}_2$  составила 86,9%, с раствором соли  $\text{CrCl}_3$  – 85,9%, с раствором соли  $\text{CoCl}_2$  – 92%, с раствором соли  $\text{CuCl}_2$  – 85,2%, что говорит о возможности использования РАПЛ для диагностики аллергии к металлам.

Нами было сделано заключение, что предложенный подход диагностики аллергии на металлы учитывает важные этапы развития аллергической реакции и является безопасным для пациента.

*Ключевые слова:* аллергия, гранулоциты, зубопротезные материалы, патогенез, диагностика.

**Abstract.** The purpose of the present research was to establish the role of granulocytes in the pathogenesis of the development of an allergy to dentoprosthetic materials; to work out and clinically test the method of revealing sensitization to metals by means of an estimation of the specific granulocytes damage induced by them.

Patients with an allergy to metals (n=61) and those without it (n=26) were examined.

As a result of this study it was determined that the diagnostic efficiency of allergen induced damage of leukocytes reaction with the solution of salt  $\text{NiCl}_2$  made up 86,9%, with the solution of salt  $\text{CrCl}_3$  – 85,9%, with the solution of salt  $\text{CoCl}_2$  – 92%, with the solution of salt  $\text{CuCl}_2$  – 85,2% that testifies to the possibility to use allergen induced damage of leukocytes reaction for the diagnosing of an allergy to metals.

We conclude that the suggested approach to the diagnosis of an allergy to metals takes into account important stages of allergic reaction development and is safe for patients.

*Key words:* allergy, granulocytes, dentoprosthetic materials, pathogenesis, diagnosis.

**Р**езультаты изучения заболеваемости и распространенности аллергических болезней в разных странах сви-

детельствуют о том, что в настоящее время их количество неуклонно растет [1, 2]. Анализ специальной литературы убедительно показывает, что изучение иммуномодулирующего действия стоматологических материалов является весьма актуальным новым научным направлением современного биоматериаловедения. Однако к настоящему времени этот эффект изучен явно недостаточно для разработки научно обо-

*Адрес для корреспонденции:* 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра терапевтической стоматологии. Тел.моб.: +375 (29) 711-97-36, e-mail: [ikarpuk@mail.ru](mailto:ikarpuk@mail.ru) – Карпук Наталья Анатольевна.

снованных рекомендаций по выявлению аллергии у пациентов с непереносимостью металлических изделий.

Диагноз атопии правомочен при подтверждении аллергоанамнеза результатом провокационных проб [3, 4, 5]. Специфическое аллергологическое обследование, проводимое *in vitro*, является необходимым этапом при постановке диагноза «аллергия» [4]. Специальные лабораторные пробы, проводимые с клетками больного и аллергеном, по сути и являются провокационными пробами, которые можно применять без опасения развития побочных эффектов [1].

В связи с этим необходимо иметь методы, задачей которых является выявление непереносимости металлов *in vitro* с целью отбора инертных для конкретного компрометированного или относящегося к группе риска пациента на основе наиболее эффективных методов исследования *in vitro* и *in vivo*.

Методов лабораторной аллергодиагностики, выявляющих и учитывающих все типы реакций, практически нет в арсенале аллергологов и врачей-лаборантов. В связи с этим стоит важная задача разработки новых и совершенствования имеющихся методов аллергодиагностики, что и определяет актуальность настоящей работы [6-8, 9].

Целью исследования были разработка и клиническая апробация метода выявления сенсibilизации к металлам путем оценки индуцированного ими специфического повреждения гранулоцитов.

### Методы

Нами был обследован 61 пациент с непереносимостью металлических изделий (застежек на одежде, бижутерии, посуды, монет, наручных часов, зубопротезных сплавов), у которых, по результатам аппликационного тестирования, выявлена аллергия на растворы солей:  $\text{NiCl}_2$  ( $n=35$ ),  $\text{CrCl}_3$  ( $n=31$ ),  $\text{CoCl}_2$  ( $n=24$ ),  $\text{CuCl}_2$  ( $n=21$ ).

В контрольную группу вошли 26 практически здоровых человек, не предъ-

являющих жалоб на непереносимость металлов и не имеющих тяжелых общесоматических и гормональных заболеваний. Для большей точности результатов исследования (исключения положительных результатов за счет наличия сенсibilизации к металлам без характерных клинических проявлений) планировалось включение пациентов в данную группу без металлических включений в полости рта, однако если учесть, что в развитых странах мира к 40 годам практически все население имеет в ротовой полости чужеродные зубопротезные материалы, мы включали пациентов с количеством зубопротезных единиц не более 5, время пользования которыми составляло менее 5 лет.

Все пациенты, включенные в исследование, дали и собственноручно заполнили добровольное информированное согласие на участие в работе.

Сформированные группы сопоставимы по возрастной и половой категориям.

### Результаты и обсуждение

В группе пациентов с аллергией на раствор соли  $\text{NiCl}_2$  ( $n=35$ ) у 28 (80%) пациентов результаты реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов (РАПЛ) лабораторной диагностики были положительными и у 7 (20%) пациентов – отрицательными.

У пациентов с аллергией на раствор соли  $\text{CrCl}_3$  ( $n=31$ ) количество положительных результатов РАПЛ составило 24 (77,4%), отрицательных 7 (22,6%) (табл. 1).

В выборке группы пациентов с положительным аллергоанамнезом на раствор соли  $\text{CoCl}_2$  ( $n=24$ ) положительные результаты РАПЛ наблюдались у 21 (87,5%) пациентов, отрицательные у 3 (12,5%) пациентов.

При обследовании пациентов при помощи РАПЛ на раствор соли  $\text{CuCl}_2$  ( $n=21$ ) положительные результаты были получены у 16 (76,2%) пациентов, отрицательные у 5 (23,8%) пациентов.

В контрольной группе ( $n=26$ ) наблюдались следующие результаты: при по-

Таблица 1

**Расчет диагностических коэффициентов для растворов солей металлов  
в группах, обследованных РАПЛ**

Растворы солей металлов	Истинно положительные	Ложно-положительные	Истинно отрицательные	Ложно-отрицательные	Диагностическая чувствительность теста, %	Диагностическая специфичность теста, %	Диагностическая эффективность теста, %
NiCl <sub>2</sub>	29	2	24	6	82,9%	92,3%	86,9%
CrCl <sub>3</sub>	24	1	25	7	77,4%	96,2%	85,9%
CoCl <sub>2</sub>	21	1	25	3	87,5%	96,2%	92%
CuCl <sub>2</sub>	16	2	24	5	76,2%	92,3%	85,2%

становке РАПЛ с раствором соли NiCl<sub>2</sub> положительные результаты получены у 2 (7,7%) пациентов, отрицательные – у 24 (92,3%) пациентов; с раствором соли CrCl<sub>3</sub> положительный результат отмечен у 1 (3,8%) пациента, отрицательные результаты – у 25 (96,2%) пациентов; с раствором соли CoCl<sub>2</sub> положительный результат выявлен у 1 (3,8%) пациента, отрицательные – у 25 (96,2%) пациентов; с раствором соли CuCl<sub>2</sub> положительные результаты отмечены у 2 (7,7%) пациентов, отрицательные – у 24 (92,3%) пациентов.

Корреляционный анализ результатов РАПЛ показал наличие корреляции между 0,01% растворами солей CrCl<sub>3</sub> и CoCl<sub>2</sub> ( $r=0,43$ ;  $p=0,0005$ ), что по нашему мнению связано с широким распространением кобальто-хромовых сплавов в стоматологической практике и в быту.

Возможность использования предложенных тестов аллергодиагностики оценивали, рассчитывая показатели диагностической чувствительности, специфичности и эффективности [6].

Положительные результаты РАПЛ в группе пациентов с выявленной *in vivo* сенсibilizацией к растворам солей металлов считали истинно положительными (ИП), а отрицательные – ложноотрицательными (ЛО).

Отрицательные результаты у пациентов контрольной группы считали истинно

отрицательными (ИО), а положительные – ложноположительными (ЛП).

Диагностическую специфичность теста (ДС) – способность теста давать отрицательные результаты у здоровых людей рассчитывали по формуле 1:

$$ДС = \frac{ИО}{ИО + ЛП} \times 100\% \quad (1)$$

Диагностическую чувствительность теста (ДЧ) – способность теста выявить аллергию у больных рассчитывали по формуле 2:

$$ДЧ = \frac{ИП}{ИП + ЛО} \times 100\% \quad (2)$$

Диагностическую эффективность теста (ДЭ) – способность теста правильно отличать больных аллергией от здоровых рассчитывали по формуле 3:

$$ДЭ = \frac{ИП + ИО}{ИП + ЛП + ИО + ЛО} \times 100\% \quad (3)$$

где ИО – истинно отрицательные, ЛО – ложноотрицательные, ЛП – ложноположительные результаты исследования, ИП – истинно положительные.

По результатам РАПЛ в опытной и контрольной группах подсчитывалось количество истинно положительных (ИП),

истинно отрицательных (ИО), ложноположительных (ЛП), ложноотрицательных (ЛО) результатов (табл. 1).

Разработанная реакция аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов для диагностики аллергии на металлические изделия оказалась эффективной у пациентов с непереносимостью металлов.

В результате обследования выборок опытной и контрольной групп (отличие между результатами обследования опытных и контрольной группами РАПЛ с  $P_{\text{Fisher}} < 0,001$ ) были установлены диагностические коэффициенты для РАПЛ с растворами солей металлов.

Расчет диагностических коэффициентов для РАПЛ с раствором соли  $\text{NiCl}_2$ :

$$\text{ДС} = (24/24+2) \times 100\% = 92,3\%$$

$$\text{ДЧ} = (29/29+6) \times 100\% = 82,9\%$$

$$\text{ДЭ} = (29 + 24)/(29 + 2 + 24 + 6) = 53/61 \times 100\% = 86,9\%$$

Расчет диагностических коэффициентов для РАПЛ с раствором соли  $\text{CrCl}_3$ :

$$\text{ДС} = (25/25+1) \times 100\% = 96,2\%$$

$$\text{ДЧ} = (24/24+7) \times 100\% = 77,4\%$$

$$\text{ДЭ} = (24 + 25)/(24 + 1 + 25 + 7) = 49/57 \times 100\% = 85,9\%$$

Расчет диагностических коэффициентов для РАПЛ с раствором соли  $\text{CoCl}_2$ :

$$\text{ДС} = (25/25+1) \times 100\% = 96,2\%$$

$$\text{ДЧ} = (21/21+3) \times 100\% = 87,5\%$$

$$\text{ДЭ} = (21 + 25)/(21 + 1 + 25 + 3) = 46/50 \times 100\% = 92\%$$

Расчет диагностических коэффициентов для РАПЛ с раствором соли  $\text{CuCl}_2$ :

$$\text{ДС} = (24/24+2) \times 100\% = 92,3\%$$

$$\text{ДЧ} = (16/16+5) \times 100\% = 76,2\%$$

$$\text{ДЭ} = (16 + 24)/(16 + 2 + 24 + 5) = 40/47 \times 100\% = 85,2\%$$

Вышеизложенное позволяет рекомендовать реакцию аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов, для диагностики аллергии на металлы у лиц с риском возникновения непереносимости металлических изделий, в особенности несъемных ортопедических конструкций.

Использование метода диагностики аллергии в реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов имеет

определенные преимущества (большая простота метода, экономия в стоимости диагностических наборов, высокая производительность).

Метод предлагается использовать для диагностики аллергии на металлы. Преимуществом является то, что, предлагаемый метод имеет диагностическое значение, т.к. позволяет выявлять у больных причинно-значимый антиген или аллерген. С учетом того, что ИФА-системы для диагностики, как правило, импортные, стоимость одного определения методом ИФА составляет не менее 36 000 белорусских рублей, а стоимость одного определения методом составляет 2400 белорусских рублей.

Таким образом, оптимизированы условия постановки реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов, выявляющей сенсibilизацию гранулоцитов к растворам солей металлов. Реакция обладает достаточно высокими чувствительностью, специфичностью и эффективностью и может быть рекомендована для широкого использования в клинике. Она имеет определенные преимущества перед другими методами диагностики аллергии *in vitro*: экономия времени проведения реакции и методическая простота позволяют достигнуть высоких диагностических коэффициентов эффективности при обследовании РАПЛ:

с раствором соли  $\text{NiCl}_2$  (диагностическая чувствительность – 82,9%, диагностическая специфичность – 92,3% и диагностическая эффективность – 86,9%);

с раствором соли  $\text{CrCl}_3$  (диагностическая чувствительность – 77,4%, диагностическая специфичность – 96,2% и диагностическая эффективность – 85,9%);

с раствором соли  $\text{CoCl}_2$  (диагностическая чувствительность – 87,5%, диагностическая специфичность – 96,2% и диагностическая эффективность – 92%);

с раствором соли  $\text{CuCl}_2$  (диагностическая чувствительность – 76,2%, диагностическая специфичность – 92,3% и диагностическая эффективность – 85,2%).

Результаты реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов долж-

ны оцениваться в комплексе с данными других клинико-лабораторных исследований.

### Заключение

1. Оптимизированы условия постановки реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов, выявляющей сенсбилизацию гранулоцитов к металлам. Реакция обладает достаточно высокими чувствительностью, специфичностью и эффективностью и может быть рекомендована для широкого использования в клинике. Она имеет определенные преимущества перед другими методами диагностики аллергии *in vitro*: экономия времени проведения реакции и методическая простота позволяют достигнуть высокой диагностической эффективности (с раствором соли  $\text{NiCl}_2$  составила 86,9%, с раствором соли  $\text{CrCl}_3$  – 85,9%, с раствором соли  $\text{CoCl}_2$  – 92%, с раствором соли  $\text{CuCl}_2$  – 85,2%).

2. Результаты реакции аллергениндуцированного повреждения лейкоцитов должны оцениваться в комплексе с данными других клинико-лабораторных исследований.

3. Наличие умеренной корреляции между 0,01% растворами солей  $\text{CrCl}_3$  и  $\text{CoCl}_2$  ( $r=0,43$ ;  $p=0,0005$ ) связано с широким распространением кобальто-хромовых сплавов и возможным усилением аллергенных свойств друг друга.

### Литература

1. Новиков, Д.К. Лекарственная аллергия / Д.К. Новиков, Ю. В. Сергеев, П.Д. Новиков; под ред. Д.К. Новикова. – М.: Нац. акад. микологии, 2001. – 313 с.
2. Пыцкий, В.И. Неиммунные механизмы в патогенезе атопической группы заболеваний / В.И. Пыцкий // Аллергология и иммунология. – 2005. – № 1. – С. 98.
3. Медицинские стандарты (протоколы) диагностики и лечения больных с аллергическими заболеваниями и нарушениями иммунной системы / Н. И. Ильина [и др.]; под общ. ред. Р.М. Хаитова. – 2-е изд., доп. – М., 2001. – 32 с.
4. Новиков, Д.К. Клиническая аллергология / Д.К. Новиков. – Минск: Высшая шк., 1991. – 511 с.
5. Пыцкий, В.И. Аллергические заболевания / В.И. Пыцкий, Н.В. Андрианова, А.В. Артомова. – М.: Триада-Х, 1999. – 797 с.
6. Аллергия в стоматологической практике / С. В. Федорович [и др.]. – Барановичи, 2001. – 182 с.
7. Гожая, Л.Д. Аллергические и токсико-химические стоматиты, обусловленные материалами зубных протезов: метод. пособие для врачей-стоматологов / Л.Д. Гожая. – М., 2000. – 31 с.
8. Лебедев, К.А. Непереносимость зубопротезных материалов / К.А. Лебедев, А.В. Митрошин, И.Д. Понякина. – М.: Кн. дом ЛИБРОКОМ, 2010. – 208 с.
9. Титов, П.Л. Оценка сенсбилизации организма к ионам металлов *in vivo* у лиц с предполагаемым неблагоприятным локальным воздействием дентальных сплавов / П.Л. Титов // Бел. мед. журн. – 2004. – № 4. – С. 89–92.

*Поступила 02.07.2013 г.*

*Принята в печать 05.09.2013 г.*

### Сведения об авторах:

Карпук И.Ю. – к.м.н., доцент кафедры общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии УО «ВГМУ»;

Новиков Д.К. – д.м.н., профессор, зав. кафедрой клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ»;

Карпук Н.А. – ассистент кафедры терапевтической стоматологии УО «ВГМУ»;

Семенова И.В. – ассистент кафедры клинической иммунологии и аллергологии с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ».

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2013

## ФАРМАКОЭКОНОМИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ИММУНОГИСТОХИМИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ HER2-СТАТУСА И ТАРГЕТНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ РАКЕ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

КРЫЛОВ Е.Ю\*., ЛЕСНИЧАЯ О.В\*., КРУГЛОВА М.С.\*\*

УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»\*

УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер»\*\*

**Резюме.** Статья посвящена анализу выраженности экспрессии HER2 при раке молочной железы в различных возрастных группах с оценкой стоимости реактивов для иммуногистохимической диагностики HER2 и лекарственных препаратов для последующей таргетной терапии герцептином. Проведенное исследование показало, что высокие затраты на таргетную терапию пациентов с раком молочной железы герцептином оправдывают широкий скрининг HER2, а минимизация затрат на иммуногистохимическую диагностику может быть проведена за счет исключения из скрининга пациентов с явными противопоказаниями для назначения этого лекарственного средства.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, иммуногистохимическая диагностика, таргетная терапия, стоимость реактивов и таргетной терапии.

**Abstract.** The article is devoted to the analysis of HER2 expression in breast cancer in different age groups and estimation of the cost of reagents for immunohistochemical diagnosis of HER2 and medicines for subsequent target therapy with herceptin. The conducted study has shown that the high cost of target therapy with herceptin in patients suffering from breast cancer covers HER2 screening expenses. Immunohistochemical diagnosis cost minimization can be achieved by exclusion from the screening of patients with apparent contraindications for the administration of this drug.

**Key words:** breast cancer, immunohistochemical diagnosing, target therapy, cost of reagents and target therapy.

По данным ВОЗ, из 10 млн. новых случаев злокачественных опухолей различных органов, выявляемых в мире, 10% приходится на молочную железу. Если оценивать только женскую популяцию удельный вес рака молочной железы (РМЖ) возрастает до 22%.

Ежегодно от этого заболевания умирает около 400 тыс. женщин. В Российской Федерации и Республике Беларусь рак молочной железы (РМЖ) стоит на первом месте среди злокачественных новообразований у женщин. Как правило, опухоли возникают после 35-40 лет, пик заболеваемости регистрируют у женщин в возрасте 60-65 лет [1].

В 2011 году в Российской Федерации выявлено 57 379 пациенток с РМЖ. Удельный вес пациенток с опухолевым процессом I стадии от числа больных с впервые в жизни установленным диагнозом РМЖ –

**Адрес для корреспонденции:** 210023, г.Витебск, пр-т Фрунзе, 27, УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», кафедра организации и экономики фармации с курсом ФПК и ПК. Тел. моб.: +375 (29) 714-51-50 – Крылов Егор Юрьевич.

18,5%, II стадии – 46,5%, III стадии – 24,8%, IV стадии – 9,1% [2].

В Республике Беларусь число ежегодно регистрируемых случаев заболевания раком молочной железы увеличилось в 1,4 раза с 2 886 в 2001 году до 3 948 в 2010 году. Среди новых случаев заболевания подавляющее большинство пришлось на женское население – 3 916 и лишь 32 случая заболевания было выявлено у мужчин. У 1 021 больной раком молочной железы (25,9%) установлена I стадия заболевания, у 2 059 (52,2%) – II, у 609 (15,4%) – III стадия, у 241 (6,1%) – IV стадия заболевания [3].

Благодаря молекулярно-биологическим исследованиям стали известны ключевые звенья канцерогенеза, что позволило создать таргетные препараты, имеющие точную мишень воздействия. В последние годы для лечения РМЖ успешно применяется один из таких препаратов – герцептин, который представляет собой гуманизированные моноклональные антитела, избирательно взаимодействующие с внеклеточным доменом рецепторов эпидермального фактора роста человека 2 типа (HER2). HER2 играет ключевую роль в жизнедеятельности клетки, так как участвует в процессах регуляции клеточной пролиферации и дифференцировки. При злокачественной трансформации происходит амплификация гена HER2, приводящая к гиперэкспрессии этого рецептора [4].

В обзоре зарубежных фармакоэкономических исследований применения герцептина при лечении рака молочной железы Ягудиной Р.И. и соавторов показано, что клиническая эффективность и безопасность герцептина при лечении HER2-положительного РМЖ на ранних стадиях и метастатического РМЖ (мРМЖ) с использованием различных схем лечения доказаны в большом количестве исследований (более 650 опубликованных статей) [5].

Анализ экономической эффективности герцептина проводился методами анализа «затраты-полезность», «затрата-эффективность» и с использованием моделей

Маркова, в которых результатами расчета являлись соотношения приращения затрат на каждый год качественной жизни (IC/QALY), приращения затрат на каждый год сохраненной жизни (IC/LYG), и соотношение приращения затрат на эффективность (ICER). При этом лишь в отдельных исследованиях учитывались затраты на диагностику (HER2 тест методом ИГХ и/или FISH) [6, 7]. Хотя это лекарственное средство назначается только при наличии гиперэкспрессии HER2, которая выявляется иммуногистохимически. Вышесказанное определяет необходимость проведения анализа соотношения затрат на иммуногистохимическую диагностику HER2 и последующую таргетную терапию герцептином при РМЖ.

Важно отметить, что, несмотря на то, что герцептин является, несомненно, высокоэффективным лекарственным средством для лечения HER2 позитивных опухолей молочной железы, его системная токсичность ограничивает применение данного лекарственного средства у пациенток старше 50 лет [8]. Отсюда целесообразен сравнительный анализ частоты выявления гиперэкспрессии HER2 у пациенток до 50 лет и старше 50 лет.

Целью работы был анализ выраженности экспрессии HER2 при РМЖ в различных возрастных группах за 2008 – 2012 гг. с оценкой соотношения затрат на иммуногистохимическую диагностику HER2 и последующую таргетную терапию герцептином при РМЖ в 2011-2012 гг. по данным УЗ «Витебское областное клиническое патологоанатомическое бюро» (ВОКПАБ) и УЗ «Витебский областной клинический онкологический диспансер» (ВОКОД).

## Методы

Проанализированы архивные журналы иммуногистохимических (ИГХ) исследований отдела онкоморфологии УЗ «ВОКПАБ». Отобраны все случаи ИГХ определения HER-2 статуса при РМЖ за 2008 – 2012 гг. с частичным пересмотром гистологических препаратов.



В 2008-2012 гг. экспрессию HER-2 оценивали при увеличении объектива микроскопа x10 как «3+» при полном окрашивании мембран более 10% опухолевых клеток. «2+» соответствовало слабой или умеренной интенсивности окраски клеточных мембран более 10% клеток. Степенью «1+» считалось неполное окрашивание мембран более 10% клеток карциномы. Степень «3+» классифицировалась как гиперэкспрессия HER-2. В 2012 году степень выраженности экспрессии HER-2 оценивалась согласно современным рекомендациям при пороговом уровне окрашивания мембран более 30% опухолевых клеток [9]. Также проведен анализ накладных на закупку реактивов для ИГХ определения HER-2 УЗ «ВОКПАБ», и на закупку герцептина УЗ «ВОКОД» за 2011 и 2012 гг.

### Результаты и обсуждение

Результаты определения HER-2 в различных возрастных группах представлены в таблице 1.

Анализ данных таблицы показывает, что отмечается постоянный рост количества иммуногистохимических определений HER-2 при РМЖ (от 12 случаев в 2008 году до 189 в 2012 году). Важно отметить, что в последние годы (2011, 2012 гг.) определение HER-2 при неинфильтрующем РМЖ не проводилось в связи с тем, что по современным данным рак *in situ* оценке HER-2 не подлежит, поскольку такие структуры часто отличаются резко выраженной положительной реакцией [4]. Кроме того, изменились критерии оценки выраженности экспрессии HER-2, пороговое значение положительно окрашенных клеток увеличилось с 10 до 30%. Эти критерии используются в УЗ «ВОКПАБ» с 2012 года. К случаям с гиперэкспрессией HER-2 ранее относили наблюдения РМЖ с показателями «2+» и «3+». В настоящее время считают, что результат «2+» является неопределённым и требует выявления наличия амплификации гена HER-2 методами *in situ* гибридизации на материале с тех же парафиновых блоков. В 2010 году ко-

Таблица 1  
Анализ экспрессии HER-2 при раке молочной железы у пациенток до 50 лет и старше 50 лет

Степень экспрессии HER-2 при гистологических формах РМЖ		2008 г.		2009 г.		2010 г.		2011 г.		2012 г.		Всего
		до 50 лет	50 лет и старше	до 50 лет	50 лет и старше	до 50 лет	50 лет и старше	до 50 лет	50 лет и старше	до 50 лет	50 лет и старше	
Инфильтрующий рак	Score 0	5	2	20	16	19	20	9	21	24	30	166
	Score 1+			11	11	10	20	12	31	25	36	156
	Score 2+	3	1	7	6	26	24	24	28	15	26	160
	Score 3+	1		10 (11%)*	6 (7%)*	19 (12%)*	16 (10%)*	21 (12%)*	31 (17%)*	19 (10%)*	14 (7%)*	137
Не инфильтрующий рак	Score 0			1								1
	Score 1+				1	1						2
	Score 2+					1	2					3
	Score 3+			1								1
Всего		9	3	50	40	76	82	66	111	83	106	626
		12		90		158		177		189		

Примечание: \* – от общего числа определений HER-2.

личество случаев HER-2 «2+» и «3+» составило 85 на 158 определений (53,8%), в 2011 году 104 на 177 определений (58,7%), в 2012 году 74 на 189 определений (39,2%). Таким образом, за счёт изменения пороговых значений выраженности экспрессии HER-2, процент случаев гиперэкспрессии в 2012 году снизился.

Иммуногистохимическое обнаружение гиперэкспрессии HER-2 «3+» (рис. 1, 2) является показанием для назначения таргетной терапии герцептином. В 2009 году соотношение случаев с гиперэкспрессией HER-2 «3+» у лиц до 50 лет и старше 50 лет в процентном отношении к общему количеству иммуногистохимических определений составило 11% и 7% соответственно, в 2010 году – 12% и 16%, в 2011 году – 12% и 17%, в 2012 году – 10% и 7%. Средний процент случаев с гиперэкспрессией HER-2 «3+» за 2009 – 2012 гг. у лиц до 50 лет составил 11,25%, у лиц старше 50 лет – 10,25%, что свидетельствует об отсутствии существенных различий.

В 2011 году в Витебской области выявлено 535 случаев РМЖ, в том числе I клинической стадии 145 (27,1%), II клинической стадии 288 (53,8%), III клинической стадии 72 (13,5%), IV клинической стадии 29 (5,4%). В 2012 году выявлено 499 случа-

ев РМЖ, в том числе I клинической стадии 140 (28,1%), II клинической стадии 252 (50,5%), III клинической стадии 74 (14,8%), IV клинической стадии 30 (6%). Это указывает на то, что количество и структура по клиническим стадиям вновь выявленных случаев РМЖ в 2011 и 2012 гг. приблизительно одинаковы. Удельный вес выявления I и II клинических стадий в 2011 году выше, чем в РФ: для I клинической стадии – 27,1% в РФ – 18,5%, для II клинической стадии 53,8% в РФ – 46,5%.

Результаты ИГХ определения HER-2 при инфильтрирующем РМЖ представлены в таблице 2.

Анализ данных таблицы указывает постоянный рост количества ИГХ определений HER-2 статуса при РМЖ от 87 в 2009 году до 189 в 2012 году. В 2011 году на 535 вновь выявленных случаев РМЖ проведено 177 определений (33%), в 2012 году – 499 и 189 соответственно (37,9%). Гиперэкспрессия HER-2 (3+) является показанием к лечению герцептином и не требует дальнейших исследований методом FISH. В 2009 – 2011 гг. она выявлялась в 20-30% случаев от всех ИГХ определений HER-2. В 2012 году процент HER-2 (3+) случаев снизился до 17, в связи с повышением порога HER-2 положительных клеток с 10%

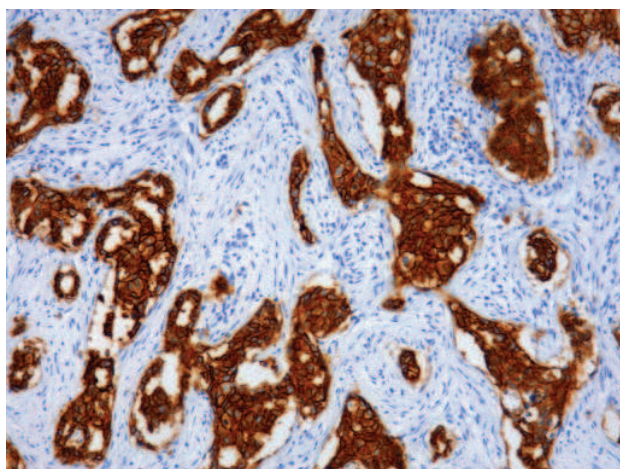


Рис. 1. Инвазивный протоковый рак молочной железы. Иммуногистохимическая реакция с антителами к HER-2. Оценка реакции 3+.  $\times 100$ .

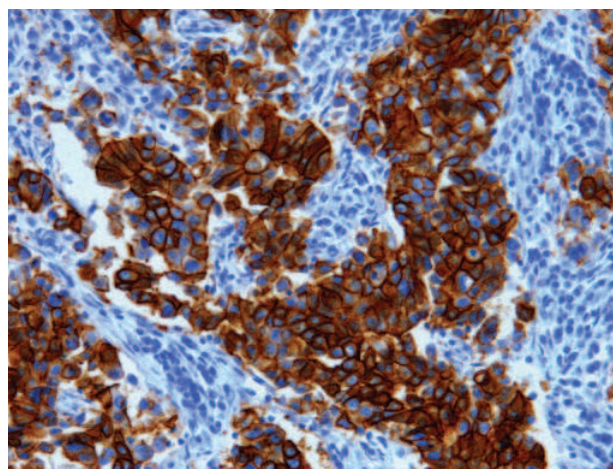


Рис. 2. Метастаз инвазивного протокового рака молочной железы в подмышечный лимфоузел. Иммуногистохимическая реакция с антителами к HER-2. Оценка реакции 3+.  $\times 200$ .

Таблица 2

## Степень экспрессии HER-2 при инфильтрирующем раке молочной железы

Степень экспрессии	2008 г.	2009 г.	2010 г.	2011 г.	2012 г.	Всего
Score 0	7(58%)	36(41%)	39(25%)	30(17%)	54(28%)	166(27%)
Score1+		22(25%)	30(19%)	43(24%)	61(32%)	156(25%)
Score2+	4(33%)	13(15%)	50(32%)	52(29%)	41(22%)	160(26%)
Score3+	1(8%)	16(18%)	35(23%)	52(29%)	33(17%)	137(22%)
Всего	12	87	154	177	189	619

до 30% согласно современным требованиям [8]. В 2011 году гиперэкспрессия HER-2 (3+) была выявлена у 52 женщин, при проведении 117 определений, 2012 году соответственно у 33 на 189 определений.

Таким образом, количество пациентов, которым было показано лечение герцептином в 2011 году, составило 52 человека. Лечение было проведено в 16 случаях (11 до 50 лет и 5 старше). Одно в/в введение герцептина 440 мг стоит 2 225 долларов, введение лекарственного средства проводят либо 1 раз в неделю, либо раз в 3 недели в течение года. Таким образом, в 2011 году израсходовано 113 флаконов. Отсюда стоимость лечения герцептином одной пациентки равняется 15 739 долларам. Общая стоимость лечения по ВОКОД составила 250 585 долларов. В 2012 году из 33 случаев, где была выявлена гиперэкспрессия HER-2 (3+), проведена адъювантная и паллиативная терапия 26 женщинам, из них 11 в возрасте до 50 лет и 15 после 50 лет. Всего было использовано для лечения 248 флаконов на сумму 551800 долларов.

Для определения HER-2 используют герцептест HER-2 фирмы ДАКО. Цена 1 упаковки на 35 исследований составляет 3 119,13 евро по цене 2012 года, т.о. цена 1 определения составляет 89,12 евро. Цена 177 определений, проведенных в 2011 году, составила 15 773,89 евро, в 2012 году – 189 определений на сумму 16843,68 евро. Диагностика, на основании которой было проведено лечение, в 2011 году стоила 1336,8 евро (89,12x15), в 2012 – 2317,12

евро (89,12x26). Там, где лечение было показано (гиперэкспрессия), но не проводилось, диагностика обошлась в 2011 году в 3208,32 евро (52-16=36 x89,12), в 2012 – в 623,84 евро (33-26=7 x89,12). Тем не менее, результаты определения HER-2 (гиперэкспрессия) в последующем при развитии прогрессирования являются основанием для назначения лечения герцептином. Однако, учитывая то обстоятельство, что в архиве патологоанатомических бюро парафиновые блоки хранятся постоянно, имеется возможность провести ИГХ определение HER-2 для решения вопроса о назначении таргетной терапии герцептином при прогрессировании процесса, если до этого HER-2 не определялся.

### Заключение

1. Данные настоящего исследования указывают на постоянный рост количества иммуногистохимических определений HER-2 в практике УЗ «ВОКПАБ» при раке молочной железы. При этом различия в выявлении гиперэкспрессии «3+» в группах до 50 и старше 50 лет отсутствуют.

2. Количество и структура по клиническим стадиям вновь выявленных случаев РМЖ в 2011 и 2012 г.г. приблизительно одинаковы, как и количество ИГХ определений HER-2, что позволяет определить годовую потребность в закупке реактивов.

3. Анализ оценки соотношения затрат на иммуногистохимическую диагностику HER2 и последующую таргетную

терапию герцептином при РМЖ в 2011-2012 гг. показал, что высокие затраты на таргетную терапию герцептином оправдывают широкий скрининг HER-2, позволяющий четко определить контингент пациенток, подлежащих лечению.

4. Минимизация затрат на диагностику может быть проведена за счет исключения из скрининга HER-2 пациенток с явными противопоказаниями для назначения этого лекарственного средства, что требует разработки показаний к определению HER-2 и дальнейшего фармакоэкономического анализа с использованием метода «влияние на бюджет».

### Литература

1. Аксель, Е.М. Злокачественные новообразования в России и странах СНГ в 2002 году / Е.М. Аксель, М.И. Давыдов – М.: Мед. Информ. Агенство, 2004. – 110 с.
2. Белоусов, Д.Ю., Афанасьева, Е.В., Зырянов, С.К. Сравнительный фармакоэкономический анализ применения анастрозола, летрозолола и экземестана при адъюватной терапии рака молочной железы. // Качественная клиническая практика, №2, 2012 г. стр. 45-55.
3. Алгоритмы диагностики и лечения злокачественных новообразований / Ю.И. Аверкин [и др.]; под ред. О.Г. Сукоко, С.А. Красного. – Минск, 2012. – 508 с.
4. Методические рекомендации по проведению HER-2 тестирования рака молочной железы / Л.Э. Завалишина [и др.]. – М: Медицина, 2011. – 24 с.
5. Ягудина, Р.И./ Обзор зарубежных фармакоэкономических исследований применения Герцептина при лечении рака молочной железы / Р.И. Ягудина, А.Ю. Куликов, Т. Нгуен // Фармакоэкономика. – 2009. – №2. – С 28-35.
6. Estimating the potential economic value of trastuzumab in breast cancer from 2000-2020 in five European countries Poster 6611 / Garrison, L. P. [et all]. // 44th ASCO Annual Meeting, Chicago, Illinois, USA 30 May-3 June 2008.
7. Ягудина, Р.И. / Фармакоэкономика в онкологии / Р.И. Ягудина, А.Ю. Куликов, Е.Е. Аринина – М: изд. «Шико», 2011. – 424 с: ил.
8. Parul, G. Anti-tumor activity of phenethyl isothiocyanate in HER-2 positive breast cancer models / G. Parul, S.K. Srivastana // BMC Medicine. – 2012. – Vol. 10, № 80. – P. 1741-1760.
9. Иммуногистохимические методы исследования новообразований различного генеза / Надьров Э.А. [и др.]; утв. М-вом здравоохран. Респ. Беларусь 11.02.2011 г., рег. № 160-1110. – Гомель. - 24 с.

Поступила 01.07.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Крылов Е.Ю. – аспирант кафедры организации и экономики фармации с курсом ФПК и ПК УО «ВГМУ»,

Лесничая О.В. – доцент кафедры патологической анатомии УО «ВГМУ»,

Круглова М.С. – врач-химиотерапевт УЗ «ВОКОД».

© ПУЗАНОВА О.Г., 2013

## КОКРАНОВСКИЕ ОБЗОРЫ КАК ИНФОРМАЦИОННЫЙ РЕСУРС ДОКАЗАТЕЛЬНОЙ ПЕРВИЧНОЙ ПРОФИЛАКТИКИ В ЗДРАВООХРАНЕНИИ

ПУЗАНОВА О.Г.

*Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, г. Киев, Украина,  
кафедра медицинской информатики и компьютерных технологий обучения*

**Резюме.** В работе охарактеризованы кокрановские обзоры, посвященные вопросам первичной профилактики в здравоохранении и входящие в 50 наиболее рейтинговых в течение 4-х 3-месячных периодов – осенью 2011 г., летом 2012 г., осенью 2012 г. и зимой 2012-2013 гг.

**Ключевые слова:** доказательная первичная профилактика в здравоохранении, информационные ресурсы, кокрановские обзоры.

**Abstract.** The Cochrane systematic reviews devoted to questions of primary prevention in health care and being in «top-50» during autumn 2011, summer 2012, autumn 2012 and winter 2012-2013 are characterized in this article.

**Key words:** evidence-based primary prevention in health care, information resources, Cochrane systematic reviews.

Необходимым условием разработки эффективных программ профилактики в здравоохранении является качественное информационное обеспечение. Лучшими ресурсами доказательной медицины на сегодня признаны специальные компьютерные базы (прежде всего Cochrane library, MEDLINE, TRIP), рецензируемые научно-медицинские журналы (их «большая четверка» – «British Medical Journal», «JAMA», «Lancet», «New England Journal of Medicine»), компендиумы («Clinical Evidence», «Evidence

Based Medicine») и собственно источники доказательств: первичные (клинические исследования высокого методологического качества) и особенно вторичные – международные рекомендации и систематические обзоры. Именно кокрановские обзоры признаны эталонными и не подлежат критическому оцениванию [1]. Важными составляющими доказательной профилактики являются приемлемость выводов кокрановских обзоров для экспертов здравоохранения и потребителей медицинских услуг – пациентов, их представителей и общества в целом.

Для поиска систематических обзоров по вопросам первичной профилактики (кокрановских и не-кокрановских) удобна метабаза TRIP: она содержит клиническую категорию «Первичная помощь», созданную в 2011-2012 гг. с помо-

*Адрес для корреспонденции:* Украина, 01601, г.Киев, ул. Пушкинская, 22, Национальный медицинский университет им. А.А. Богомольца, кафедра медицинской информатики и компьютерных технологий обучения. Тел.: +380503832300, e-mail: olgabass@volicable.com – Пузанова Ольга Геннадьевна.

щью ручного поиска в 36 базах доказательной медицины, в том числе Cochrane library [13]. Тем не менее, поиск доказательств по вопросам, касающимся действенности вмешательств, принято начинать с Кокрановской библиотеки [1]. На сегодня Кокрановская база систематических обзоров (Cochrane Database of Systematic Reviews) насчитывает более 4600 полнотекстовых документов. Интенсивность создания их непрерывно растет: только с апреля 2010 г. до марта 2011 г. было разработано 550 новых протоколов, создано 389 и пересмотрено 449 обзоров. В 2010 г. к кокрановским обзорам обращались 3957567 раз (на 14 % больше, чем в 2009 г.), а к «топ-пятерке» их – более 40 тыс. раз [2]. 50 наиболее рейтинговых обзоров размещают на сайте Кокрановской библиотеки отдельно («Top 50 Reviews»), что дает возможность установить темы, наиболее интересные для пользователей в течение последних 24 часов, 7 дней, 30 дней и 3-х мес. [12].

Цель работы – характеристика и систематизация наиболее рейтинговых кокрановских обзоров, посвященных первичной профилактике в здравоохранении.

## Методы

Проанализированы структура и содержание 200 кокрановских обзоров, размещенных на сайте www.cochrane.org и наиболее рейтинговых по результатам подсчетов 4-х 3-месячных периодов (осень 2011 г., лето 2012 г., осень 2012 г. и зима 2012-2013 гг.), а также динамика обращений к ним в указанные периоды. Используются системный подход и метод экспертных оценок.

## Результаты и обсуждение

Как представлено в таблице 1, интерес к кокрановским обзорам возрастает: если осенью 2011 г. к «топ-50» обратились 26190 раз, то в течение каждого следующего 3-месячного периода их загружали почти в 3,5 раза чаще (летом 2012 г. – 92587, осенью 2012 г. – 88314, зимой 2012-2013 гг. – 90449 раз). Среди наиболее рейтинговых вопросов первичной профилактики было посвящено более трети (36-38%), и число обращений к ним постоянно увеличивалось – с 12061 раз осенью 2011 г. до 47755 зимой 2012-2013 гг. Анализ «топ-5»

Таблица 1

### Сравнительная характеристика обращений к наиболее рейтинговым кокрановским обзорам (n=200)

Параметр	Сентябрь – ноябрь 2011 г.	Июнь – август 2012 г.	Сентябрь – ноябрь 2012 г.	Декабрь 2012 – февраль 2013 г.
Количество обращений к «топ-50»	26190	92587	88314	90449
Количество обзоров, посвященных первичной профилактике / их доля в структуре «топ-50»	19 / 38%	19 / 38%	18 / 36%	19 / 38%
Количество обращений к обзорам, посвященным первичной профилактике / их доля в структуре обращений к «топ-50»	12061 / 46,1%	20205 / 21,8%	39818 / 45,1%	47755 / 52,8%
Количество обращений к «топ-5» / из них посвящено первичной профилактике	6049 / 4 (80%)	14442 / 2 (40%)	22162 / 3 (60%)	28298 / 5 (100%)

обзоров также показал значительный интерес к вопросам первичной профилактики нарушений здоровья: если осенью 2011 г. такие документы загружали 6049 раз, то летом 2012 г. – в 2,4 раза чаще (14442), осенью 2012 г. – в 3,7 (22162), зимой 2012-2013 гг. – в 4,7 раза чаще (28298).

В сентябре – ноябре 2011 г. в «топ-50» вошли следующие 19 обзоров, посвященных первичной профилактике: 1) «Витамин С для профилактики и лечения простуды» (1520 обращений); 2) «Упражнения для улучшения равновесия у пожилых» (1469); 3) «Диета с низким содержанием поваренной соли по сравнению с диетой, богатой натрием: влияние на артериальное давление, содержание ренина, альдостерона, катехоламинов, холестерина и триглицеридов» (1255); 4) «Страшная правда» и другие информационно-образовательные программы профилактики правонарушений в молодежной среде» (1051); 5) «Профилактика и лечение послеродовой гипертензии» (687); 6) «Ранний телесный контакт родильниц с их здоровыми новорожденными детьми» (668); 7) «Вмешательства для профилактики ожирения у детей» (613); 8) «Статины для первичной профилактики сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ)» (565); 9) «Никотинзаместительная терапия для отказа от курения» (542); 10) «Вакцины против гриппа у здоровых взрослых» (519); 11) «Сестринские вмешательства, направленные на прекращение курения» (406); 12) «Клюква для профилактики инфекций мочевыводящих путей» (379); 13) «Маммографический скрининг на рак молочной железы» (373); 14) «Цинк при простуде» (373); 15) «Вмешательства, направленные на предотвращение падений у пожилых людей, живущих в сообществе» (359); 16) «Вакцины для профилактики гриппа у здоровых детей» (332); 17) «Дооперационная эпиляция для уменьшения инфицирования операционного поля» (324); 18) «Витамин К для профилактики кровотечений, связанных с его дефицитом, у новорожденных» (313); 19) «Зеленый чай (*Camellia sinensis*) для профилактики рака» (313).

В июне - августе 2012 г. среди 50 наиболее рейтинговых кокрановских обзоров первичной профилактике посвящались следующие 19: 1) «Статины для первичной профилактики ССЗ» (2387 обращений); 2) «Рыбий жир для профилактики деменции у пожилых» (2012); 3) «Помощь пациентам в принятии решений, касающихся лечения или скрининга» (на испанском) (1606); 4) «Вмешательства для профилактики ожирения у детей» (1587); 5) «Ранний телесный контакт родильниц с их здоровыми новорожденными детьми» (1290); 6) «Добавление антиоксидантов для профилактики смерти у здоровых лиц и пациентов с разными заболеваниями» (1242); 7) «Витамин С для профилактики и лечения простуды» (1156); 8) «Маммографический скрининг на рак молочной железы» (911); 9) «Вакцины против гриппа у здоровых взрослых» (821); 10) «Клюква для профилактики инфекций мочевыводящих путей» (806); 11) «Цинк при простуде» (783); 12) «Физические упражнения для улучшения равновесия у пациентов пожилого возраста» (730); 13) «Интерактивные вмешательства с использованием компьютера для снижения веса и его поддержания у лиц с избыточной массой тела и ожирением» (688); 14) «Непрерывная поддержка рожениц» (682); 15) «Акушерское ведение по сравнению с другими моделями ухода за роженицами» (624); 16) «Перинеальные техники во втором периоде родов для предупреждения травм промежности» (584); 17) «Вмешательства, направленные на предотвращение падений у пожилых людей, живущих в сообществе» (578); 18) «Межпрофессиональное сотрудничество: влияние основанных на практике вмешательств на профессиональную деятельность и важные для здравоохранения исходы» (565); 19) «Помощь пациентам в принятии решений, касающихся лечения или скрининга» (на английском) (551).

Осенью 2012 г. в «топ-50» вошли 18 обзоров, посвященных первичной профилактике: 1) «Вакцины против гриппа у здоровых взрослых» (загружали 5147 раз); 2) «Витамин С для профилактики и лечения простуды» (3942); 3) «Чеснок при простуде»

де» (3829); 4) «Вмешательства, направленные на предотвращение падений у пожилых людей, живущих в сообществе» (3028); 5) «Статины для первичной профилактики ССЗ» (2585); 6) «Клюква для профилактики инфекций мочевыводящих путей» (2514); 7) «Вмешательства для профилактики ожирения у детей» (2494); 8) «Влияние какао на артериальное давление» (2290); 9) «Маммографический скрининг на рак молочной железы» (1782); 10) «Вакцины для профилактики гриппа у здоровых детей» (1606); 11) «Рыбий жир для профилактики деменции у пожилых» (1590); 12) «Цинк при простуде» (1584); 13) «Исследования состояния здоровья для снижения уровня заболеваемости и смертности» (1519); 14) «Добавление антиоксидантов для профилактики смерти у здоровых лиц и пациентов с разными заболеваниями» (1513); 15) «Ранний телесный контакт родильниц с их здоровыми новорожденными детьми» (1464); 16) «Межпрофессиональное сотрудничество: влияние основанных на практике вмешательств на профессиональную деятельность и важные для здравоохранения исходы» (1264); 17) «Упражнения для улучшения равновесия у пожилых» (901); 18) «Непрерывная поддержка рожениц» (802).

Зимой 2012-2013 гг. в числе «топ-50» было 19 обзоров по первичной профилактике: 1) «Вакцины против гриппа у здоровых взрослых» (загружали 10020 раз); 2) «Вакцины для профилактики гриппа у здоровых детей» (6970); 3) «Добавление антиоксидантов для профилактики смерти у здоровых лиц и пациентов с разными заболеваниями» (4463); 4) «Статины для первичной профилактики ССЗ» (3479); 5) «Витамин С для профилактики и лечения простуды» (3366); 6) «Цинк при простуде» (3294); 7) «Клюква для профилактики инфекций мочевыводящих путей» (2744); 8) «Вмешательства, направленные на предотвращение падений у пожилых людей, живущих в сообществе» (1811); 9) «Вмешательства для профилактики ожирения у детей» (1621); 10) «Чеснок при простуде» (1505); 11) «Межпрофессиональное сотрудничество: влияние основанных на практике вмешательств на про-

фессиональную деятельность и важные для здравоохранения исходы» (1221); 12) «Маммографический скрининг на рак молочной железы» (1124); 13) «Добавление витамина D в рацион беременных» (1028); 14) «Никотинзаместительная терапия для отказа от курения» (953); 15) «Ранний телесный контакт родильниц с их здоровыми новорожденными детьми» (942); 16) «Непрерывная поддержка рожениц» (875); 17) «Акушерское ведение по сравнению с другими моделями ухода за роженицами» (792); 18) «Зеленый чай для профилактики рака» (779); 19) «Преимущества и недостатки родов, планомерно проведенных в стационаре, по сравнению с планомерно проведенными в домашних условиях, у беременных с низким риском» (768).

Сравнительная характеристика наиболее рейтинговых кокрановских обзоров, посвященных вопросам первичной профилактики, представлена в таблице 2. Поскольку названия и выводы систематических обзоров обычно формулируют по принципу PICO (от англ. Population / Patients – Популяция / Пациенты, Intervention – Вмешательство, Comparison – Сравнение, Outcome – Исход), систематизацию изученных документов провели прежде всего по этим параметрам.

В наиболее интересных для пользователей Интернет кокрановских обзорах нашли свое отображение концепция факторов риска, программный подход и весь спектр технологий медицинской профилактики. Как видно из таблицы 2, факторы риска были рассмотрены в значительной части обзоров (26,3-57,9 %); кроме общей популяции, уделялось также внимание профилактике в специальных группах (дети и подростки, женщины, пожилые люди). Чаще других технологий медицинской профилактики обращались к организационным (27,8-57,9 %), затем информационно-образовательным, фармакологическим, а также технологиям комплементарной и альтернативной медицины. Удельный вес обзоров, в которых представляли действенность программного подхода, составлял 21,2-42,8%. Наконец,



Таблица 2

**Сравнительная характеристика наиболее рейтинговых кокрановских обзоров,  
посвященных первичной профилактике**

Параметр	Количество обзоров и их доля в структуре посвященных первичной профилактике и входящих в наиболее рейтинговые в указанный период			
	Осень 2011 г. (n=19)	Лето 2012 г. (n=19)	Осень 2012 г. (n=18)	Зима 2012-2013 гг. (n=19)
<b>Популяция / Пациенты</b>				
Дети и подростки	6 (31,6 %)	2 (10,5 %)	3 (16,7 %)	3 (15,8 %)
Женщины	4 (21,2 %)	4 (21,2 %)	3 (16,7 %)	6 (31,6 %)
Пожилые люди	3 (15,8 %)	4 (21,2 %)	4 (22,2 %)	2 (10,5 %)
Факторы риска	11 (57,9 %)	5 (26,3 %)	9 (50 %)	9 (47,4 %)
<b>Вмешательство / профилактическая технология</b>				
Вакцинация	2 (10,5 %)	1 (5,3 %)	2 (11,1 %)	2 (10,5 %)
Информационные технологии	5 (26,3 %)	6 (31,6 %)	3 (16,7 %)	2 (10,5 %)
Организационные технологии	6 (31,6 %)	11 (57,9 %)	5 (27,8 %)	6 (31,6 %)
Скрининг	1 (5,3 %)	1 (5,3 %)	2 (11,1 %)	1 (5,3 %)
Фармакопрофилактика	5 (26,3 %)	3 (15,8 %)	4 (22,2 %)	6 (31,6 %)
Технологии КАМ	3 (15,8 %)	3 (15,8 %)	3 (16,7 %)	3 (15,8 %)
Программный подход	5 (26,3 %)	8 (42,8 %)	5 (27,8 %)	4 (21,2 %)
<b>Заболевания и другие важные для здоровья и здравоохранения исходы</b>				
Инфекционные	6 (31,6 %)	4 (21,2 %)	6 (33,3 %)	6 (31,6 %)
Сердечно-сосудистые	3 (15,8 %)	3 (15,8 %)	4 (22,2 %)	2 (10,5 %)
Онкологические	2 (10,5 %)	1 (5,3 %)	3 (16,7 %)	3 (15,8 %)
Прочие	9 (47,4 %)	11 (57,9 %)	7 (38,9 %)	9 (47,4 %)

Примечание: КАМ – комплементарная и альтернативная медицина.

следует отметить значительный интерес пользователей Кокрановской библиотеки к предупреждению инфекционных заболеваний (21,2-33,3% в структурах обзоров – больше, чем доля сердечно-сосудистых и онкологических «исходов») и к «другим важным для здоровья и здравоохранения исходам» (удельный вес 38,9-57,9%).

В течение всех указанных периодов в «топ-50» входили 9 обзоров по первичной профилактике [3-11] (табл. 3). При этом зимой 2012-2013 гг. частота обращений к работе «Вакцины для профилактики гриппа у здоровых взрослых» почти в 20 раз превышала таковую за осень 2011 г., а обзоры «Цинк при простуде», «Клюква для профилактики инфекций мочевыводящих путей», «Статины для первичной профи-

лактики ССЗ» и «Вмешательства по профилактике падений у пожилых, живущих в сообществах» загружали в 5-9 раз чаще.

Обзор «Вакцины для профилактики гриппа у здоровых взрослых» [9] был разработан в июле 2010 г. группой экспертов под руководством Т. Jefferson. Вакцинация является технологией первичной профилактики гриппа А и гриппа В, возбудители которых составляют до 10% от всех циркулирующих вирусов, вызывающих гриппоподобные заболевания. Ежегодно ВОЗ пересматривает состав вакцин, которые рекомендует использовать в ближайшем сезоне; ряд международных организаций рекомендует прививать от гриппа здоровых детей 6-23 мес. и контактных лиц – как технологию общественной профилактики,

Таблица 3

**Кокрановские обзоры, посвященные первичной профилактике  
и входящие в «топ-50» в течение всех периодов исследования**

Название обзора	Количество обращений			
	Осень 2011 г.	Лето 2012 г.	Осень 2012 г.	Зима 2012-2013 гг.
Статины для первичной профилактики ССЗ	565	2387	2585	3479
Вмешательства для профилактики ожирения у детей	613	1587	2494	1621
Ранний телесный контакт родильниц с их здоровыми новорожденными	668	1290	1464	942
Вмешательства по профилактике падений у пожилых людей, живущих в сообществе	359	1180	3028	1811
Витамин С для профилактики и лечения простуды	1520	1156	3942	3366
Маммографический скрининг на рак молочной железы	373	911	1782	1124
Вакцины для профилактики гриппа у здоровых взрослых	519	821	5147	10020
Клюква для профилактики инфекций мочевыводящих путей	379	806	2514	2744
Цинк при простуде	373	783	1584	3294

ограничивающую распространение эпидемии. В обзор включили 36 исследований – все, в которых исходы у привитых сравнивали с исходами у непривитых лиц. Было показано, что в идеальных условиях (при полном соответствии вакцины конфигурации циркулирующего вируса) для предупреждения одного случая гриппа надо вакцинировать 33 взрослых (NNT = 33); в обычных условиях этот индекс составляет 100. По результатам обзора, вакцинация против гриппа у здоровых взрослых не влияет ни на частоту госпитализаций, ни на длительность нетрудоспособности в связи с этим заболеванием. Развитие синдрома Guillian-Barré наблюдали в одном случае на 1 млн прививок. Авторы обзора подчеркнули, что 15 исследований было проведено при финансовой поддержке компаний-производителей вакцин, а в 4-х такой информации не предоставили; доказательства вреда от использования вакцин сочли «ограниченными» [9].

Обзор M. Singh и R. Das «Цинк при простуде» [11] был впервые опубликован

в начале октября 2011 г. Авторы предположили позитивное влияние применения препаратов цинка, угнетающих репликацию риновирусов, на заболеваемость «простудой» и связанные с ней средний отит, синуситы, обострения респираторных заболеваний и экономические затраты. В обзор вошли 15 плацебо-контролируемых рандомизированных клинических исследований (РКИ), участие в которых приняли 1360 человек. Результаты показали, что в общей популяции здоровых людей применение препаратов цинка, начатое в течение 24 часов от появления признакою простуды, уменьшает ее тяжесть и длительность. Кроме того, прием препаратов цинка в течение 5 мес. уменьшает количество пропущенных школьных занятий и назначений детям антибиотиков. Полученные результаты не позволили рекомендовать превентивный прием препаратов цинка в группах повышенного риска осложнений простуды (иммунодефицит, астма, хронические заболевания легких), поскольку исследований в них не проводили. Авторы

обзора указали на необходимость продолжения исследований для разработки рекомендаций по этому вопросу [11].

«Клюква для профилактики инфекций мочевыводящих путей» [3] – обзор R. Jepson и J. Craig, изданный в октябре 2009 г. Известна способность содержащихся в клюкве веществ предупреждать адгезию бактерий к стенкам мочевого пузыря. В обзор включили 10 исследований, в которых приняли участие 1049 пациентов. Превентивный эффект продуктов, изготовленных из клюквы, сравнивали с плацебо, влиянием воды или других соков. Доказано, что использование сока клюквы или содержащих ее капсул может предупреждать рецидивы инфекций мочевыводящих путей у женщин (длительность применения и дозировки остались не определенными). Доказательная база профилактической пользы клюквы у пожилых признана слабой, а при необходимости катетеризации мочевого пузыря эта технология вообще не эффективна [3].

В августе 2011 г. был издан обзор F. Taylor и соавт. «Статины для первичной профилактики ССЗ» [8]. И эти болезни, и дислипидемия являются значимыми факторами риска преждевременной смерти. Начало эры статинов сопровождалось разработкой нескольких систематических обзоров, посвященных вторичной профилактике ССЗ. Доказательная база первичной была слабее и стала целью данного обзора, в котором оценивали также соотношение потенциальной пользы и вреда этой технологии. В Кокрановском центральном реестре контролируемых исследований (CENTRAL), MEDLINE и EMBASE было отобрано 14 специальных РКИ и 16 исследований в подгруппах (общее число участников – 34272), проведенных в 1994–2006 гг. Минимальная длительность лечения составляла 1 год, дальнейшего наблюдения – 6 мес.; сравнение проводили с плацебо или традиционным лечением. Результаты обзора показали, что первичная профилактика с применением статинов уменьшает общую смертность, заболеваемость ИБС, риск событий, связанных с инсультами, количество реваскуляризаций

и сывороточное содержание холестерина. Было показано, что прием статинов не увеличивает риск развития онкозаболеваний. В ряде исследований изучали фармакоэкономические аспекты этой превентивной технологии и ее влияние на качество жизни, но доказательства были признаны ограниченными. Авторы обзора рекомендовали осторожное использование статинов для первичной профилактики ССЗ у лиц с низким кардиоваскулярным риском [8].

Обзор «Вмешательства по профилактике падений у пожилых, живущих в сообществах» был издан L. Gillespie и соавт. в 2010 г. [5]. Ограничение активности в пожилом возрасте нередко обусловлено страхом упасть. Увеличение риска падений связано с рядом факторов – нарушениями равновесия, ухудшением зрения и деменцией. В течение года падает почти треть пожилых людей, и частота переломов при этом достигает 10%. В обзор включили 111 РКИ, в которых приняли участие 55 303 пациента. В основе использованных у них программ было выполнение физических упражнений, направленных на укрепление мышц, улучшение равновесия, гибкости и выносливости (по меньшей мере 2 составляющих), – результатом стало уменьшение количества падений и падавших. Эффективным оказалось выполнение упражнений и в группах под медицинским наблюдением (в том числе тренировки Тай Ши), и в индивидуальном режиме в домашних условиях. Индивидуальный риск падений уменьшали именно многофакторные вмешательства, что показали исследования, проведенные в учреждениях проживания пожилых людей. Перспективным направлением дальнейших исследований авторы обзора считают оценивание отдельных факторов таких вмешательств. Результаты обзора показали, что добавление витамина D уменьшает риск падений только у людей, имеющих его дефицит в крови. Вмешательства, направленные на усиление безопасности быта, оказались действенными только в группах высокого риска падений (у слабовидящих). Коррекция фармакотерапии также является технологией профилактики падений, поскольку

прием некоторых лекарств (снотворных, антигипертензивных, транквилизаторов, антидепрессантов) повышает их вероятность. Наконец, риск падений уменьшает хирургическое лечение катаракты, установка пейсмекеров у пациентов с синдромом слабости синусового узла и другими аритмиями [5].

### Заключение

Интенсивность обращений пользователей Интернет к Кокрановской библиотеке подтверждает востребованность медицинской информации наиболее высокого качества и уровня доказательности, в том числе и по вопросам первичной профилактики заболеваний и других нарушений здоровья. В наиболее рейтинговых кокрановских обзорах отражен весь спектр превентивных технологий, концепция факторов риска и программный подход к профилактике в здравоохранении.

Перспективы дальнейших исследований. Деятельность Кокрановского сотрудничества признана в мире «эталонной» работы с высококачественной информацией, касающейся эффективности здравоохранения». На сегодня совместный труд 28 тыс. людей из более чем 100 стран помогает разработчикам отраслевой политики «принимать взвешенные решения, основой которых являются наилучшие доступные внешние эпидемиологические доказательства, путем создания, обновления и продвижения доступности кокрановских обзоров» [2]. И если руководства Американской рабочей группы USPSTF признаны «золотым стандартом» рекомендаций по профилактическим услугам, то кокрановские обзоры являются эталоном доказательств эф-

фективности превентивных вмешательств, технологий и программ, важным информационным ресурсом доказательной профилактики в здравоохранении.

### Литература

1. Гринхальх, Т. Основы доказательной медицины : пер. с англ. / Т. Гринхальх ; под ред. И.Н. Денисова, К.И. Сайткулова. – 3-е изд. – М. : ГЭОТАР Медиа, 2009. – 288 с.
2. URL: <http://annual-report.cochrane.org/content/our-plans> // [Электронный ресурс].
3. URL:<http://summaries.cochrane.org/CD001321/cranberries-for-preventing-urinary-tract-infections> // [Электронный ресурс].
4. URL: <http://summaries.cochrane.org/CD003519/early-skin-to-skin-contact-for-mothers-and-their-healthy-newborn-infants> // [Электронный ресурс].
5. URL:<http://summaries.cochrane.org/CD007146/interventions-for-preventing-falls-in-older-people-living-in-the-community> // [Электронный ресурс].
6. URL: <http://summaries.cochrane.org/CD001871/interventions-for-preventing-obesity-in-children> // [Электронный ресурс].
7. URL:<http://summaries.cochrane.org/CD001877/screening-for-breast-cancer-with-mammography> // [Электронный ресурс].
8. URL: <http://summaries.cochrane.org/CD004816/statins-for-the-primary-prevention-of-cardiovascular-disease> // [Электронный ресурс].
9. URL: <http://summaries.cochrane.org/CD001269/vaccines-to-prevent-influenza-in-healthy-adults> // [Электронный ресурс].
10. URL: <http://summaries.cochrane.org/CD000980/vitamin-c-for-preventing-and-treating-the-common-cold> // [Электронный ресурс].
11. URL: <http://summaries.cochrane.org/CD001364/zinc-for-the-common-cold> // [Электронный ресурс].
12. URL: <http://www.cochrane.org> // [Электронный ресурс].
13. URL: <http://www.tripdatabase.com> // [Электронный ресурс].

Поступила 20.08.2013 г.

Принята в печать 05.09.2013 г.

### Сведения об авторах:

Пузанова О.Г. – к.м.н., доцент кафедры медицинской информатики и компьютерных технологий обучения НМУ им. А.А. Богомольца, г. Киев, Украина.

## ИЗ ПЛЕЯДЫ КЛАССИЧЕСКИХ АНАТОМОВ

### 75 лет профессору Павлу Марковичу Трясучёву



3 июля 2013 г. отметил 75-летний юбилей доктор медицинских наук, профессор Павел Маркович Трясучёв. Он родился в г. Томске в 1938 г. в семье инженеров. В 1945 г. семья переехала в Новосибирск. Его отец, Марк Иванович, за многолетнюю работу по созданию и развитию речного техникума был удостоен звания Почётного гражданина г. Новосибирска.

После окончания в 1961 г. Новосибирского государственного медицинского института (НГМИ) П.М. Трясучёв поступил в аспирантуру при кафедре анатомии человека НГМИ. Кандидатскую диссертацию выполнял под руководством профессоров К.В. Ромодановского и Ю.И. Бородина, которые оказали серьёзное влияние на его творческое формирование как классического анатома в музейной технике и в изучении лимфатической системы человека и животных.

С 1964 г. работал ассистентом, доцентом, профессором кафедры нормальной анатомии НГМИ. В 1965 г. П.М. Трясучёв защитил кандидатскую диссертацию на тему «Рентгеноанатомическое исследование лимфатических узлов собаки из областей с различной физиологической специализацией при разных уровнях функциональной нагрузки». В 1984 г. защитил докторскую диссертацию на тему «Анатомо-функциональное исследование регионарных, видовых и экологических особенностей лимфатических узлов». Учёное звание профессора П.М. Трясучёву было присвоено в 1987 г.

С 1987 г. жизнь и деятельность П.М. Трясучёва связаны с Витебским медицинским институтом (университетом), где он работал на кафедре анатомии человека с 1987 по 1997 г. – заведующим, а с 1997 г. – профессором кафедры. Основным направлением деятельности П.М. Трясучёва в ВГМИ стало обеспечение учебного процесса анатомическим материалом, расширение анатомического музея и реставрация его фондов, научно обоснованное внедрение в учебный процесс рентгеноанатомии. Свой большой опыт преподавателя он оформил в виде 8 учебных пособий для студентов.

Основная тематика научных исследований П.М. Трясучёва посвящена функциональной анатомии лимфатических узлов. Им и его сотрудниками исследованы направ-

ления и пределы адаптации лимфатических узлов в экспериментально-патологических ситуациях в рамках функциональной оси – дренируемый орган – регионарный лимфоузел, а также возможности профилактики и коррекции патологических изменений в лимфоузлах. Установленные видовые, регионарные и экологические особенности внутриорганный конструкции лимфатических узлов стали базой экспериментальных исследований преобразования регионарных лимфоузлов при гиперхолестеринемии и облучении, критических резекциях печени. Исследования морфологического типирования лимфатических узлов, направлений и пределов их адаптации в различных экспериментально-патологических ситуациях показали, что перспективы выживания при сублетальном повреждении печени связаны и с компенсаторной реакцией регионарных лимфоузлов. Получены доказательства преобразования в регионарных лимфоузлах при хронических  $\gamma$ -облучениях слабыми дозами после холестериновой нагрузки и протекторного введения липостабила и пробукола.

П.М. Трясучёв – автор более 200 научных публикаций, 2 монографий, 11 рацпредложений. Под его руководством выполнены 2 кандидатские диссертации. С 1988 г. профессор П.М. Трясучёв – председатель правления Витебского отделения белорусской ассоциации морфологов. Был членом 2-х специализированных советов – в России и Беларуси.

За плодотворную научную, педагогическую и общественную деятельность П.М. Трясучёв отмечен благодарностями, почётными грамотами и дипломами Министерств образования и здравоохранения СССР, БССР, всесоюзных, республиканских, областных государственных учебных заведений, награждён значками «Отличнику здравоохранения», «Отличнику образования», медалью «За заслуги в развитии ВГМУ».

Профессор П.М. Трясучёв оказывает неоценимую помощь в подготовке студентов и молодых кадров анатомов.

Ректорат и профессорско-преподавательский состав Витебского государственного медицинского университета, Белорусская ассоциация морфологов сердечно поздравляют П.М. Трясучёва с юбилейной датой и желают ему крепкого здоровья, благополучия, успехов, бодрости духа и большого человеческого счастья.

*Заведующий кафедрой анатомии человека  
УО «ВГМУ», д.м.н. А.К. Усович*

*Поступила 20.08.2013 г.  
Принята в печать 05.09.2013 г.*



## ИЗ ЖИЗНИ ВУЗА

**Поздравляем победителей конкурса Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований: «БРФФИ-Витебск – 2013 г.»:**

Доцента кафедры госпитальной хирургии Косинца В.А. «Использование достижений современной медицинской науки в лечении наиболее тяжелых заболеваний и осложнений хирургической инфекции».

Старшего преподавателя кафедры общей стоматологии с курсом ортопедической стоматологии Карпука И.Ю. «Иммуннопатогенетические механизмы непереносимости зубопротезных материалов и методы их выявления».

## МЕЖДУНАРОДНЫЕ СВЯЗИ

В рамках реализации **межвузовских договоров о сотрудничестве** во время летней производственной практики 2013 года состоялся академический обмен студентами лечебного и стоматологического факультетов Витебского государственного ордена Дружбы народов медицинского университета с Кировской государственной медицинской академией и Самарским государственным медицинским университетом.

В рамках реализации Договора о двустороннем сотрудничестве с Познаньским медицинским университетом им. К.Марцинковского (Республика Польша) реализовывалась ежегодная Международная программа обмена студентов фармацевтических факультетов. Данный академический обмен имеет уже более чем четырнадцатилетнюю историю и осуществляется ежегодно.

В соответствии с Договором с 01.09.2013 г. по 22.09.2013 г. для прохождения учебной стажировки была организована поездка 9 студентов фармацевтического факультета ВГМУ под руководством начальника международного отдела Н.Н. Маслак в Познаньский медицинский университет им. К.Марцинковского.

С 16.09.2013 г. по 27.09.2013 г. осуществлялся приём делегации из 9 польских студентов и 1 преподавателя университета. В программу их пребывания были включены мероприятия по ознакомлению с организацией работы аптек различных форм собственности, организацией медицинской помощи населению Республики Беларусь, ознакомление с работой клиники ВГМУ, менеджментом в системе здравоохранения, анализировалось значение использования информационных технологий в работе врача и провизора.

## ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ

Цель журнала «Вестник ВГМУ» состоит в том, чтобы представить аудитории оригинальные работы ученых ВГМУ, Беларуси, СНГ и других стран, имеющие значение для медицины, нормальной жизнедеятельности и совершенствования преподавания в медицинском вузе. В журнале могут печататься статьи иностранных авторов на английском языке.

Журнал включен в Перечень научных изданий Республики Беларусь по медицинской, фармацевтической и биологической отраслям науки. Вне очереди публикуются научные статьи аспирантов последнего года обучения (включая статьи, подготовленные ими в соавторстве), при условии их полного соответствия требованиям, предъявляемым к научным публикациям издания, а также статьи подписчиков журнала.

### **Журнал печатает:**

- **ПОЛНОРАЗМЕРНЫЕ ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ.** Такие статьи содержат результаты оригинальных исследований.

- **ОБЗОРЫ.** Цель обзоров состоит в изложении существа проблемы и ее важности. Изложение материала должно быть доступно специалистам смежных областей. Основное внимание обзоров следует сконцентрировать на результатах современных исследований.

- **КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ.** Раздел предназначен для публикации результатов наиболее актуальных научных исследований, представляющих особую важность. Желательно, чтобы краткое сообщение не превышало 3-х страниц машинописного текста и содержало не более 2-х иллюстраций. Сообщения должны быть исчерпывающими по своему содержанию и начинаться с небольшого вводного абзаца, убеждающего читателя в необходимости прочтения всего сообщения.

- **ПИСЬМА В РЕДАКЦИЮ.** Этот раздел журнала содержит материалы переписки с редакцией, касающиеся критических замечаний по поводу опубликованных в журнале работ, или информацию, требующую безотлагательного обсуждения.

- **НОВОСТИ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ.** В этом разделе освещаются вопросы, связанные с научным прогрессом в Республике Беларусь. Публикуются также материалы по результатам прикладных разработок, рекламируется продукция биотехнологической и фармацевтической промышленности и др.

- **ИНФОРМАЦИЯ О ПРЕДСТОЯЩИХ НАУЧНЫХ ФОРУМАХ.** Этот раздел предназначен для публикации предварительных сообщений о планируемых научных форумах, представляющих интерес для международной научной общественности.

Объем научной статьи должен составлять не менее 0,35 авторского листа (14 000 печатных знаков, включая пробелы между словами, знаки препинания, цифры и другое), что соответствует 8 страницам текста, напечатанного через 2 интервала между строками. Краткие сообщения – 3 страницы, обзор литературы – 15 страниц.

В редакцию направляются два экземпляра рукописи. Размеры полей: сверху – 2,5 см; снизу – 2,5 см; слева – 2 см; справа – 2 см. Текст статьи и графические файлы иллюстраций необходимо представить на дискете 3,5 дюйма стандартного формата. При подготовке текста статьи на компьютере необходимо использовать программы Microsoft Word. При этом запрещается использование жирного шрифта и курсива.

Рукописи статей представляются на русском языке (для иностранных авторов возможно изложение материала на английском языке).

Каждая полноразмерная статья должна включать следующие элементы:



- аннотацию;
- фамилию и инициалы автора (авторов) статьи, ее название;
- введение;
- основную часть, включающую разделы «Методы», «Результаты», «Обсуждение», «Заключение»;
- заключение, завершаемое четко сформулированными выводами;
- список использованной литературы.

Название статьи должно отражать основную идею выполненного исследования, быть по возможности кратким, содержать ключевые слова, позволяющие индексировать данную статью.

Титульная страница должна содержать: полное название статьи; фамилии и инициалы всех авторов, их место работы, а также почтовый адрес и телефоны всех авторов; сокращенный вариант названия статьи (не более 40 знаков); ключевые слова (не более 6) для составления указателя.

Аннотация на русском и английском языках (100-150 слов) должна содержать: вводную часть, краткое описание методов, результатов исследования и заключение, а также ясно излагать содержание статьи и быть пригодной для опубликования в аннотациях к журналам отдельно от статьи. В аннотации на английском языке обязательно указываются название статьи, фамилия и инициалы авторов на английском языке.

В разделе «Введение» должен быть дан краткий обзор литературы по данной проблеме, указаны не решенные ранее вопросы, сформулирована и обоснована цель работы и, если необходимо, указана ее связь с важными научными и практическими направлениями. Во введении следует избегать специфических понятий и терминов. Анализ источников, использованных при подготовке научной статьи, должен свидетельствовать о знании автором (авторами) статьи научных достижений в соответствующей области. Обязательными являются ссылки на работы других авторов. При этом должны присутствовать ссылки на публикации последних лет, включая зарубежные публикации в данной области.

Основная часть статьи должна содержать описание методики, аппаратуры, объектов исследования и подробно освещать содержание исследований, проведенных автором (авторами). Полученные результаты должны быть обсуждены с точки зрения их научной новизны и сопоставлены с соответствующими известными данными.

Основная часть статьи может делиться на подразделы (с разъяснительными заголовками) и содержать анализ последних публикаций, посвященных решению вопросов, относящихся к данным подразделам.

Иллюстрации, формулы, уравнения и сноски, встречающиеся в статье, должны быть пронумерованы в соответствии с порядком цитирования в тексте. На обороте каждой иллюстрации следует указать «верх», номер рисунка, а также фамилию первого автора. Размер присылаемых рисунков должен быть выбран с учетом их уменьшения в тексте вдвое-втрое. Толщина линий на рисунках должна быть такой, чтобы после уменьшения она составила 0,2 мм. Размеры рисунков не должны превышать 24х40 см, однако полезно помнить, что для простых графиков конечный горизонтальный размер составляет 6-8 см. К каждому экземпляру статьи следует приложить по одному экземпляру иллюстраций. Копии рисунков и фотографий для второго и третьего экземпляров статьи должны содержать все необходимые буквенные и цифровые надписи. Подписи к рисункам печатаются через два интервала на отдельном листе бумаги. Листы с подписями не скрепляются с самими рисунками.

Каждая таблица должна быть отпечатана на отдельном листе бумаги через два интервала, иметь название и подстрочные примечания (если необходимо). Место, где в

---

---

тексте должна быть помещена таблица, отмечается квадратом на левом поле, в котором ставится номер таблицы. В названиях таблиц и рисунков не должно быть сокращений.

В разделе «Заключение» должны быть в сжатом виде сформулированы основные полученные результаты с указанием их новизны, преимуществ и возможностей применения и четко сформулированы выводы. При необходимости должны быть также указаны границы применимости полученных результатов.

Все страницы, начиная с титульной, должны быть последовательно пронумерованы.

Размерность величин должна быть выражена в единицах Международной Системы (СИ), однако при необходимости в скобках после единиц измерения СИ может быть указана размерность в других системах.

Список использованной литературы оформляется в соответствии с ГОСТом – 7.1-2003. Список располагается в конце текста, ссылки нумеруются согласно порядку цитирования в тексте. Порядковые номера ссылок должны быть написаны внутри квадратных скобок (например: [1, 2]).

Список включает работы отечественных и зарубежных авторов. В оригинальных статьях желательно цитировать не более 15 источников, в обзорах литературы – не более 50. В статье не рекомендуются ссылки на авторефераты диссертационных работ или сами диссертации, т.к. они являются рукописями.

Статья должна быть тщательно отредактирована и выверена автором.

Желательно использовать общепринятые сокращения.

Направление в редакцию ранее опубликованных или принятых к печати в других изданиях работ не допускается. Статьи принимаются только с визой руководителя и обязательно при наличии экспертного заключения о возможности опубликования материалов в печати и других средствах массовой информации.

Редакция оставляет за собой право сокращения публикуемых материалов и адаптации их к рубрикам журнала.

---

Подписано в печать 05.09.2013 г. Формат 1/8.

Бумага типографская №2. Гарнитура «Таймс». Усл.печ. л. 21,9

Тираж 100 экз. Заказ №

Издатель и полиграфическое исполнение УО «Витебский государственный медицинский университет».

Лицензия ЛИ № 02330/0549444 от 08.04.09.

Отпечатано на ризографе в Витебском государственном медицинском университете.  
210023, г. Витебск, пр-т Фрунзе, 27.

При перепечатке материалов ссылка на «Вестник ВГМУ» обязательна.