

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

ВЕСТНИК РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

*Ежемесячный научно-теоретический журнал
Основан в 1946 г.*

Входит в Перечень ведущих научных журналов и изданий ВАК
Учредитель — Российская академия медицинских наук

Главный редактор И.И. ДЕДОВ

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Э.К. АЙЛАМАЗЯН, А.И. АРЧАКОВ, Л.И. АФТАНАС, А.А. БАРАНОВ, В.В. БЕРЕГОВЫХ (зам. гл. редактора), Л.А. БОКЕРИЯ, Н.Н. ВОЛОДИН, Н.Ф. ГЕРАСИМЕНКО, Е.К. ГИНТЕР, П.В. ГЛЫБОЧКО, Е.З. ГОЛУХОВА, В.В. ЗВЕРЕВ, Р.С. КАРПОВ, С.И. КОЛЕСНИКОВ, В.В. КУХАРЧУК, Г.А. МЕЛЬНИЧЕНКО, Н.А. МУХИН, Е.Л. НАСОНОВ, Г.Г. ОНИЩЕНКО, В.И. ПЕТРОВ, В.И. ПОКРОВСКИЙ, В.П. ПУЗЫРЕВ, В.С. САВЕЛЬЕВ, В.Г. САВЧЕНКО, В.И. СЕРГИЕНКО, Г.А. СОФРОНОВ, В.И. СТАРОДУБОВ, З.А. СУСЛИНА (зам. гл. редактора), Г.Т. СУХИХ, В.А. ТУТЕЛЬЯН (зам. гл. редактора), И.Б. УШАКОВ, Р.М. ХАИТОВ, Е.И. ЧАЗОВ, В.П. ЧЕХОНИН, В.И. ЧИССОВ, Е.В. ШЛЯХТО

НАУЧНЫЙ РЕДАКТОР: Д.А. НАПАЛКОВ

1 – 2 / 2014

Журнал «Вестник Российской академии медицинских наук» зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций 16.09.1992 г. Регистрационный номер 01574.

Редакция не несет ответственности за содержание рекламных материалов.
Воспроизведение или использование другим способом любой части издания без согласия редакции является незаконным и влечет за собой ответственность, установленную действующим законодательством РФ

Подписные индексы: в агентстве Роспечать — 71488, в агентстве «Пресса России» — 38814

Издательство «ПедиатрЪ»: 119991, Москва, Ломоносовский пр-т, 2/62, тел./факс: (499) 132-30-43, www.spr-journal.ru
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

ООО «ХОМОПРИНТ»: 117279, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 34

THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

ANNALS OF THE RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES

*Published monthly
Founded in 1946*

The Journal is in the List of the leading scientific journals and publications
of the Supreme Examination Board (VAK)
Founder — The Russian Academy Of Medical Sciences

Editor-in-chief I.I. Dedov

EDITORIAL BOARD:

E.K. AILAMAZYAN, A.I. ARCHAKOV, L.I. AFTANAS, A.A. BARANOV, V.V. BEREGOVYKH (deputy editors-in-chief),
L.A. BOKERIYA, N.N. VOLODIN, N.F. GERASIMENKO, E.K. GINTHER, P.V. GLYBOCHKO, L.Z. GOLUKHOVA,
V.V. ZVEREV, R.S. KARPOV, S.I. KOLESNIKOV, V.V. KUKHARCHUK, G.A. MELNICHENKO, N.A. MUKHIN,
E.L. NASONOV, I.I. ONISHCHENKO, V.I. PETROV, V.I. POKROVSKII, V.P. PUZYREV, V.S. SAVELIEV,
V.G. SAVCHENKO, V.I. SERGIENKO, G.A. SOFRONOV, V.I. STARODUBOV, Z.A. SUSLINA (deputy editors-in-chief),
G.T. SUKHIKH, V.A. TUTELYAN (deputy editors-in-chief), I.B. USHAKOV, R.M. KHAITOV, E.I. CHAZOV,
V.P. CHEKHONIN, V.I. CHISSOV, E.V. SHLYAKHTO

RESEARCH EDITOR: D.A. NAPALKOV

1–2/2014

Mass media registration certificate dated September, 16, 1992. Series № 01574 Federal service for surveillance over non-violation
of the legislation in the sphere of mass communications and protection of cultural heritage.

Editorial office takes no responsibility for the contents of advertising material.
No part of this issue may be reproduced without permission from the publisher. While reprinting publications one must make reference
to the journal « Annals Of The Russian Academy Of Medical Sciences »

Subscription indices are in the catalogue «Rospechat» 71488

Publisher «PEDIATR»: 2/62, Lomonosov avenue, Moscow, 119991, tel./fax: (499) 132-30-43, www.spr-journal.ru
e-mail: vestnikramn@nczd.ru

Printed in the printing office «KHOMOPRINT», 34, Miklukho-Maklaya st., Moscow, 117279

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ОНКОЛОГИИ

Н.Е. Кушлинский, М.В. Немцова Молекулярно-биологические характеристики злокачественных новообразований

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ХИРУРГИИ

А.А. Калиев, Б.С. Жакиев, Г.А. Елеуов, Н.К. Конакбаева Использование озонотерапии и малых доз постоянного электрического тока в комплексном лечении стерильного панкреонекроза

Ю.С. Винник, Е.В. Репина, Е.В. Серова, А.С. Репин, Ф.П. Чавкункин, А.А. Габриелян, М.О. Журавлёв Уродинамические нарушения в почках при панкреонекрозе

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ТРАВМАТОЛОГИИ

А.Г. Соловьёва, А.К. Мартусевич, С.П. Перetyagin, Н.В. Диденко Системный анализ метаболического профиля крови пациентов с термической травмой

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ КАРДИОЛОГИИ

Х.А. Курданов, И.А. Бесланев, Л.М. Батырбекова, М.Х. Курданова Адаптационные возможности основных регуляторных систем у больных с артериальной гипертензией в условиях высокогорья

К.Х. Захидова Взаимосвязь между концентрацией патологических цитокинов и эритропоэтина у больных хронической сердечной недостаточностью с анемическим синдромом

АКТУАЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ ФИЗИОЛОГИИ

А.Э. Лычкова, А.М. Пузиков Пролактин и серотонин

И.Н. Тюренок, В.Н. Перфилова, Н.В. Садикова Изменение ино- и хронотропных резервов сердца стрессированных животных в условиях блокады различных NO-синтаз

А.А. Чернозуб Вариабельность сердечного ритма у нетренированных юношей в условиях различных режимов силовой нагрузки

К.П. Иванов Современные медицинские проблемы микроциркуляции и гипоксического синдрома

НАУЧНЫЕ СООБЩЕНИЯ

Л.М. Огородова, О.С. Фёдорова, М.М. Федотова, Т.А. Евдокимова Формирование пищевой сенсibilизации у детей на фоне инвазии *Opisthorchis felinus*

А.А. Карабиненко, Ю.М. Петренко, Г.И. Сторожак, Н.М. Широхова Новый класс явлений, обнаруживаемый при нейросетевом анализе многопризнаковых данных у больных с воспалительными заболеваниями легких

Г.М. Элбакидзе, А.Г. Меденцев, А.Г. Элбакидзе Влияние продигозанзависимого комутона на устойчивость митохондрий печени к повреждению протонофором

ONCOLOGY: CURRENT ISSUES

N.E. Kushlinskii, M.V. Nemtsova Molecular Biological Characteristics of Cancer

SURGERY: CURRENT ISSUES

A.A. Kaliyev, B.S. Zhakiyev, G.A. Eleuov, N.K. Konakbayeva Concomitant use of Intravenous Ozone Therapy and Small Doses of Direct Current in the Integrated Treatment of Patients with Sterile Pancreatonecrosis

Yu.S. Vinnik, E.V. Repina, E.V. Serova, A.S. Repin, F.P. Chavkunkin, A.A. Gabrielyan, M.O. Zhuravlev Urodynamic Abnormalities in the Kidneys of Pancreatonecrosis

TRAUMATOLOGY: CURRENT ISSUES

A.G. Soloveva, A.K. Martusevich, S.P. Peretyagin, N.V. Didenko System Analysis of Metabolic Profile of Blood in Patients with Thermal Trauma

CARDIOLOGY: CURRENT ISSUES

Kh.A. Kurdanov, I.A. Beslaneev, L.M. Batyrbekova, M.Kh. Kurdanova Adaptative Resources of the Main Regulatory Systems in Patients with Hypertension under the Highland Conditions

K.Kh. Zahidova Correlation Between Concentration of Pathological Cytokines and Erythropoietin in Patients with Chronic Heart Failure with Anemic Syndrome

PHYSIOLOGY: CURRENT ISSUES

A.E. Lychkova, A.M. Puzikov Prolactin and Serotonin

I.N. Tyurenkov, V.N. Perfilova, N.V. Sadikova Change of Cardiac Ino- and Chronotropic Functions in Stressed Animals with Blockade of Different NO-Synthases

A.A. Chernozub Heart Rate Variability in Untrained Young Men Under Different Power Loading Modes

K.P. Ivanov Modern Medical Problems of Microcirculation and Hypoxic Syndrome

SCIENTIFIC REPORTS

L.M. Ogorodova, O.S. Fedorova, M.M. Fedotova, T.A. Evdokimova Food Sensitization in Children with *Opisthorchis Felinus* Invasion

A.A. Karabinenko, Y.M. Petrenko, G.I. Storozhakov, N.M. Shirohova A New Class of Phenomena Identified During the Analysis of Neural Network of Multidimensional Data from Patients with Inflammatory Lung Diseases

G.M. Elbakidze, A.G. Medentsev, A.G. Elbakidze Influence of Prodigiozan-Dependent Comuton on the Resistance of Liver Mitochondria Against Damage by Protonofor

- А.Н. Куличенко, М.Е. Михайлова, Д.А. Ковалев, С.В. Писаренко, Ю.В. Сирица, Л.В. Ляпустина* Сравнительное изучение фармакокинетики офлоксацина в свободной и нисомальной форме в эксперименте на белых мышах при введении *per os* **80**
- А.Н. Kulichenko, M.E. Mikhailova, D.A. Kovalev, S.V. Pisarenko, U.V. Siriza, L.V. Lyapustina* Comparative Study of Pharmacokinetics of Ofloxacin in a Free and Niosomal Forms in Experiments on White Mice when Administered *Per Os*
- Р.Г. Исмаилов* Регуляция меланогенеза при дисхромии кожи **85**
- Р.Г. Ismaylov* Regulation of Melanogenesis in the Dyschromia of Skin
- И.М. Мадаева, Л.И. Колесникова, Н.В. Протопопова, Н.Л. Сахьянова, О.Н. Бердина* Особенности паттерна сна при беременности **93**
- I.M. Madaeva, L.I. Kolesnikova, N.V. Protopopova, N.L. Sahianova, O.N. Berdina* Features of the Sleep Pattern During Pregnancy

ЮБИЛЕИ, ПОЗДРАВЛЕНИЯ

Сергей Минович Клименко
Рахим Мусаевич Хайтов

ANNIVERSARIES, CONGRATULATIONS

98 *Sergei Minovich Klimenko*
99 *Rakhim Musaevich Khaitov*

Н.Е. Кушлинский¹, М.В. Немцова²

¹ Российский онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва, Российская Федерация

² Российская медицинская академия последиplomного образования, Москва, Российская Федерация

Молекулярно-биологические характеристики злокачественных новообразований

В обзоре представлены основные и дополнительные признаки, отличающие опухолевую клетку от клетки нормальной ткани. Эти признаки включают в себя поддержание постоянной пролиферативной сигнализации, уклонение от действия опухолевых супрессоров, избегание апоптоза, увеличение времени жизни клетки, стимуляцию ангиогенеза, и активацию инвазии и метастазирования. Основу для формирования этих признаков предоставляет нестабильность опухолевого генома. Опухоли — это сложные ткани, которые состоят из различных типов клеток, взаимодействующих как друг с другом, так и с нормальными клетками. Важной характеристикой опухолевой клетки является способность к взаимодействию с клеточным микроокружением и формирование опухолевой стромы.

Ключевые слова: сигнальные пути, нестабильность генома, пролиферация, апоптоз, ангиогенез, инвазия, метастазирование, опухолевое микроокружение, опухолевая строма.

(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 5–15)

На протяжении многих десятилетий и до настоящего времени исследователи пытаются выделить основные характеристики злокачественных новообразований, которые на клеточном и молекулярном уровне отличают опухолевые клетки от нормальных. К настоящему времени сформулированы основные и дополнительные признаки, однако эти характеристики изменяются и дополняются в результате значительного прогресса, достигнутого в последние годы в области экспериментальной онкологии, молекулярной генетики и биохимии.

Среди основных отличительных признаков, определяющих злокачественный рост, можно выделить:

- изменение сигнальной системы клетки для обеспечения постоянной пролиферации;
- снижение или полное отсутствие клеточного ответа на факторы, супрессирующие рост и деление;
- инактивацию апоптоза в клетке;
- приобретение клеткой свойств, увеличивающих время жизни;
- стимулирование неоангиогенеза;
- активацию в клетке инвазивных свойств и метастазирования.

Помимо основных отличий некоторые исследователи выделяют дополнительные признаки, характерные для опухолевого роста:

- генетическую нестабильность;
- изменение энергетического метаболизма для удовлетворения потребности в росте и делении;
- отсутствие иммунного контроля.

Все вышеуказанные признаки являются результатом нестабильности генома опухолевой клетки, которая формируется в течение времени и способствует приобретению этих признаков и их закреплению.

Появление свойств, которые в дальнейшем будут способствовать развитию опухоли, начинается задолго до образования опухолевых клеток, еще на уровне воспалительных и предопухолевых процессов. Нестабильность генома определяется не только генетическими изменениями, к которым можно отнести мутационный процесс, но и эпигенетическими нарушениями, связанными с метилированием ДНК, модификацией гистонов и хроматина, что определяет специфическую регуляцию и экспрессию генов в опухолевом поле.

При этом эпигенетические изменения участвуют в формировании как основных, так и дополнительных

5

N.E. Kushlinskii¹, M.V. Nemtsova²

¹ N.N. Blokhin Russian Cancer Research Center, Moscow, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Russian Federation

Molecular Biological Characteristics of Cancer

The review presents the main and additional features that distinguish tumor cells from normal tissue cells. They include sustained proliferative signaling, evasion from growth suppressors, resisting cell death, enabling replicative immortality, angiogenesis induction, and invasion and metastasis activation. Basis for the formation of these features is provided by tumor genome instability. Tumors are complex tissues that consist of different cell types interacting with each other as well as with normal cells. An important characteristic of tumor cells is the ability to interact with the tumor microenvironment and the formation of tumor stroma.

Key words: signaling pathways, genomic instability, proliferation, apoptosis, angiogenesis, invasion, metastasis, tumor microenvironment, tumor stroma.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 5–15)

отличительных признаков, определяющих злокачественный рост [1]. Однако функционально значимые эпигенетические изменения присущи не только опухолевым клеткам, но и клеткам стромы, связанным с опухолью. В настоящее время недостаточно четко определено место эпигенетических механизмов в приобретении отличительных признаков. Неизвестно, приведет их участие к существенным изменениям способов, благодаря которым формируются отличительные характеристики, или просто добавит дополнительную деталь в схему регуляции уже известных механизмов контроля.

Дополнительным признаком злокачественного новообразования, отличающим его от нормальной ткани, является способность формировать взаимодействие с «микрочуждением опухоли». Опухоли — сложные ткани, состоящие из различных типов клеток, взаимодействующих как друг с другом, так и с нормальными клетками, и формирующие опухольассоциированную строму. Клетки стромы являются активными участниками канцерогенеза и вносят свой вклад в формирование и проявление отличительных признаков новообразования. Необходимо отметить, что для опухоли характерны не только эпителиально-стромальные клеточные взаимодействия, но и взаимодействия между клетками с различными генетическими свойствами, которые образуют внутриопухолевые клоны. Такого рода взаимодействия также способствуют возникновению и закреплению признаков злокачественности. Следовательно, опухоль больше не воспринимается как простое скопление злокачественных клеток, при этом важную роль в канцерогенезе играет вклад микрочуждения опухоли и клonalная гетерогенность.

В то же время некоторые исследователи считают, что основополагающими можно считать только первые 6 из указанных отличительных признаков опухоли, и эти признаки могут стать основой развития неопластических заболеваний [2].

Изменение сигнальной системы опухолевой клетки для обеспечения ее постоянной пролиферации

Фундаментальной чертой опухолевых клеток является их способность поддерживать хроническую пролиферацию. В нормальных тканях процессы роста и клеточный цикл тщательно контролируются, что обеспечивает необходимое число клеток и соответствующую архитектуру ткани для обеспечения ее функции. В нормальной клетке стимуляция к делению осуществляется факторами роста, которые связываются с рецептором на поверхности клетки, имеющим внутриклеточный домен с тирозинкиназной активностью. Активация тирозинкиназного домена приводит к активации внутриклеточных путей, которые регулируют клеточный цикл, клеточный рост и другие биологические свойства клетки, например энергетический метаболизм.

В опухоли указанная сигнальная система нарушена, и стимуляция роста и деления клеток происходит при отсутствии внешних стимулов: опухоль сама становится «хозяйкой своей судьбы». При этом стимулирование клеточного деления в опухолевых клетках может осуществляться различными путями.

Во-первых, опухолевые клетки могут сами вырабатывать факторы роста в результате амплификации или мутации в генах, кодирующих ростовые факторы. Также клетки опухоли могут сами посылать сигнал, стимулируя нормальные клетки опухольассоциированной стромы

к выработке различных необходимых для них факторов роста. Увеличение концентрации факторов роста приводит к стимуляции пролиферации.

Во-вторых, к изменению сигнальной системы в опухолевых клетках может привести увеличение содержания рецепторных белков, расположенных на их поверхности, что приводит такие клетки в гиперчувствительное состояние по отношению к фактору роста.

В-третьих, аналогичные последствия могут быть вызваны мутациями или перестройками в генах, кодирующих рецепторы факторов роста, что приведет к изменениям в молекуле рецептора. Мутантный рецептор может иметь постоянно активированный тирозинкиназный домен или находиться в комплексе с другими молекулами, что индуцирует либо запуск системы вне зависимости от наличия ростового фактора, либо ее запуск при взаимодействии с неспецифическим лигандом.

Кроме того, активация компонентов сигнальной системы опухолевой клетки может происходить независимо от факторов роста и их рецепторов на нижестоящих уровнях регуляции, исключая необходимость в их стимуляции путем образования комплекса лиганд–рецептор.

В последние годы исследования генома опухоли клетки показали, что соматические мутации вносят свой вклад в активацию сигнальных систем с участием рецепторов фактора роста. Известно, что примерно 40% меланом человека связано с активирующими мутациями гена *B-RAF*, что приводит к нарушению структуры его белка, в результате чего регуляция осуществляется по пути с участием *RAF* и направлена на активацию MAP-киназного каскада [3]. В некоторых типах опухолей обнаружены мутации в гене каталитической субъединицы изоформы фосфоинозитид-3-киназы (PI3-киназа), которые приводят к гиперактивации сигнального каскада с участием PI3-киназы [4].

Известно, что мутации и перестройки различных генов приводят к активации сигнальных систем как на уровне факторов роста и их рецепторов, так и на нижестоящем уровне передачи сигнала по каскаду белков в клеточное ядро. В качестве примера можно рассмотреть регуляцию сигнальной системы с участием RAS-онкобелка. Молекула RAS относится к малым GTP-зависимым молекулам, которые активируются при образовании комплекса с молекулой GTP и участвуют в передаче сигнала. Онкогенный эффект обусловлен тем, что стандартные мутации гена *RAS* изменяют структуру его белка, не допуская диссоциации этого активного комплекса. Таким образом, независимо от участия лиганда и рецептора происходит активация сигнальной системы на нижестоящем уровне.

Многие исследователи показали важность систем отрицательной обратной связи, которые направлены на ослабление действия различных сигналов. Дефекты в механизмах отрицательной обратной связи способны повышать пролиферативную активность сигналов. Пример связан с системой активации mTOR-киназы, которая выполняет важнейшую функцию, обеспечивая необходимое повышение интенсивности синтеза белка при получении клеткой митогенного или антиапоптотического сигнала. В некоторых культурах опухолевых клеток активация mTOR-киназы приводит к ингибированию сигнала PI3-киназы. Таким образом, при фармакологическом ингибировании mTOR-киназы, например, рапамицином нарушается отрицательная обратная связь, что приводит к увеличению активности PI3-киназы и, следовательно, к снижению антипролиферативного эффекта ингибирования mTOR-киназы [5].

Аналогичные нарушения механизмов отрицательной обратной связи имеются во многих узлах сигнальной системы пролиферации. Такие нарушения широко распространены среди опухолевых клеток человека и служат важным средством, с помощью которого клетки могут получать пролиферативную независимость. Кроме того, изменение и/или нарушение этапов, ослабляющих сигнальные системы, может способствовать развитию адаптивной резистентности по отношению к лекарствам, мишенями которых являются митогенные сигналы.

Уже на ранних этапах исследований действия онкогенов было показано, что чем выше уровень их экспрессии и чем больше в клетке сигнальных белков, тем интенсивнее пролиферация клеток и, соответственно, рост опухоли. Однако в действительности не все так однозначно. Существует мнение, что высокое содержание сигнальных онкобелков RAS, MYC и RAF может вызывать противоположный ответ клеток, специфически индуцируя их старение и/или апоптоз. Культура клеток с высокой степенью экспрессии онкобелка RAS может превращаться в непролиферативную, но жизнеспособную культуру с физиологическими признаками старения. И наоборот: клетки с низким уровнем экспрессии этого белка могут избежать физиологического старения и пролиферировать [6].

Такие парадоксальные эффекты, вероятно, отражают механизмы внутренней защиты, которые необходимы для уничтожения клеток, чрезмерно экспрессирующих регуляторные сигналы. Следовательно, интенсивность онкогенных сигналов в опухолевых клетках является компромиссом между максимальной митогенной стимуляцией и возможностью избежать антипролиферативной защиты. С другой стороны, некоторые клетки могут адаптироваться к высоким уровням онкогенных сигналов, блокируя индуцированные механизмы старения и апоптоза.

Уклонение опухолевой клетки от супрессии опухолевого роста

Помимо специфической возможности индуцировать и поддерживать действие сигналов, стимулирующих рост, в опухолевых клетках существуют механизмы, которые позволяют игнорировать системы подавления клеточной пролиферации, многие из которых зависят от генов-супрессоров опухоли. Гены-супрессоры опухолевого роста, ограничивающие рост и пролиферацию, обнаружены в результате стойкой инактивации их функции в различных опухолях человека и животных. Два основных опухолевых супрессора кодируют RB1- и TP53-белки. Они являются центральными регуляторами клеточного контроля и действуют в пределах двух ключевых систем клеточного цикла, которые связаны с активацией пролиферации клетки и, наоборот, активацией программы физиологического старения и апоптоза.

Белок RB интегрирует сигналы из вне- и внутриклеточных источников и блокирует цикл роста и деления клеток [7]. Следовательно, в клетках с дефектами функции RB отсутствует критический «сторож» прогрессии клеточного цикла, в результате чего наблюдается устойчивая клеточная пролиферация. Ген TP53 контролирует сигналы, поступающие в клетку при стрессовых ситуациях; если уровень повреждения генома чрезмерный, или уровни сигналов роста, глюкозы или кислорода ниже оптимальных, то TP53 блокирует клеточный цикл до тех пор, пока указанные показатели внутри клетки не нормализу-

ются. При значительных или необратимых нарушениях внутриклеточных систем TP53 может запускать апоптоз.

Оба супрессора пролиферации (TP53 и RB1) по отдельности очень важны для регуляции клеточной пролиферации, однако на различных клеточных линиях показано, что каждый из них является частью большой сети, в которую они объединены для осуществления своей функции. Например, мыши, у которых имелись клетки, лишённые гена *Rb-1*, неожиданно оказались свободными от пролиферативных аномалий, несмотря на то, что потеря функции *Rb-1* должна была способствовать запуску клеточного деления у этих клеток и их потомков. Более того, некоторые клоны клеток у модельных мышей (*Rb-*), которые должны были прогрессировать в неоплазию, участвовали в морфогенезе нормальных тканей в организме. В более поздние периоды жизни у таких животных была обнаружена единственная неоплазия при развитии опухоли гипофиза [8]. Аналогично мыши, нокаутные по гену *Trp53*, развивались нормально: у них в основном имел место правильный клеточный и тканевый гомеостаз, однако в дальнейшем развились аномалии в виде лейкемии и саркомы [9]. Оба примера указывают на наличие дополнительных механизмов, которые ограничивают репликацию клеток, лишённых ключевых супрессоров.

Многочисленные исследования показали, что в культуре с высокой плотностью нормальных клеток между ними работают контактные механизмы подавления клеточной пролиферации, что приводит к ограничению клеточного роста. Важно отметить, что это т.н. контактное ингибирование наблюдается в культуре клеток различного типа, и этот механизм действует *in vitro*, а *in vivo* обеспечивает нормальный тканевый гомеостаз и исчезает при развитии опухоли. Только в настоящее время становятся понятными детали механизма контактного ингибирования.

Один механизм связан с действием продукта гена супрессора опухолей *NF2*; его отсутствие ассоциировано с развитием нейрофибром у человека. Продукт гена *NF2* — белок мерлин, локализованный в цитоплазме, — регулирует контактное ингибирование посредством связывания адгезивных молекул поверхности клетки, например E-кадгерина, с трансмембранным доменом EGFR. В присутствии мерлина усиливается кадхеринопосредованное взаимодействие между клетками, а также он ограничивает действие митогенного сигнала EGF [10].

Второй механизм контактного ингибирования связан с эпителиальным полярным белком LKB1, который способствует сохранению эпителиальной структуры и поддерживает целостность ткани. При ингибировании экспрессии гена *LKB1*, который является геном-супрессором опухолевого роста, целостность эпителиального слоя нарушается, а разрозненные эпителиальные клетки становятся мишенями *Myc*-индуцированной трансформации. Таким образом, экспрессия LKB1 может снижать митогенный эффект онкогена *Myc* [11]. Еще предстоит выяснить, насколько часто эти два механизма сочетаются при канцерогенезе. Вероятно, будут открыты и другие механизмы контактного ингибирования клеточной пролиферации. Очевидно, что механизмы, подобные этим, позволяют клеткам создавать и поддерживать сложную архитектуру тканей.

Противостояние опухолевой клетки клеточной смерти

Результаты исследований, проведенных в последние десятилетия, позволяют утверждать, что программ-

руемая клеточная смерть служит естественным барьером для развития опухоли. В результате изучения сигнальных систем, контролирующих апоптоз, показано, что он запускается в ответ на различные физиологические стрессы, которые клетки испытывают при канцерогенезе или в результате противоопухолевой терапии. Самыми заметными среди факторов, индуцирующих апоптоз, являются нарушение баланса при повышении интенсивности онкогенных сигналов и повреждение ДНК, обусловленное гиперпролиферацией. Показано также, что апоптоз ослабляется в опухолях высокого уровня злокачественности и при резистентности к терапии [12].

Регуляция апоптоза имеет 2 уровня: верхний уровень включает непосредственно регуляторы апоптоза, а нижний — эффекторные компоненты [12]. Регуляторы, в свою очередь, можно разделить на 2 большие группы. Одна группа, внешняя, осуществляет прием и передачу внеклеточных сигналов, индуцирующих апоптоз (например, Fas-лиганд / Fas-рецептор). Вторая группа, внутренняя, распознает и интегрирует сигналы внутриклеточного происхождения. В результате действия этих групп каспазы 8 и 9 запускают каскад протеолиза с вовлечением эффекторных каспаз, участие которых необходимо на конечном этапе апоптоза. Конечные продукты распада клетки поглощаются соседними и специальными фагоцитарными клетками.

Механизм, запускающий апоптоз (триггерный механизм), который передает сигналы между регуляторами и эффекторами, контролируется равновесием между про- и антиапоптотическими регуляторными белками, составляющими семейство Bcl-2 [12]. Белок Bcl-2 и родственные ему белки (Bcl-xL, Bcl-w, Mcl-1, A1) являются ингибиторами апоптоза и подавляют активность двух проапоптотических белков Bax и Bak, непосредственно связываясь с ними. Белки Bax и Bak встроены в наружную мембрану митохондрий.

Диссоциируя из комплекса с антиапоптотическими белками, свободные Bax и Bak нарушают целостность наружных мембран митохондрий. Это приводит к высвобождению из мембраны проапоптотических сигнальных белков, наиболее важным из которых является цитохром С. Свободный цитохром С активирует каспазы, которые действуют специфически как пептидазы, что приводит к множеству внутриклеточных изменений, связанных с программой апоптоза.

В настоящее время условия, при которых запускаются программы апоптоза, достаточно хорошо охарактеризованы, однако некоторые клеточные элементы, которые играют ключевую роль в развитии опухолей, остаются неидентифицированными [12]. Наиболее важными можно считать повреждения ДНК, что связано с участием гена-супрессора опухоли *TP53* [13]. *TP53* индуцирует апоптоз, стимулируя экспрессию белков Noxa и Puma в ответ на определенный уровень повреждений ДНК и хромосомных аномалий. С другой стороны, недостаточное содержание факторов выживания, например интерлейкина (IL) 3 в лимфоцитах или инсулиноподобных факторов (ИФР-1 и -2) в эпителиальных клетках, может вызвать апоптоз только с участием белка Bcl-2. Однако имеются и другие условия, которые приводят к смерти клетки. Они связаны с гиперактивацией системы некоторыми онкобелками, такими как Myc, который запускает апоптоз, взаимодействуя с белком Bim или другими Bcl-2-белками, если их действие не уравновешивается антиапоптотическими факторами [13].

Опухолевые клетки используют разные возможности для ограничения или обхода апоптоза. Наиболее часто

ингибируется функция *TP53*, что устраняет этот критический фактор из схемы индуцированного апоптоза. Кроме того, опухоли могут увеличивать уровень экспрессии антиапоптотических регуляторов (Bcl-2, Bcl-xL) и сигналов выживания (ИФР-1 и -2), снижать концентрацию проапоптотических факторов (Bax, Bim, Puma) или даже ингибировать апоптоз, который стимулируется внешним лигандом.

Результаты исследований апоптотического аппарата, а также программ и стратегий, используемых раковыми клетками с целью избежать апоптоза, были по достоинству оценены в течение последнего десятилетия. Однако наиболее значимые успехи в исследовании этой проблемы достигнуты после изучения других форм клеточной смерти, которые расширили понятие «программированной клеточной смерти». Одной из таких форм принято считать аутофагию, которая, как и апоптоз, в норме работает на базальном уровне в клетках. Аутофагия может быть индуцирована в определенных условиях клеточного стресса, наиболее очевидным из которых является дефицит питательных веществ [14]. К другой форме клеточной гибели относят некроз. Хотя некроз по многим параметрам рассматривали как смерть организма, т.е. как форму общего истощения и разрушения, в настоящее время понятие концептуально изменилось: в некоторых случаях клеточная смерть в результате некроза, несомненно, находится под генетическим контролем, а не является случайным и неуправляемым процессом [15].

Приобретение опухолевой клеткой свойств, увеличивающих время жизни

К концу XX в. стало известно, что опухолевыми клетками необходим неограниченный потенциал репликации для получения адекватного числа клеток, формирующих макроскопические опухоли. Это свойство резко отличается от такового для нормальных клеток в организме, которые имеют ограничения на число циклов деления. При размножении клеток в культуре циклы деления в первую очередь приводят к индукции физиологического старения, а клетки, успешно обошедшие это ограничение, переходят в фазу кризиса, в которой большая часть популяции погибает. В редких случаях клетки, пережившие состояние кризиса, приобретают способность к неограниченной репликации. Такие клетки способны пролиферировать в культуре без признаков физиологического старения.

Во многих исследованиях показано, что теломеры являются ДНК-структурами, которые защищают концы хромосом. Эти структуры связаны со способностью клетки к неограниченной репликации [16]. Теломеры состоят из tandemно повторяющихся последовательностей (-TTTAGGG-) × n и с каждым делением постепенно укорачиваются в обычных клетках, в результате чего теряется способность защищать концы хромосом от сращения друг с другом. Такое сращивание создает нестабильные перестроенные хромосомы, в результате происходит дестабилизация кариотипа, которая угрожает жизнеспособности клетки. Соответственно, длина теломер в клетке определяет число поколений ее потомства, прежде чем произойдет разрушение теломер, и будут утрачены их защитные функции.

Теломераза — специфическая ДНК-полимераза, которая добавляет теломерные повторы на конце теломерной ДНК. Функция этого белка почти отсутствует в обычных клетках, но его экспрессия повышена в подавляющем

большинстве (примерно в 90%) «бессмертных» клеток, включая опухолевые клетки человека.

Теломераза удлинняет теломерную ДНК, чем противо­стоит разрушению теломер. Наличие теломеразной актив­ности в клетках культуры, специально сконструиро­ванных для изучения экспрессии этого фермента, связано с устойчивостью к физиологическому старению, и наобо­рот: инактивация теломеразы — к укорочению теломер и активации антипролиферативной функции.

Физиологическое старение и апоптоз обуславливают противоопухолевую защиту клеток. Такая программа ге­нетически заложена в клетке, и она работает, чтобы пре­пятствовать росту неопластических клонов.

Возможное бессмертие клеток, которые формируют опухоль, объясняется их способностью поддерживать определенную длину теломерной ДНК, которая позво­ляет избегать запуск физиологического старения или апоптоза. Сокращение длины теломер рассматривают как часовой механизм, который ограничивает реплика­тивный потенциал нормальных клеток и, следовательно, нарушается в клетках опухоли.

В настоящее время имеется свидетельство того, что клоны молодых предопухолевых клеток часто сталкива­ются с кризисом, вызванным потерей теломер, относи­тельно рано ввиду их неспособности экспрессировать необходимое количество теломеразы. Экспериментально показано значительное укорачивание теломер, а также слияние хромосомных концов в предопухолевых обра­зованиях [17]. Можно предположить, что такие клетки прошли через большое число нормальных делений с уко­рачиванием теломер. Следовательно, развитие некоторых неоплазий человека можно предотвратить, индуцируя сокращение теломер.

Важность временного недостатка теломерных после­довательностей показана также при сравнительном ана­лизе пренеопластических и злокачественных поражений молочной железы человека [18]. В предраковых образо­ваниях не отмечено заметной экспрессии теломеразы, но обнаружены укорачивания теломер и хромосомные нарушения. Наоборот, в карциномах обнаружены повы­шенная экспрессия теломеразы, реконструкция длины теломер и нарушения кариотипа, которые, по-видимому, образовывались до появления повышенной теломеразной активности. Эти факты демонстрируют, что задержка те­ломеразной активности способствует появлению мутаций в опухолевых клетках, в то время как ее активация стаби­лизирует мутантный геном и способствует неограничен­ной репликации, которая необходима клеткам опухоли для возникновения клинически определяемых новооб­разований.

При исследовании теломеразы предполагали, что ос­новная функция фермента состоит в удлинении и со­хранении теломерной ДНК. Однако в последние годы стало ясно, что теломераза необходима для пролифера­ции клетки. При исследованиях на мышах и в культурах клеток обнаружена дополнительная роль теломеразы, в частности ее белковой субъединицы TERT. Белковая субъединица теломеразы TERT может быть кофактором комплекса β-катенин / фактор транскрипции LEF, уси­ливая сигналы Wnt-пути [19]. Теломераза независимо от влияния на теломеры повышает пролиферацию кле­ток и/или устойчивость к апоптозу, участвует в исправ­лении повреждений ДНК и в реакции РНК-зависимой РНК-полимеразы [20]. В дополнение TERT может связываться с хроматином на множественных сайтах, расположенных по всей длине хромосом, а не только с теломерами [11].

Индукция ангиогенеза опухолевой клеткой

Опухолям, как и нормальным тканям, для жизни не­обходимы питательные вещества и кислород, а также уда­ление продуктов метаболизма и углекислого газа. Этим потребностям отвечает неоваскуляризация — образование сети новых кровеносных сосудов в опухоли. В эмбрио­генезе развитие сосудистой сети связано с образованием новых эндотелиальных клеток, их агрегацией в трубочки (васкулогенез) и образованием новых сосудов (ангиогенез). После такого морфогенеза нормальная сосудистая сеть приходит к состоянию покоя.

Во взрослом организме ангиогенез имеет место только временно, как часть физиологических процессов, напри­мер при заживлении ран или женском репродуктивном цикле. Напротив, при прогрессии опухоли ангиогенез всегда активирован, стимулируя к образованию новых со­судов, что помогает поддерживать рост новообразования.

Убедительно показано, что ангиогенные регуляторы являются сигнальными белками, которые связываются с рецепторами на поверхности эндотелиальных клеток сосудов. Хорошо известны индукторы и ингибиторы ангиогенеза, такие как эндотелиальный фактор роста со­судов (VEGF-A) и тромбоспондин (TSP-1).

Ген *VEGF-A* кодирует лиганды, которые регулиру­ют рост новых кровеносных сосудов в эмбриональном и постнатальном развитии, а у взрослых — гомеостатиче­скую выживаемость эндотелиальных клеток при физио­логических и патологических состояниях. Сигнальная молекула VEGF взаимодействует с тремя тирозинкиназ­ными рецепторами (VEGFR-1, 2, 3), и это взаимодей­ствие регулируется на многих уровнях. Экспрессия гена *VEGF-A* может повышаться как при гипоксии, так и при действии онкогенов [21]. Кроме того, VEGF-лиганды могут существовать в латентных формах во внеклеточном матриксе, которые активируются под действием протеаз внеклеточного матрикса, например матричной металло­протеиназы (MMP) 9 [22]. Другие проангиогенные мо­лекулы, члены семейства факторов роста фибробластов (FGF), связаны с поддержкой опухолевого ангиогенеза, если их экспрессия хронически повышена [23].

Сосуды внутри опухолей хронически активированы, но процессы ангиогенеза в опухолях отличны от таковых в нормальных тканях. При опухолевой неоваскуляри­зации отмечается ранний рост капилляров, изогнутость и избыточное ветвление сосудов, рыхлость, их деформа­ция и увеличение, неустойчивый кровоток, микрокрово­течения, необычный уровень пролиферации эндотели­альных клеток и их апоптоз [24].

При многоступенчатом развитии инвазивного рака ангиогенез индуцируется рано как у модельных живот­ных, так и у людей. При гистологическом анализе пред­опухолевых неинвазивных повреждений, включая диспла­зии, а также при карциномах *in situ* обнаруживают раннее нарушение ангиогенеза [25].

При активации ангиогенеза в опухолях характер не­оваскуляризации может быть различным. В некоторых опухолях (к примеру, в протоковых аденокарциномах поджелудочной железы) новых сосудов образуется мало, в них много стромальных участков, в которых отсутству­ют сосуды, а другие опухоли (в частности, опухоли почек) высокоангиогенны, и следовательно, в них развита плот­ная сосудистая сеть [26].

Большинство регуляторов ангиогенеза — это белки, которые образуются в результате протеолитического рас­щепления других структурных белков, не относящихся к ангиогенезу. Некоторые из эндогенных ингибиторов

ангиогенеза могут быть обнаружены в крови нормальных людей и животных. Удаление генов, кодирующих некоторые эндогенные ингибиторы ангиогенеза, не оказывает физиологического влияния на соответствующих модельных животных, однако, как следствие, усиливает рост аутогенных и имплантированных опухолей [27]. Наоборот, если уровень циркулирующих эндогенных ингибиторов у трансгенных мышей увеличивается, рост опухоли замедляется [27].

В настоящее время очевидно, что почти весь спектр клеток, источником которых является костный мозг, играет решающую роль в развитии патологического ангиогенеза [28]. Клетки иммунной системы, макрофаги, нейтрофилы, тучные клетки и предшественники миелоидных клеток инфильтрируют предопухолевые образования и прогрессирующие опухоли и располагаются на границе этих поражений. Окружающие опухоль воспалительные клетки запускают ангиогенез в тканях, ранее находившихся в покое, а также поддерживают постоянный ангиогенез, связанный с ростом опухоли, чем благоприятствуют локальной инвазии. Кроме того, они могут способствовать защите сосудистой сети от действия лекарственных средств, мишенью которых являются эндотелиальные сигнальные клетки [29].

Сосудистая сеть опухолей испытывает значительный недостаток в перицитах, которые выполняют важную механическую и физиологическую роль для эндотелиальных клеток в сосудистой сети нормальных тканей.

Активация инвазии и метастазирования опухолевой клетки

До недавнего времени механизмы инвазии и метастазирования понимали недостаточно полно. Было ясно, что карциномы прогрессируют в патологически высокую степень злокачественности, что отражается в локальной инвазии и отдаленных метастазах, а опухолевые клетки со временем обычно не только изменяют свою форму, но и теряют связь с другими клетками и внеклеточным матриксом. Такие изменения видны при потере клетками опухоли E-кадгерина — ключевой молекулы клеточной адгезии. При помощи E-кадгерина формируются плотные контакты между эпителиальными клетками, что обуславливает образование слоев и неподвижность клеток внутри этих слоев. Показано, что повышенная экспрессия E-кадгерина является антагонистом инвазии и метастазирования, в то время как снижение его экспрессии способствует приобретению этих фенотипов. Часто наблюдаемое подавление активности E-кадгерина и его случайная инактивация в карциномах человека убедительно доказывают роль E-кадгерина как ключевого супрессора инвазии и метастазирования [30].

Кроме того, в высокоагрессивных опухолях изменяется экспрессия генов, кодирующих молекулы адгезии между клетками, а также между клетками и матриксом. Экспрессия адгезионных белков, обеспечивающих плотный контакт между эпителиальными клетками, значительно снижается, в то же время уровень молекул адгезии, стимулирующих миграцию клеток в эмбриогенезе и при воспалении, напротив, повышается. При снижении экспрессии E-кадгерина повышается уровень N-кадгерина, который в норме экспрессируется в мигрирующих нейронах и мезенхимальных клетках при органогенезе.

Многоступенчатый процесс инвазии и метастазирования часто называют каскадом инвазии / метастазирования, и его можно представить как последовательность отдельных этапов. Сначала происходят клеточно-биоло-

гические изменения, связанные с локальной инвазией. Затем следует инвазия опухолевых клеток в соседние кровеносные и лимфатические сосуды. После переноса клеток лимфатической и кровеносной системой в отдаленные районы происходит выход опухолевых клеток из сосудов в паренхиму удаленных тканей (экстравазация) и формирование микрометастазов. И, наконец, далее происходит рост микрометастазов в макроскопические опухоли, так называемая стадия колонизации.

За последнее десятилетие достигнут значительный прогресс в понимании сложных механизмов инвазии и метастазирования опухолей, идентифицированы регулирующие их гены. Это стало возможным благодаря разработке и внедрению современных методов молекулярно-биологических исследований и улучшению экспериментальных моделей.

Основным регулятором инвазии и метастазирования сегодня считается механизм эпителиально-мезенхимального перехода (ЭМП). Исследования механизма ЭМП тесно связаны с изучением трансформированных эпителиальных клеток, которые приобретают способность к инвазии, резистентность к апоптозу и диссеминации [31]. Наряду с участием ЭМП в процессах, связанных с разными стадиями эмбрионального морфогенеза и заживлением ран, которые необходимы для нормального функционирования организма, клетки могут приобретать злокачественные свойства, способствующие инвазии и метастазированию. Механизм ЭМП может активироваться как кратковременно, так и на продолжительное время в зависимости от степени инвазии и метастазирования раковых клеток.

ЭМП и родственные процессы миграции при эмбриогенезе регулирует ряд совместно действующих транскрипционных факторов, в числе которых Snail, Slug, Twist и Zeb1/2. Эти транскрипционные регуляторы экспрессируются в различных типах злокачественных опухолей. В экспериментальных моделях формирования карциномы показана их значимость для механизма инвазии, а при метастазах обнаружена эктопическая гиперэкспрессия некоторых из них [32]. Эти транскрипционные факторы вызывают ряд биологических изменений, к которым относится потеря адгезионных контактов, изменение морфологической формы клетки из полигональной / эпителиальной в веретенообразную / фибробластическую форму, экспрессия ферментов, разрушающих внеклеточный матрикс, повышение подвижности клетки и резистентность к апоптозу. Все эти процессы характерны для опухолевой инвазии и метастазирования. Некоторые из этих транскрипционных факторов могут прямо подавлять экспрессию гена E-кадгерина, тем самым лишая неопластические эпителиальные клетки подвижности и инвазивности [33].

Также показано, что ослабленное взаимодействие опухолевых клеток со стромальными клетками может индуцировать экспрессию фенотипов злокачественных клеток, которые, как известно, регулируются этими (одним или более) транскрипционными факторами [34]. Опухолевые клетки, расположенные на инвазивных краях карцином, могут в большей степени подвергаться действию механизма ЭМП. Вероятно, эти клетки испытывают влияние микроокружения, которое отличается от стимулов, действующих на клетки, расположенные в глубине новообразований.

Становится все более очевидным, что взаимосвязь между злокачественными клетками и клетками стромы обуславливает приобретение способности к инвазивному росту и метастазированию [28]. Сигнальный механизм

может действовать как на одни, так и на другие клетки и изменять их специфические свойства. Например, мезенхимальные стволовые клетки, которые присутствуют в строме опухоли, могут секретировать CCL5/RANTES в ответ на сигналы клеток опухоли, а CCL5, в свою очередь, действует на раковые клетки, стимулируя инвазивное поведение последних [34].

Макрофаги периферии опухоли могут способствовать локальной инвазии, активируя MMP и цистеин-катепсиновые протеазы — ферменты, разрушающие внеклеточный матрикс [34]. На экспериментальной модели метастазирующего рака молочной железы показано, что ассоциированные с опухолью макрофаги обеспечивают злокачественные клетки молочной железы эпидермальным фактором роста (EGF), а те, в свою очередь, стимулируют макрофаги. Такое взаимодействие опухолевых клеток и макрофагов приводит к попаданию клеток опухоли в циркулирующую систему и их последующей метастатической диссеминации [28].

До сих пор неизвестно, нужны ли дополнительные мутации в клетках опухоли для того, чтобы преодолеть большинство стадий каскада инвазии-метастазирования, или же для этого достаточно тех мутаций, которые были необходимы для образования первичной опухоли.

Пластичность программы инвазивного роста

Клетки, диссеминированные из первичной опухоли в отдаленную ткань, больше не получают поддержку от активированной стромы. При отсутствии сигналов, индуцируемых инвазией / ЭМП на новом месте, клетки карциномы могут переходить в неинвазивное состояние. Таким образом, клетки карциномы, которые подверглись воздействию ЭМП в начальной стадии инвазии и метастатической диссеминации, могут подвергаться обратному процессу, который назван мезенхимально-эпителиальным переходом. Такая пластичность приводит к образованию новых колоний опухолевых клеток, имеющих гистопатологические свойства, сходные с клетками первичной опухоли, которые не подвергались действию ЭМП [35]. Возможно, представление о том, что раковые клетки обычно проходят через все стадии ЭМП, является упрощенным. Напротив, во многих случаях раковые клетки могут проходить стадии механизма ЭМП только частично, тем самым приобретая новые мезенхимальные свойства, хотя полностью не исчезают и эпителиальные черты.

Следует отметить, что механизм ЭМП регулируется только определенным типом инвазии, который назван мезенхимальным. Однако существуют и другие типы инвазии [36]. Среди них, в частности, амeboидная инвазия [37], при которой у отдельных раковых клеток наблюдается морфологическая пластичность, позволяющая им распространяться в экстрацеллюлярном матриксе. В настоящее время механизмы этих форм инвазии раковых клеток до конца не изучены.

Кроме того, в качестве еще одного механизма инвазии раковых клеток обсуждают способность клеток воспаления, кумулирующих на границах опухолей, вырабатывать факторы, разрушающие экстрацеллюлярный матрикс и индуцирующие инвазивный рост [22, 28].

Сложность процессов метастатической колонизации

Процесс метастазирования можно разделить на 2 основных фазы: диссеминация раковых клеток от пер-

вичной опухоли к отдаленным тканям и адаптация этих клеток к микроокружению чужой ткани, результатом чего является рост микрометастазов в макроскопические опухоли.

Многие этапы диссеминации, по-видимому, являются частью механизмов ЭМП и сходным образом действующих механизмов миграции. Колонизация клеток не всегда связана с диссеминацией, о чем свидетельствует наличие у пациентов множественных микрометастазов, которые успешно диссеминированы, но никогда не прогрессируют в макроскопические метастатические опухоли [38].

Показано, что при некоторых типах рака первичная опухоль может постоянно секретировать сдерживающие факторы супрессии, которые переводят такие микрометастазы в состояние покоя. Для таких опухолей клинически показан взрывной рост метастазов вскоре после резекции первичной опухоли. Однако в других случаях, таких как рак молочной железы и меланома, макроскопические метастазы могут активизироваться через десятилетия после хирургического удаления или фармакологического разрушения первичной опухоли. Рост таких метастатических опухолей, очевидно, обусловлен находящимися в покое метастазами, которые становятся активными после преодоления множества проблем, связанных с колонизацией ткани.

Из приведенных биологических данных можно заключить, что у микрометастазов могут отсутствовать специфические признаки, которые необходимы для интенсивного роста, как и способность к активации ангиогенеза. Неспособность определенных экспериментально созданных «молчащих» микрометастазов образовывать макроскопические опухоли объясняют их неспособностью активировать опухолевый ангиогенез [39]. Недавно было установлено, что голодание может стимулировать интенсивную аутофагию, которая приводит к тому, что раковые клетки сжимаются и переходят в состояние обратимого покоя. Если изменяется тканевое микроокружение, и повышается доступ питательных веществ, то такие клетки могут выходить из этого состояния и возобновлять активный рост и пролиферацию [40]. Другие механизмы микрометастатического состояния покоя могут быть связаны с антиростовыми сигналами, которые индуцируются внеклеточным матриксом нормальных тканей и под супрессорным влиянием иммунной системы [39].

Большинство диссеминированных раковых клеток, вероятно, плохо приспособляются к микроокружению тканей, в которые они попали. Следовательно, каждому типу диссеминированных опухолевых клеток необходимо решать проблемы ассимиляции в микроокружении чужеродной ткани. Для такой адаптации необходимы различные программы колонизации, и каждая зависит от типа диссеминированной клетки и природы микроокружения.

Метастатическую диссеминацию долго представляли как последнюю стадию многоступенчатой прогрессии первичной опухоли. Однако недавние исследования человека и модельных животных показали, что опухолевые клетки могут диссеминировать на ранних стадиях [41]. Микрометастазы также могут распространяться из первичной опухоли, которая еще не является инвазивной, но уже лишена целостности сосудов. Хотя раковые клетки могут свободно диссеминировать при начальных стадиях опухолевого процесса и обсеменять костный мозг и другие ткани, их способность к колонизации этих тканей и развитию в макрометастазы остается недоказанной.

Вне зависимости от времени диссеминации остается неясным, на каком этапе у опухолевых клеток развива-

ется способность к колонизации чужеродных тканей для превращения их в макроскопические опухоли. Эта способность может возникать как результат специфического пути развития опухоли, при которой клетки первичной опухоли, входящие в кровоток, случайно приобретают способность колонизировать участки удаленной ткани [38], или же способность к колонизации специфичных тканей развивается в ответ на селективное влияние на уже диссеминированные раковые клетки, чтобы приспособить их к росту в микроокружении чужеродной ткани. Одна из гипотез, активно обсуждаемых в последнее время, — это гипотеза «метастатической ниши». Предполагается, что часть диссеминированных клеток, попадая в другую ткань, способна сформировать метастатическую нишу, которая затем послужит источником колонизации. Диссеминированная опухолевая клетка, попадая в чужеродную ткань, изменяет свое микроокружение, приспособляя его к потребностям будущей опухоли, перестраивая белковый спектр и формируя стромальные клеточные взаимодействия. Вероятно, не все опухолевые клетки имеют способность к формированию подобной ниши, поэтому не все диссеминированные клетки способны к образованию макрометастазов [42].

Показано, что клетки в метастатических колониях могут диссеминировать далее не только в новые участки тела, но и возвращаться в первичные опухоли. Следовательно, программы тканевой колонизации, которые имеют место между клетками внутри первичной опухоли, могут также инициировать возврат диссеминированных клеток. Такое повторное обсеменение показано для метастазов рака поджелудочной железы человека [43].

Из этого процесса самообсеменения возникает соображение, что поддерживающая строма первичной опухоли, которая способствует приобретению злокачественных черт, может сама обеспечить соответствующее место в ткани для обратного обсеменения и колонизации циркулирующими раковыми клетками из метастатических очагов поражения.

Следовательно, для колонизации почти наверняка требуется образование соответствующего микроокружения опухоли, которое состоит из важных поддерживающих стромальных клеток. По этой причине процесс колонизации, вероятно, охватывает большое число клеточно-биологических процессов, которые все вместе значительно более сложны и разнообразны, чем предыдущие стадии метастатической диссеминации.

Дополнительные характеристики опухолевой клетки и уточняющие отличительные признаки опухолей

Опухоли приобретают функциональные особенности, которые позволяют злокачественным клеткам выживать, пролиферировать и диссеминировать, используя различные механизмы при многостадийном канцерогенезе. Наиболее известным свойством опухолевых клеток является генетическая нестабильность, которая обусловлена изменением и повреждением генетического аппарата клетки в процессе злокачественного роста. Изменения имеют различную форму: от случайных мутаций в отдельных генах до перестройки и перегруппировки хромосом. Однако среди них редко встречаются такие изменения, которые могут приводить к появлению определенных наследуемых признаков. Другая характеристика обусловлена наличием воспаления в опухолях и предопухолевых процессах, которое находится под контролем клеток иммунной системы и способствует прогрессии опухоли.

Предложены и другие признаки, функционально значимые для развития злокачественного новообразования, которые характеризуют опухолевые клетки и могут быть добавлены в основной список особенностей [44]. Один из них связан с перепрограммированием клеточного энергетического метаболизма, направленного на поддержание постоянного роста клеток и пролиферации. При этом изменяется метаболическая программа, которая имеет место в большинстве нормальных тканей и энергетически поддерживает физиологические процессы массива клеток. Второй признак связан с активным уклонением опухолевых клеток от действия иммунной системы. Это свойство подчеркивает двойную роль иммунной системы, которая как противостоит, так и способствует развитию и прогрессии опухоли.

Генетическая нестабильность опухолевых клеток

Приобретение опухолью вышеперечисленных признаков в большей степени зависит от изменений в геноме неопластических клеток. Определенные мутантные генотипы предоставляют выборочные преимущества субклонам опухолевых клеток, способствуют их росту и доминированию среди других субклонов. Соответственно, многоступенчатую прогрессию опухоли можно представить как следствие клональных экспансий, каждая из которых запускается случайным образом в результате полученной мутации. Наследуемые фенотипы (например, инактивация генов-супрессоров опухоли) могут появляться и через эпигенетические механизмы, такие как метилирование ДНК и модификации гистонов [1].

Факт, что частоты спонтанных мутаций в каждом поколении клеток обычно очень низки, объясняется замечательным свойством, поддерживающим целостность генома, обнаруживать и устранять дефекты ДНК. Для получения большего числа мутаций в генах, необходимых для обеспечения канцерогенеза, частота мутаций в злокачественных клетках повышена [44]. Способность к накоплению мутаций достигается благодаря увеличению чувствительности к мутагенам или в результате повреждения системы стабильности генома. Накопление мутаций ускоряется при нарушении системы контроля, которая в норме отвечает за целостность генома и стимулирует генетически поврежденные клетки к физиологическому старению и апоптозу [45]. При этом роль гена-супрессора *TP53* считается центральной, из-за чего он был назван стражем генома.

Известен ряд генов, отвечающих за стабильность ДНК [46]. У генов, контролирующих стабильность генома, функции довольно разнообразны. Они связаны:

- с обнаружением повреждений ДНК и активацией системы репарации;
- непосредственным восстановлением поврежденной ДНК;
- инактивацией или блокированием мутагенных молекул до повреждения ДНК [44].

С точки зрения генетики, эти гены ведут себя как гены-супрессоры опухоли, они теряют свои функции по мере прогрессии опухоли, и эти потери связаны с инактивирующими мутациями или с эпигенетической репрессией. Введение мутантных генов в мышинные модели приводило к учащению случаев развития опухолей, что подтверждает потенциальные возможности этого механизма [47].

Еще до характеристики специфических признаков опухолей были известны некоторые причины, приводящие к нестабильности опухолевого генома. Как упо-

миналось, потеря теломерной ДНК в опухоли приводит к развитию нестабильности кариотипа и появлению хромосомных перестроек. С этой точки зрения фермент теломераза, которая сохраняет целостность теломерной ДНК, можно рассматривать не только как инструмент неограниченного потенциала для репликации, но и с точки зрения генов, которые обеспечивают целостность генома.

Успехи в молекулярно-генетическом анализе генома злокачественных клеток дали возможность убедительно показать возникновение мутаций и геномной нестабильности при прогрессировании опухоли. При использовании сравнительной геномной гибридизации показана амплификация и делеция большого числа генов и хромосомных фрагментов в геноме опухолевой клетки. Эти многочисленные нарушения четко указывают на отсутствие контроля геномной целостности, а также на то, что измененные участки генома содержат гены, нарушение строения которых способствует неопластической прогрессии [48]. Повторяющиеся генетические изменения в определенном типе опухоли могут указывать на роль конкретных мутаций как на причину опухолевого роста.

Воспаление, стимулирующее опухоль

Давно установлено, что некоторые опухоли инфильтрированы иммунными клетками и демонстрируют присутствие воспалительного процесса, который возникает в нормальных тканях. С появлением маркеров для точной идентификации различных типов клеток иммунной системы стало ясно, что почти каждое неопластическое образование содержит иммунные клетки, которые имеют различную плотность (от едва различимой инфильтрации до крупного очага воспаления) [49]. Сначала полагают, что таким образом иммунная система воздействует на опухоль с целью ее удаления, и действительно, имеется ряд данных, указывающих на противоопухолевый ответ.

В 2000-х гг. впервые предположили, что связанное с опухолью воспаление усиливает опухолеобразование и прогрессию. В последующее десятилетие интенсивные исследования связей между воспалением и канцерогенезом убедительно продемонстрировали стимуляцию опухоли иммунными клетками и неопластическую прогрессию [28].

Воспаление играет большую роль в опухолевом развитии. При его участии происходит выработка биологически активных молекул в опухолевом микроокружении, включая факторы роста, которые поддерживают пролиферацию. Воспаление активирует факторы выживания, проангиогенные факторы, ферменты, модифицирующие клеточный матрикс и способствующие ангиогенезу, инвазии и метастазированию, а также индуктивные сигналы, которые активируют ЭМП [28].

Воспаление обнаруживается на ранних стадиях неопластической прогрессии и, очевидно, способствует развитию зарождающейся неоплазии в полноценный рак [28]. Воспалительные клетки могут выделять активные формы кислорода, которые являются сильными мутагенами для близлежащих клеток, что ускоряет их генетическую трансформацию в состояние повышенной злокачественности [50].

Перепрограммирование энергетического метаболизма

При хронической (и часто — неконтролируемой) пролиферации клеток происходит также и перестройка энер-

гетического метаболизма для питания клеток в процессе роста и деления. В аэробных условиях нормальные клетки превращают глюкозу сначала в пируват в ходе гликолиза, а потом в митохондриях — пируват в углекислый газ. В анаэробных условиях гликолизу отдается предпочтение, и в митохондрии поступает недостаточно пирувата. О. Варбург первым описал аномальные характеристики энергетического метаболизма раковых клеток. Он отметил, что даже в присутствии кислорода опухолевые клетки изменяют метаболизм глюкозы, и выработка ими энергии в основном ограничивается гликолизом, что приводит к состоянию клеток, который называют «аэробный гликолиз».

Показано, что снабжение энергией в результате гликолиза связано с активацией онкогенов *RAS*, *MYC* и мутацией в гене-супрессоре *TP53*, что приводит клетку к уклонению от цитостатического контроля и ослаблению апоптоза [51]. Условия гипоксии, которые имеют место внутри многих опухолей, усиливают преимущество гликолиза. В ответ на гипоксию система повышает содержание переносчиков глюкозы и многих ферментов гликолитического пути [51]. Кроме того, гипоксия и активация онкогена *Ras* могут независимо повышать уровни транскрипционных факторов, индуцированных гипоксией (*HIF1α* и *2α*), которые в свою очередь усиливают гликолиз [52].

Доказано, что измененный энергетический метаболизм широко распространен в раковых клетках.

Уклонение от разрушения иммунной системой

По давно принятой теории иммунного контроля предполагается, что клетки и ткани постоянно тестируются иммунной системой, и такой контроль позволяет распознавать и устранять подавляющее большинство зарождающихся раковых клеток и, следовательно, возникающих опухолей.

Таким образом, солидные опухоли, по всей видимости, каким-то образом способны избежать обнаружения иммунной системой или уклониться от уничтожения.

Роль иммунного контроля опухолей подтверждается повышением частоты развития некоторых типов рака у лиц с нарушениями иммунной системы. В последние годы появляется больше данных, полученных как на генетически модифицированных мышах, так и из клинической эпидемиологии, которые позволяют предположить, что иммунная система является значительным барьером для формирования и прогрессирования опухолей (по крайней мере для некоторых форм рака, не индуцированных вирусами).

Если мышам с дефицитом разных компонентов иммунной системы оценивали по развитию индуцированных опухолей, то оказалось, что у иммунодефицитных мышам опухоли вырастали чаще и/или росли быстрее по сравнению с иммунокомпетентными мышами.

В частности, недостатки в развитии функций цитотоксических Т-лимфоцитов CD8⁺ (ЦТЛ), хелперных Т-клеток CD4⁺Th₁ или клеток натуральных киллеров (NK) приводили к заметному повышению частоты развития опухолей в каждом случае. Более того, мыши с комбинированным иммунным дефицитом по Т и NK клеткам были еще более восприимчивы заболеванию раком. По крайней мере, в экспериментальных моделях эти результаты доказывают, что как врожденный, так и приобретенный статус иммунной системы имеет принципиальное значение для иммунного контроля и, следовательно, для уничтожения опухоли.

Опыты по трансплантации показали, что опухолевые клетки, которые первоначально выросли в организме иммунодефицитных мышей, не вызывают опухолей при пересадке в организм иммунокомпетентных хозяев, в то время как раковые клетки из опухолей, выросших в организме иммунокомпетентных мышей, одинаково эффективно инициируют трансплантированные опухоли в организме обоих типов мышей [53]. Это можно объяснить тем, что высокоиммуногенные клоны раковых клеток обычно сразу элиминируются в организме иммунокомпетентных хозяев в процессе, который называют «иммунным редактированием». Оставшиеся типы клеток являются слабоиммуногенными, поэтому они растут и образуют солидные опухоли у иммунодефицитных и иммунокомпетентных животных.

Клиническая эпидемиология также поддерживает факт наличия антиопухолевого иммунного ответа при некоторых формах опухолей у человека [54]. Так, к примеру, пациенты с опухолями ободочной кишки и яичников, которые были сильно инфильтрованы иммунными клетками, ЦТЛ и НК, имели лучший прогноз, чем пациенты, у которых не имелось такого избытка лимфоцитов-киллеров [49]. Кроме того, показано, что в иммуносупрессированных трансплантированных органах у реципиентов развиваются злокачественные опухоли донорского происхождения. Это позволяет предположить, что свободные от опухолей доноры имели опухолевые клетки, которые находятся под контролем иммунной системы в инертном состоянии [55].

Однако, как было отмечено выше, у пациентов с хронической иммуносупрессией не обнаруживается значительного увеличения числа случаев основных невирусных форм рака человека.

На самом деле, обсуждение иммунологии рака сводится к упрощенному иммунологическому взаимодей-

ствию опухоль—хозяин, поскольку высокоиммуногенные раковые клетки могут успешно уклоняться от иммунного разрушения, блокируя компоненты иммунной системы, которые предназначены для их уничтожения. Например, раковые клетки могут парализовать инфильтрацию ЦТЛ и НК клеток, вырабатывая трансформирующий фактор роста (TGF) или другие факторы иммуносупрессии [56]. Более тонкие механизмы действуют при активации воспалительных клеток-активных иммуносупрессоров, к которым относятся регуляторные Т клетки и клетки-супрессоры миелоидного происхождения. И те, и другие могут подавлять действие цитотоксических лимфоцитов [57].

Приведенные рассуждения и доказательства того, что противоопухольевый иммунитет является барьером для формирования опухоли и ее прогрессии у людей, дают основание полагать, что уклонение от иммунного ответа является еще одним отличительным признаком опухолей.

Представленные в статье признаки, отличающие опухолевую и неопухольевую клетку, хотя и выдержали испытание временем, тем не менее не являются окончательными. Достижения молекулярной онкологии последних лет позволяют оценить отличительные признаки опухолевой клетки таким образом, однако возникает ряд вопросов при их разделении на основные и дополнительные. Уже в настоящее время ясно, что генетические и эпигенетические изменения генома, лежащие в основе злокачественной трансформации клетки, являются одним из основных отличительных признаков опухолевой клетки, генетически детерминирующих изменение процессов ее жизнедеятельности. Однако открытие новых классов регулирующих РНК и роли конформации хроматина как эпигенетических регуляторов экспрессии генов в нормальной и опухолевой клетке, сделанное в последние годы, позволяет говорить о появлении у опухолевой клетки новых признаков.

ЛИТЕРАТУРА

- Berdasco M., Esteller M. Aberrant epigenetic landscape in cancer: How cellular identity goes awry. *Dev. Cell.* 2010; 19: 698–711.
- Hanahan D., Weinberg R.A. The hallmarks of cancer. The next generation. *Cell.* 2011; 144 (4): 646–674.
- Davies M.A., Samuels Y. Analysis of the genome to personalize therapy for melanoma. *Oncogene.* 2010; 29: 5545–5555.
- Jiang B.H., Liu L.Z. PI3K/PDEN signaling in angiogenesis and tumorigenesis. *Adv. Cancer Res.* 2009; 102: 19–65.
- Sudarsanam S., Johnson D.E. Functional consequences of mTOR inhibition. *Curr. Opin. Drug Discov. Devel.* 2010; 13: 31–40.
- Collado M., Serrano M. Senescence in tumours: evidence from mice and humans. *Nat. Rev. Cancer.* 2010; 10: 51–57.
- Burkhardt D.L., Sage J. Cellular mechanisms of tumour suppression by the retinoblastoma gene. *Nat. Rev. Cancer.* 2008; 8: 671–682.
- Lipinski M.M., Jacks T. The retinoblastoma gene family in differentiation and development. *Oncogene.* 1999; 18: 7873–7882.
- Ghebranious N., Donehower L.A. Mouse models in tumor suppression. *Oncogene.* 1998; 17: 3385–3400.
- Curto M., Cole B.K., Lallemand D., Liu C.H., McClatchey A.I. Contact-dependent inhibition of EGFR signaling by Nf2/Merlin. *J. Cell Biol.* 2007; 177: 893–903.
- Partanen J.I., Nieminen A.I., Klefstrom J. 3D view to tumor suppression: Lkb1, polarity and the arrest of oncogenic c-Myc. *Cell Cycle.* 2009; 8: 716–724.
- Adams J.M., Cory S. The Bcl-2 apoptotic switch in cancer development and therapy. *Oncogene.* 2007; 26: 1324–1337.
- Junttila M.R., Evan G.I. p53 — a Jack of all trades but master of none. *Nat. Rev. Cancer.* 2009; 9: 821–829.
- Levine B., Kroemer G. Autophagy in the pathogenesis of disease. *Cell.* 2008; 132: 27–42.
- Galluzzi L., Kroemer G. Necroptosis: a specialized pathway of programmed necrosis. *Cell.* 2008; 135: 1161–1163.
- Blasco M.A. Telomeres and human disease: ageing, cancer and beyond. *Nat. Rev. Genet.* 2005; 6: 611–622.
- Kawai T., Hiroi S., Nakanishi K., Meeker A.K. Telomere length and telomerase expression in atypical adenomatous hyperplasia and small bronchioloalveolar carcinoma of the lung. *Am. J. Clin. Pathol.* 2007; 127: 254–262.
- Raynaud C.M., Hernandez J., Llorca F.P. Nuciforo P., Mathieu M.C., Commo F., Delalogue S., Sabatier L., Andre F., Soria J.C. DNA damage repair and telomere length in normal breast, preneoplastic lesions, and invasive cancer. *Am. J. Clin. Oncol.* 2010; 33: 341–345.
- Park J.I., Venteicher A.S., Hong J.Y., Choi et al. Telomerase modulates Wnt signalling by association with target gene chromatin. *Nature.* 2009; 460: 66–72.
- Maida Y., Yasukawa M., Furuuchi M., Lassmann T., Possemmato R., Okamoto N., Kasim V., Hayashizaki Y., Hahn W.C., Masutomi K. An RNA-dependent RNA polymerase formed by TERT and the RMRP RNA. *Nature.* 2009; 461: 230–235.
- Ferrara N. Vascular endothelial growth factor. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2009; 29: 789–791.
- Kessenbrock K., Plaks V., Werb Z. Matrix metalloproteinases: Regulators of the tumor microenvironment. *Cell.* 2010; 141: 52–67.
- Baeriswyl V., Christofori G. The angiogenic switch in carcinogenesis. *Semin. Cancer Biol.* 2009; 19: 329–337.

24. Nagy J.A., Chang S.H., Shih S.C., Dvorak A.M., Dvorak H.F. Heterogeneity of the tumor vasculature. *Semin. Thromb. Hemost.* 2010; 36: 321–331.
25. Raica M., Cimpanu A.M., Ribatti D. Angiogenesis in pre-malignant conditions. *Eur. J. Cancer.* 2009; 45: 1924–1934.
26. Zee Y.K., O'Connor J.P., Parker G.J., Jackson A., Clamp A.R., Taylor M.B., Clarke N.W., Jayson G.C. Imaging angiogenesis of genitourinary tumors. *Nat. Rev. Urol.* 2010; 7: 69–82.
27. Ribatti D. Endogenous inhibitors of angiogenesis: a historical review. *Leuk. Res.* 2009; 33: 638–644.
28. Qian B.Z., Pollard J.W. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell.* 2010; 141: 39–51.
29. Junttila M.R., Evan G.I. p53 — a Jack of all trades but master of none. *Nat. Rev. Cancer.* 2009; 9: 821–829.
30. Berx G., van Roy F. Involvement of members of the cadherin superfamily in cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* 2009; 1: 003129.
31. Polyak K., Weinberg R.A. Transitions between epithelial and mesenchymal states: acquisition of malignant and stem cell traits. *Nat. Rev. Cancer.* 2009; 9: 265–273.
32. Taube J.H., Herschkowitz J.I., Komurov K., Zhou A.Y., Gupta S., Yang J., Hartwell K., Onder T.T., Gupta P.B., Evans K.W. et al. Core epithelial-to-mesenchymal transition interactome gene-expression signature is associated with claudin-low and metaplastic breast cancer subtypes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2010; 107: 15449–15454.
33. Peinado H., Marin F., Cubillo E., Stark H.J., Fusenig N., Nieto M.A., Cano A. Snail and E47 repressors of E-cadherin induce distinct invasive and angiogenic properties *in vivo*. *J. Cell Sci.* 2004; 117: 2827–2839.
34. Karnoub A.E., Dash A.B., Vo A.P., Sullivan A., Brooks M.W., Bell G.W., Richardson A.L., Polyak K., Tubo R., Weinberg R.A. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. *Nature.* 2007; 449: 557–563.
35. Hugo H., Ackland M.L., Blick T., Lawrence M.G., Clements J.A., Williams E.D., Thompson E.W. Epithelial – mesenchymal and mesenchymal – epithelial transitions in carcinoma progression. *J. Cell. Physiol.* 2007; 213: 374–383.
36. Friedl P., Wolf K. Plasticity of cell migration: a multiscale tuning model. *J. Cell Biol.* 2010; 188: 11–19.
37. Madsen C.D., Sahai E. Cancer dissemination — Lessons from leukocytes. *Dev. Cell.* 2010; 19: 13–26.
38. Talmadge J.E., Fidler I.J. AACR centennial series: the biology of cancer metastasis: historical perspective. *Cancer Res.* 2010; 70: 5649–5669.
39. Aguirre-Ghiso J.A. Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy. *Nat. Rev. Cancer.* 2007; 7: 834–846.
40. Kenific C.M., Thorburn A., Debnath J. Autophagy and metastasis: another double-edged sword. *Curr. Opin. Cell Biol.* 2010; 22: 241–245.
41. Coghlin C., Murray G.I. Current and emerging concepts in tumour metastasis. *J. Pathol.* 2010; 222: 1–15.
42. Sleeman J.P. The metastatic niche and stromal progression. *Cancer Metastasis Rev.* 2012; 31: 429–440.
43. Yachida S., Jones S., Bozic I., Antal T., Leary R., Fu B., Kamiyama M., Hruban R.H., Eshleman J.R., Nowak M.A. et al. Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature.* 2010; 467: 1114–1117.
44. Negrini S., Gorgoulis V.G., Halazonetis T.D. Genomic instability — an evolving hallmark of cancer. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2010; 11: 220–228.
45. Jackson S.P., Bartek J. The DNA-damage response in human biology and disease. *Nature.* 2009; 461: 1071–1078.
46. Kinzler K.W., Vogelstein B. Cancer-susceptibility genes. Gatekeepers and caretakers. *Nature.* 1997; 386: 761–763.
47. Barnes D.E., Lindahl T. Repair and genetic consequences of endogenous DNA base damage in mammalian cells. *Ann. Rev. Genet.* 2004; 38: 445–476.
48. Korkola J., Gray J.W. Breast cancer genomes — form and function. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 2010; 20: 4–14.
49. Pages F., Galon J., Dieu-Nosjean M.C., Tartour E., Sautès-Fridman C., Fridman W.H. Immune infiltration in human tumors: a prognostic factor that should not be ignored. *Oncogene.* 2010; 29: 1093–1102.
50. Grivnennikov S.I., Gretchen F.R., Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell.* 2010; 140: 883–899.
51. Jones R.G., Thompson C.B. Tumor suppressors and cell metabolism: a recipe for cancer growth. *Genes Dev.* 2009; 23: 537–548.
52. Semenza G.L. Tumor metabolism: cancer cells give and take lactate. *J. Clin. Invest.* 2008; 118: 3835–3837.
53. Teng M.W.L., Swann J.B., Koebel C.M., Schreiber R.D., Smyth M.J. Immune-mediated dormancy: an equilibrium with cancer. *J. Leukoc. Biol.* 2008; 84: 988–993.
54. Bindea G., Mlecnik B., Fridman W.H. Natural immunity to cancer in humans. *Curr. Opin. Immunol.* 2009; 22: 215–222.
55. Strauss D.C., Thomas J.M. Transmission of donor melanoma by organ transplantation. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 790–796.
56. Yang L., Pang Y., Moses H.L. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends Immunol.* 2010; 31: 220–227.
57. Mougiakakos D., Choudhury A., Lladser A., Kiessling R., Johansson C.C. Regulatory T cells in cancer. *Adv. Cancer Res.* 2010; 107: 57–117.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Кушлинский Николай Евгеньевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, заведующий лабораторией клинической биохимии РОНЦ им. Н.Н. Блохина

Адрес: 115446, Москва, Каширское ш., д. 23А, тел.: (499) 324-11-79, e-mail: biochimia@mtu-net.ru

Немцова Марина Вячеславовна, доктор биологических наук, профессор, профессор кафедры медицинской генетики ГБОУ ДПО «РМАПО» МЗ РФ

Адрес: 123995, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, тел.: (495) 622-96-35, e-mail: nemtsova_m_v@mail.ru

А.А. Калиев¹, Б.С. Жакиев¹, Г.А. Елеуов¹, Н.К. Конакбаева²

¹ Западно-Казахстанский государственный медицинский университет им. М. Оспанова, Актобе, Республика Казахстан

² Больница скорой медицинской помощи, Актобе, Республика Казахстан

Использование озонотерапии и малых доз постоянного электрического тока в комплексном лечении стерильного панкреонекроза

16

Цель исследования: оценить эффективность сочетанного применения малых доз постоянного электрического тока и внутривенной озонотерапии в комплексном лечении больных стерильным панкреонекрозом. **Пациенты и методы:** проанализировано 89 (39 женщин и 50 мужчин, средний возраст $48,2 \pm 3,6$ года) историй болезней пациентов, получавших лечение по поводу стерильного панкреонекроза в хирургических отделениях Актюбинской обл. в период 1997–2013 гг. Диагноз стерильного панкреонекроза и его осложнений устанавливали на основании данных анамнеза, объективных обследований, клинико-лабораторных показателей, ультразвукового исследования и компьютерной томографии. Всем больным проводили комплексную базисную консервативную терапию, а основная группа также получала внутривенную озонотерапию и малые дозы (20–25 мкА) постоянного электрического тока. **Результаты:** использование малых доз постоянного электрического тока и внутривенной озонотерапии в комплексном лечении больных стерильным панкреонекрозом способствовало более быстрому улучшению общего состояния пациентов. **Выводы:** зарегистрировано снижение частоты перехода стерильного панкреонекроза в инфицированную форму в 3 раза, уменьшение сроков пребывания больных в стационаре в 1,6 раза и летальности — в 1,3 раза.

Ключевые слова: стерильный панкреонекроз, поджелудочная железа, комплексное лечение, озон, постоянный электрический ток. (Вестник РАМН. 2014; 1–2: 16–18)

Введение

Лечение деструктивных форм острого панкреатита остается наиболее сложной и трудоемкой проблемой urgentной хирургии [1–4]. Несмотря на стремление к консервативному разрешению деструктивного процесса в поджелудочной железе, у 15–20% больных острым панкреатитом возникает необходимость хирургического вмешательства. В последнее время наибольшее рас-

пространение получила активно-выжидательная тактика, которая предусматривает максимальное сокращение показаний к ранним хирургическим вмешательствам [2].

Ранние лапаротомии, выполненные до формирования некротических очагов в поджелудочной железе и брюшинной клетчатке, ведут к инфицированию брюшной полости и брюшинной клетчатки [5, 6]. В связи с этим лечение деструктивного панкреатита должно быть направлено на достижение асептического

А.А. Kaliyev¹, B.S. Zhakiyev¹, G.A. Eleuov¹, N.K. Konakbayeva²

¹ West-Kazakhstan State Medical University n.a. M. Ospanov, Aktobe, Republic of Kazakhstan

² Emergency Care Hospital, Aktobe, Republic of Kazakhstan

Concomitant use of Intravenous Ozone Therapy and Small Doses of Direct Current in the Integrated Treatment of Patients with Sterile Pancreatonecrosis

Aim: to estimate effectiveness of concomitant use of direct current in a small doses and intravenous ozone therapy in the integrated treatment of patients with sterile pancreatonecrosis. **Patients and methods:** 89 (39 women and 50 men, average age $48,2 \pm 3,6$ years) Patient medical records, received a treatment for sterile pancreatonecrosis in surgery departments of Aktobe oblast were analyzed. In the period of 1997–2013, diagnosis of sterile pancreatonecrosis and its complication was found out on the basis of historical study, physical examination, clinical laboratory findings, ultrasound investigation and computerized tomography. All patients passed through complex basic conservative therapy and main group received also intravenous ozone therapy and small doses (20–25mkA) of direct current. **Results:** usage of small doses of direct current and intravenous ozone therapy in the integrated treatment of patients with sterile pancreatonecrosis helped on more rapid general well-being mend of patients. **Conclusions:** registered drop of transition frequency of sterile pancreatonecrosis into infected forms in 3 times, reduction of patients period of stay at hospital in 1,6 times and mortality rates — in 1,3 times.

Key words: sterile pancreatonecrosis, pancreas, integrated treatment, ozone, direct current.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 16–18)

течения воспалительного процесса в поджелудочной железе, а хирургическое вмешательство показано только при появлении признаков инфицирования. Именно такой алгоритм позволяет обеспечить улучшение результатов лечения деструктивного панкреатита [2, 5]. В настоящее время продолжается поиск новых подходов к лечению деструктивных форм данного заболевания.

Цель исследования: оценить эффективность сочетанного применения малых доз постоянного электрического тока и внутривенной озонотерапии в комплексном лечении больных стерильным панкреонекрозом.

Пациенты и методы

Участники исследования

Проанализировано 89 историй болезней пациентов, получавших лечение по поводу стерильного панкреонекроза в хирургических отделениях Актюбинской обл. в период 1997–2013 гг. Возраст пациентов составил от 18 до 72 лет (в среднем $48,2 \pm 3,6$ года); женщин было 39 (34,7%), мужчин — 50 (65,3%). Диагноз стерильного панкреонекроза и его осложнений устанавливали на основании данных анамнеза, объективных обследований, клинико-лабораторных показателей, ультразвукового исследования и компьютерной томографии. Для определения вида панкреонекроза использовали Международную классификацию острого панкреатита (Атланта, 1992).

Больные были разделены на 2 группы: 1-я группа (группа сравнения) включала 55 пациентов со стерильным панкреонекрозом, проходивших лечение в хирургических отделениях г. Актобе в период 1997–2007 гг. и получавших традиционное лечение; 2-я группа (основная) — включала 34 человека проходивших лечение в 2007–2013 гг. и получавших наряду с медикаментозной внутривенную озонотерапию и лечение малыми дозами постоянного электрического тока (ПЭТ).

Методы исследования

Всем больным проводили комплексное базисное консервативное лечение, основой которого были антиферментная, цитостатическая и антибактериальная терапия с массивной инфузионной терапией, форсированным диурезом.

Лечение ПЭТ осуществлялось ежедневно в течение 60 мин 2 раза/сут, для чего положительный электрод устанавливали в эпигастральную область, а отрицательный — в поясничную. Сила подаваемого тока составила 20–25 мкА, а плотность тока под анодом — $0,05–0,1$ мА/см². Для проведения внутривенной озонотерапии заранее готовили озонированный раствор, для чего использовали стерильный изотонический раствор хлорида натрия. Насыщение раствора озон-кислородной смесью производили при помощи аппарата «Отри» (Машиностроительный завод им. Кирова, Казахстан). Озонированный физиологический раствор вводили внутривенно со скоростью 80 капель в 1 мин 1 раз/сут.

Эффективность лечения в обеих группах оценивали:

- по частоте перехода стерильного панкреонекроза в инфицированную форму;
- частоте послеоперационных осложнений;
- средним срокам пребывания больных в стационаре;
- летальным исходам в сравнительном аспекте.

Статистическая обработка данных

Все полученные количественные параметры были подвергнуты вариационно-статистической обработке с вычислением их средней величины (\bar{X}), ее ошибки (S_x),

среднеквадратического отклонения (f_x), коэффициента достоверности разности средних величин (t), вероятности ошибки по распределению Стьюдента (p), коэффициентов корреляции (r) и ее достоверности (td). При проведении статистических расчетов использовали программу Microsoft Office Excel.

Результаты

В результате проведения консервативной терапии удалось достичь клинического эффекта у 38 (69%) больных группы сравнения и 29 (85,3%) пациентов основной группы; 17 (31%) человек 1-й группы и 5 (14,7%) больных 2-й группы были прооперированы на 4–10-е сут стационарного лечения из-за развития ферментативного перитонита и перехода стерильной формы некроза в инфицированную.

Объем оперативного вмешательства у оперированных больных обеих групп при развитии ферментативного перитонита был одинаковым: лапароскопия, лапароскопическая холецистостомия по показаниям, санация и дренирование брюшной полости. В послеоперационном периоде все пациенты находились в отделении интенсивной терапии и реанимации до момента стабилизации функций жизненно важных органов и систем, снижения степени интоксикации.

В послеоперационном периоде была продолжена комплексная консервативная терапия. Отличием основной группы было использование малых доз ПЭТ в сочетании с внутривенной озонотерапией.

Оценивая клинико-лабораторные данные в исследуемых группах, нами отмечено более быстрое купирование болевого синдрома в основной группе (через $2,5 \pm 0,18$ сут), по отношению к группе сравнения (через $4,7 \pm 0,24$ сут; $p < 0,001$).

Из общего числа оперированных больных в группе сравнения, получавших в послеоперационном периоде только традиционную комплексную терапию, отчетливого клинического эффекта удалось достичь только у 7 (41,2%) пациентов. У остальных 10 (58,8%) человек был отмечен переход стерильного некроза в инфицированную форму. На 3–5-е сут после лапароскопической санации брюшной полости у этих больных зарегистрировано нарастание интоксикации и появление клинической картины перитонита. Больные были прооперированы открытым способом: лапаротомия, оментопанкреатобурсостомия, люмботомия, сквозное дренирование салниковой сумки, санации брюшной полости.

Из 5 прооперированных больных основной группы отчетливый клинический эффект зафиксирован у 4 (80%) больных; у 1 (20%) пациента имел место переход стерильного некроза в инфицированную форму.

Послеоперационные осложнения в 1-й группе (сравнения) встречались в 69% случаев, тогда как в основной группе такие осложнения были отмечены у 32,4% больных. Как видно из табл., парапанкреатический инфильтрат образовался у 5 (9,1%) пациентов 1-й группы, тогда как во 2-й — только у 2 (5,9%) человек.

Использование малых доз ПЭТ в сочетании с внутривенной озонотерапией в комплексном лечении стерильного панкреонекроза значительно уменьшило сроки пребывания больных в стационаре. Так, в основной группе число койко-дней составило $27,4 \pm 1,28$, а в группе сравнения — $43,4 \pm 1,7$.

В основной группе умерло 6 (17,6%) больных, в контрольной — 13 (23,6%).

Таблица. Частота развития осложнений в основной и контрольной группах

Осложнения	Число больных (n=89), n/%	
	Основная группа (n=34)	Группа сравнения (n=55)
Парапанкреатический инфильтрат	2 (5,9)	5 (9,1)
Панкреатогенный шок	3 (8,8)	6 (10,9)
Ферментативный перитонит	5 (14,7)	17 (30,9)
Трансформация в инфицированный панкреонекроз	1 (2,9)	10 (18,2)
Всего:	11 (32,4)	38 (69)

Заключение

Использование малых доз ПЭТ и внутривенной озонотерапии в комплексном лечении стерильных форм острого деструктивного панкреатита способствует более

быстрому улучшению общего состояния больных, снижению частоты перехода стерильного панкреонекроза в инфицированную форму в 3 раза, уменьшению сроков пребывания больных в стационаре в 1,6 раза и летальности — в 1,3 раза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брехов Е.И., Миронов А.С. Современные технологии в диагностике и лечении панкреонекроза. Мат-лы юбилейн. конф., посвящ. 10-летию деятельности Общества эндоскопических хирургов России «Обеспечение безопасности эндохирургических операций». *Эндоскопическая хирургия*. 2006; 1: 24.
2. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневич С.З., Куликов В.М., Сергеева Н.А., Орлов Б.Б. Варианты течения панкреонекроза, определяющие выбор оптимальной тактики хирургического лечения. *Анналы хирургии*. 2006; 1: 40–44.
3. Абдульянов А.В., Фаррахов А.З., Бородин М.А. Диагностика и хирургическое лечение больных деструктивным панкреатитом. *Практическая медицина*. 2010; 8 (47): 30–37.
4. Кузнецов Н.А., Родоман Г.В., Бронтвейн А.Т. Лечение больных панкреонекрозом. *Хирургия*. 2004; 12: 22–27.
5. Малков И.С., Зайнутдинов А.М., Кришин А.П. Малоинвазивные вмешательства в лечении больных с локализованными инфицированными формами панкреонекроза. *Анналы хирургии*. 2005; 4: 47–50.
6. Винник Ю.С., Перьянова О.В., Якимов С.В., Анишина О.В., Петрушко С.И. Применение озонированного физиологического раствора в комплексном лечении гнойных осложнений острого панкреатита. *Анналы хирургической гепатологии*. 2002; 1: 59–62.

18

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Калиев Асет Аскерович, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры хирургических болезней № 2 ЗКГМУ им. М. Оспанова

Адрес: 030019, Республика Казахстан, Актобе, ул. Маресьева, д. 68, тел.: (7132) 56-32-01, e-mail: aset_kaliyev@mail.ru

Жакиев Базылбек Сагидоллаевич, доктор медицинских наук, профессор, руководитель кафедры хирургических болезней № 2 ЗКГМУ им. М. Оспанова

Адрес: 030019, Республика Казахстан, Актобе, ул. Маресьева, д. 68, тел.: (7132) 56-32-01, e-mail: zhakiyev1959@mail.ru

Елеуов Галымжан Алмасбекович, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры хирургических болезней № 2 ЗКГМУ им. М. Оспанова

Адрес: 030019, Республика Казахстан, Актобе, ул. Маресьева, д. 68, тел.: (7132) 56-32-01, e-mail: G.eleuov@mail.ru

Конакбаева Нургүль Кабидуллаевна, врач-хирург общего хирургического отделения БСМП г. Актобе

Адрес: 030019, Актобе, ул. Пацаева, д. 7, тел.: (7132) 56-30-35, e-mail: nurgulkab@mail.ru

Ю.С. Винник¹, Е.В. Репина², Е.В. Серова¹, А.С. Репин³, Ф.П. Чавкункин¹, А.А. Габриелян¹, М.О. Журавлёв¹

¹ Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, Российская Федерация

² Городская клиническая больница № 7» г. Красноярск, Российская Федерация

³ Сибирский клинический центр, Красноярск, Российская Федерация

Уродинамические нарушения в почках при панкреонекрозе

Представлен опыт ультразвукового мониторинга почек у пациентов с панкреонекрозом в возрасте 20–60 лет. Приведено 2 клинических примера нарушения почечной уродинамики при деструктивных формах острого панкреатита. Сделаны выводы о том, что отечная форма острого панкреатита и панкреонекроз являются причиной нарушения не только секреторной, но и экскреторной функции почек. При панкреонекрозе, сопровождающемся образованием ограниченных жидкостных зон в забрюшинном пространстве, в т.ч. при флегмонах забрюшинного пространства, может возникать сдавление мочеточников, что сопровождается появлением уродинамических нарушений в почках разной степени выраженности. Ультразвуковой мониторинг состояния почек при ведении больных с отечной формой острого панкреатита, панкреонекрозом позволяет диагностировать почечные уродинамические нарушения, что дает возможность своевременно корректировать лечебные мероприятия у этой категории больных и улучшить результаты лечения.

Ключевые слова: панкреонекроз, почечная уродинамика.
(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 19–21)

19

Введение

Полиорганная недостаточность, в т.ч. нарушение функции почек разной степени выраженности, при остром панкреатите, проявляющемся гиперферментемией, эндотоксикозом, нарушением параметров гемостаза, остается проблемой хирургической панкреатологии. Однако в ряде случаев также наблюдается компрессионное влияние на мочевыводящие пути зон выпота в забрюшинном пространстве при деструктивных формах острого панкреатита [1, 2].

Повреждение почек при панкреонекрозе выражается изменением концентрационной и секреторной функции. Клинико-лабораторная манифестация характеризуется олигурией, повышением содержания липокалина, мочевины и свободного креатинина, протеинурией [3].

В отечественной и зарубежной литературе имеется крайне мало сведений о развитии уродинамических нару-

шений в почках при гнойно-некротических изменениях парапанкреатической клетчатки на фоне острого деструктивного панкреатита [4–6].

В собственной практике мы наблюдали единичные случаи нарушения почечной уродинамики при деструктивных формах острого панкреатита.

Клинический пример

Случай 1

Больная П., возраст 53 года, находилась на лечении в хирургическом отделении с диагнозом «Тотальный геморрагический панкреонекроз. Разлитой ферментативный перитонит». При ультразвуковом исследовании выявлены большие скопления жидкости в левой плевральной полости, забрюшинном пространстве, в области латеральных каналов. При ультрасонографии почек:

Yu.S. Vinnik¹, E.V. Repina², E.V. Serova¹, A.S. Repin³, F.P. Chavkunkin¹, A.A. Gabrielyan¹, M.O. Zhuravlev¹

¹ Krasnoyarsk State Medical University n.a. professor V.F. Voyno-Yasenetsky, Russian Federation

² City Clinical Hospital № 7 of Krasnoyarsk, Russian Federation

³ Clinical Center of Siberia, Krasnoyarsk, Russian Federation

Urodynamic Abnormalities in the Kidneys of Pancreonecrosis

This paper presents experience in monitoring renal ultrasound data in patients with pancreatonecrosis from 20 to 60 years. It is also present two clinical cases of renal urodynamics in destructive forms of acute pancreatitis. Edematous form of acute pancreatitis and pancreatic cause violations not only secretion but also excretory function of the nephros. In patients with pancreatic necrosis accompanied by the formation of zones of limited fluid in the retroperitoneal space including retroperitoneal phlegmon may occur ureteral compression which is accompanied by appearance of urodynamic disorders in the nephros of varying severity. Ultrasound monitoring of renal care for patients with edematous form of acute pancreatitis, pancreatic necrosis helps to diagnose renal urodynamic disorders which allows timely corrected in the early stages of treatment activities in these patients and improve outcomes.

Key words: pancreatonecrosis, renal urodynamics.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 19–21)



Рис. 1. Ультразвуковая визуализация затека слева от мочевого пузыря.



Рис. 2. Пиелоэктазия слева.



Рис. 3. Показатели почечной гемодинамики (левая почечная артерия) при пиелоэктазии.



Рис. 4. Показатели почечной гемодинамики при нормализации размеров собирательной системы.

контуры почек ровные, четкие, толщина паренхимы 13–14 мм с обеих сторон, чашечки 5–6 мм, лоханки с обеих сторон 7–9 мм. Больная была прооперирована: выполнена лапаротомия, абдоминализация поджелудочной железы, некрсеквестрэктомия, марсупиализация сальниковой сумки, дренирование сальниковой сумки, забрюшинного пространства и брюшной полости. На 4-е сут после операции состояние пациентки ухудшилось: зарегистрирована стойкая гипертермия, при ультразвуковом исследовании обнаружены ограниченные жидкостные зоны в парапанкреатической клетчатке в области хвоста поджелудочной железы, в паранефрии с обеих сторон. При ультразвуковом сканировании почек выявлена умеренная двусторонняя каликопиелоэктазия. При ультразвуковой доплерографии междолевых артерий справа и слева: RI 0,66 и 0,64, соответственно. Выполнена релапаротомия, некрсеквестрэктомия, редренирование брюшной полости и забрюшинного пространства. При динамическом ультразвуковом контроле отмечалась положительная динамика: жидкостные зоны в забрюшинном пространстве уменьшились вплоть до исчезновения, в левой плевральной полости — свободная жидкость до 15–20 мл, в почках — чашечно-лоханочная система в пределах нормы. RI в междолевых артериях справа и слева — 0,63 и 0,62, соответственно.

Случай 2

Больной Е., возраст 23 года, находился на лечении в хирургическом отделении с диагнозом «Желчнокаменная болезнь. Флегмонозный калькулезный холецистит. Холедохолитиаз. Субтотальный смешанный панкреонекроз. Разлитой ферментативный перитонит. Механическая желтуха». На момент поступления при ультразвуковом исследовании почек эхопатологии не выявлено. При динамической ультрасонографии в области левого латерального канала, левой подвздошной области визуализировалась жидкостная ограниченная зона размером 60×58 мм (рис. 1), в почках обнаружены признаки уретерогидронефроза слева (рис. 2). RI в междолевых артериях: справа — 0,63, слева — 0,58 (рис. 3).

Больной был прооперирован: выполнена лапаротомия, холецистэктомия, холедохолитотомия, дренирование холедоха по Вишневскому, абдоминализация поджелудочной железы, марсупиализация сальниковой сумки, дренирование сальниковой сумки, забрюшинного пространства и брюшной полости. После дренирования левого латерального канала при ультразвуковом исследовании в левой подвздошной области жидкостных зон не выявлено, чашечно-лоханочная система левой почки сократилась до нормы (чашечки 5–6 мм, лоханка 10×9 мм). Показатель RI в междолевых артериях: справа — 0,6, слева — 0,54 (рис. 4).

Обсуждение

По результатам собственных наблюдений, в течение 10 лет при ультразвуковом мониторинге почек у пациентов с панкреонекрозом в возрасте от 20 до 60 лет при отсутствии врожденных и приобретенных заболеваний почек, при опорожненном мочевом пузыре обычно не отмечалось расширения чашечно-лоханочной системы. При ультразвуковой доплерографии сосудов почек при отечной форме острого панкреатита отмечалось умеренное повышение линейной скорости кровотока в междолевых артериях, индекс резистентности RI составил 0,52–0,56, при стерильной форме панкреонекроза отмечено повышение линейной скорости кровотока в междолевых артериях и повышение скорости кровотока в междолевых венах 0,25–0,35, RI 0,61–0,67. При инфицированном панкреонекрозе линейная скорость кровотока в междолевых артериях имела тенденцию к снижению, RI колебался в пределах от 0,6 до 0,71.

Изменение экскреторной функции почек, возникающее при компрессии ограниченными зонами выпота в забрюшинном пространстве, паранефрии, в области латеральных каналов, участков мочеточников на разных уровнях при панкреонекрозе, усугубляет нарушения секроторной и концентрационной функций почек, развивающиеся как результат развития ферментемии и эндотоксикоза при остром панкреатите, и требует своевременной коррекции в ранние сроки. Ультразвуковой мониторинг

состояния почек при этом оказывает быструю и неопценную помощь [4, 7].

При панкреонекрозе, сопровождающемся большим скоплением выпота в забрюшинном пространстве, в почках, расположенных в анатомической близости к поджелудочной железе, в большинстве случаев при динамическом ультразвуковом исследовании не обнаруживается расширения чашечно-лоханочной системы.

Заключение

Отечная форма острого панкреатита и панкреонекроз являются причиной нарушения не только секреторной, но и экскреторной функции почек.

При панкреонекрозе, сопровождающемся образованием ограниченных жидкостных зон в забрюшинном пространстве, в том числе при флегмонах забрюшинного пространства, может возникать сдавление мочеточников, что сопровождается появлением уродинамических нарушений в почках разной степени выраженности.

Ультразвуковой мониторинг состояния почек при ведении больных с отечной формой острого панкреатита, панкреонекрозом позволяет диагностировать почечные уродинамические нарушения, своевременно, в ранние сроки, корректировать лечебные мероприятия у этой категории больных, а также улучшать результаты лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гринев М.В. Патогенетические аспекты критических состояний в неотложной хирургии. *Вестник хирургии им. И.И. Грекова*. 2009; 1: 32–35.
2. Савельев В.С., Филимонов М.И., Бурневич С.И. Панкреонекрозы. М.: МИА. 2008. 264 с.
3. Вельков В.В. NGAL — «ренальный тропонин», ранний маркер острого повреждения почек: актуальность для нефрологии и кардиохирургии. *Клинико-лабораторный консиллиум*. 2011; 2: 90–100.
4. Бакстер Г.М., Сидху П.С. Ультразвуковые исследования мочевыделительной системы. М.: МЕДпресс-информ. 2008. 280 с.
5. Боровский В.В. Современные ультразвуковые технологии в диагностике деструктивных форм острого панкреатита. *Медицинская визуализация*. 2010; 3: 64–69.
6. Гульмурадов Н.Т., Корнев А.В., Максимова И.И. Возможности лучевой диагностики острого деструктивного панкреатита. *Докл. АН респ. Таджикистан*. 2011; 5: 402–407.
7. Lin H.-Y., Lai J.-I., Lai Y.-C., Lin P.-C., Chang S.-C., Tang G.-J. Acute renal failure in severe pancreatitis — a population-based study. *Informa Healthcare*. 2011; 116 (2): 155–159.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Винник Юрий Семенович, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки РФ, заслуженный врач РФ, заведующий кафедрой общей хирургии ГБОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** (391) 220-19-09, **e-mail:** yuvinnik@yandex.ru
Репина Елена Валентиновна, заочный аспирант кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ, врач ультразвуковой диагностики МБУЗ «ГКБ № 7»
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** (391) 262-31-61, **e-mail:** elerepina@yandex.ru
Серова Екатерина Валерьевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ, врач ультразвуковой диагностики МБУЗ «ГКБ № 7»
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** (391) 262-31-61, **e-mail:** ekaterina_s_07@mail.ru
Репин Алексей Сергеевич, врач-рентгенолог ФГБУЗ «Сибирский клинический центр» ФМБА России
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** (391) 262-31-61, **e-mail:** elerepina@yandex.ru
Чавкунькин Федор Петрович, кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей хирургии ГБОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** (391) 220-19-09, **e-mail:** yuvinnik@yandex.ru
Габриелян Армен Азатович, студент 6-го курса педиатрического факультета ГБОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** (391) 212-53-85, **e-mail:** ekaterina_s_07@mail.ru
Журавлёв Максим Олегович, студент 3-го курса факультета фундаментального медицинского образования ГБОУ ВПО «КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого» МЗ РФ
Адрес: 660022, Красноярск, ул. Партизана Железняка, д. 1, **тел.:** (391) 212-53-85, **e-mail:** ekaterina_s_07@mail.ru

А.Г. Соловьёва, А.К. Мартусевич, С.П. Перетягин, Н.В. Диденко

Нижегородский НИИ травматологии и ортопедии, Российская Федерация

Системный анализ метаболического профиля крови пациентов с термической травмой

Цель исследования: произвести мультипараметрический анализ метаболического профиля крови в раннем периоде ожоговой болезни. **Материалы и методы:** исследована кровь 15 взрослых практически здоровых людей (контрольная группа) и 60 больных с термической травмой (основная группа — лица с ожогами II–IIIА, В степени площадью поражения более 15% поверхности тела). Оценивали параметры липидного спектра плазмы, уровень глюкозы, лактата, малонового диальдегида, активность ферментов плазмы крови и эритроцитов. **Результаты:** у пациентов с ожогами свыше 15% поверхности тела в ранние сроки после травмы верифицированы выраженные метаболические нарушения, проявляющиеся в возникновении тканевой гипоксии, повышении активности трансаминаз и оксидоредуктаз в плазме крови, угнетении детоксикационной системы организма, развитии окислительного стресса. Обнаружено сопряжение метаболических сдвигов, возникающих при развитии ожоговой болезни, проявляющееся в существовании многочисленных корреляций между изучаемыми показателями и имеющее место уже с первых суток с момента травмы. **Выводы:** полученные данные расширяют представления о сопряженности метаболических сдвигов каталитических свойств ферментов крови, формирующихся в ранний период ожоговой болезни (явление системной метаболической дезадаптации), и позволяют уточнить диагностическую информативность некоторых биохимических параметров крови в оценке состояния пациента с термической травмой.

Ключевые слова: ожоги, метаболизм, трансаминазы, оксидоредуктазы, малоновый диальдегид. (Вестник РАМН. 2014; 1–2: 22–25)

22

Введение

Ожоговая болезнь, развивающаяся в результате получения глубоких и/или обширных ожогов, сопровождается полиорганной дисфункцией различной степени выраженности, зависящей от тяжести полученной травмы [1–5]. Известно, что в патогенезе ожоговой болезни присутствуют нарушения системной гемодинамики, микроциркуляции, возникают окислительный стресс, выраженная гипоксия, массивный выброс цитокинов, провоспалительных медиаторов, дистрофические и некробиотические процессы, определяющие развитие полиорганной недостаточности [3, 5–7]. Следует отметить, что последняя имеет преимущественно метаболическую природу, поскольку обусловлена формированием специфической эндогенной интоксикации [2, 5, 6, 8]. Вследствие этого логично предполагать развитие нарушений

многих компонентов обмена веществ при данном патологическом состоянии, что и было продемонстрировано рядом исследователей для отдельных метаболитов и их групп [2, 3, 5]. В то же время системный анализ метаболических нарушений, возникающих при ожоговой болезни, в доступных литературных источниках отсутствует, несмотря на утвердившиеся представления о данном варианте травматической болезни как патологии организменного уровня [3]. Ранее нами предпринимались попытки комплексной оценки сдвигов обмена веществ при термической травме в условиях ее моделирования на животных [7] и у человека [1, 6, 9], но эти работы затрагивали только отдельные звенья метаболизма.

Цель исследования: произвести мультипараметрический анализ метаболического профиля крови в раннем периоде ожоговой болезни.

A.G. Soloveva, A.K. Martusevich, S.P. Peretyagin, N.V. Didenko

Nizhny Novgorod research institute of traumatology and orthopaedics, Russian Federation

System Analysis of Metabolic Profile of Blood in Patients with Thermal Trauma

Aim: to make multiparametric analysis of blood metabolic profile in early period of burn disease. **Materials and methods:** we tested blood samples of 15 healthy adults (control group) and 60 patients with thermal trauma (main group — II–IIIА, В degree of burn, more then 15 bsp). Parameters of lipid metabolism, level of glucose, lactate, malonic dialdehyde and some enzymes in blood plasma and erythrocytes were estimated. **Results:** in early period of burn disease we fixed the clear metabolic disorders, including tissues hypoxia, activation of plasma transaminases and oxidoreductases, inhibition of detoxication system, induction of oxidative stress. Connection of metabolic changes, associated with burn disease, was registered. It supported by numerous correlations between studied parameters, formed from first day after trauma. **Conclusions:** our data expand the knowledge about mating metabolic changes of catalytic activity of blood enzymes, forming in early period of burn disease (system metabolic disadaptation), and diagnostic value of some blood biochemical parameters in estimation of burned patient metabolism.

Key words: burn, metabolism, transaminases, oxidoreductases, malonic aldehyde.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 22–25)

Материалы и методы

Материал для исследования

Объектом изучения была кровь 15 взрослых практически здоровых людей (контрольная группа) и 60 больных с термической травмой (основная группа — лица с ожогами II–III А, В степени площадью поражения более 15% поверхности тела).

Методы исследования

В плазме крови пациентов с ожогом в 1-е сут после травмы и лиц контрольной группы определяли липидный спектр — триглицериды, холестерол липопротеидов высокой плотности (ХЛ ЛПВП), холестерол липопротеидов низкой плотности (ХЛ ЛПНП), а также содержание глюкозы, лактата, церулоплазмينا, активность α -амилазы, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартат-амино-трансферазы (АСТ), гаммаглутамил-трансферазы (ГГТ), креатинкиназы (КК), креатинкиназы МВ (КК-МВ), α -гидроксибутиратдегидрогеназы (ГБДГ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), липазы. Исследования осуществляли с помощью высокопроизводительного полуавтоматического биохимического анализатора CLIMA MC-15 (Испания). Для проведения анализа были использованы наборы реагентов DiaSys (Германия). В гемолизате эритроцитов (1:40) определяли активность альдегиддегидрогеназы (АлДГ) по Б.М. Кершенгольц, Е.В. Серкиной на спектрофотометре Power Wave XS (США) [10]. Содержание малонового диальдегида (МДА) в эритроцитах и плазме крови оценивали по методу В.Г. Сидоркина, И.А. Чулошниковой [11].

Статистическая обработка данных

Результаты анализировали при помощи программы Statistica v. 6.0 (Statsoft Inc., США). Нормальность распределения значений параметров оценивали с использованием критерия Шапиро–Уилка. С учетом характера распределения признака для оценки статистической значимости различий применяли Н-критерий Краскела–Уоллиса. Для получения коэффициента парной корреляции использовали метод Спирмена. Данные представляли в формате $M \pm m$. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Рассчитывали истинный уровень статистической значимости различий средних значений показателей и коэффициента парной корреляции.

Результаты и обсуждение

В соответствии с результатами ранее проведенных исследований, уже с 1-х сут после получения термической травмы наблюдается повышение активности ряда ферментов плазмы крови. В частности, регистрируют значимое увеличение каталитической активности всех исследуемых энзимов класса трансфераз по сравнению с показателями у практически здоровых людей (табл. 1): АЛТ — в 1,5 раза ($p = 0,026$), АСТ — в 2,24 раза ($p = 0,004$), ГГТ — в 2,12 раза ($p = 0,001$), общей КК — в 4,3 раза ($p < 0,001$), КК-МВ — в 2,3 раза ($p = 0,003$).

Наряду с трансферазами в 1-е сут после ожога возрастает активность таких оксидоредуктаз, как ЛДГ в 1,93 ($p = 0,001$) и ГБДГ (изофермент ЛДГ) в 1,30 ($p = 0,006$) раза, по сравнению с усредненными значениями показателей у здоровых людей.

Установленная динамика каталитической активности и/или содержание ферментов в биологической жидкости указывают на нарушение функционирования гепатобилиарной системы (ГГТ, АЛТ, ЛДГ), миокарда (АСТ, КК-МВ, ГБДГ), а также почек (ЛДГ, ГБДГ). Кроме того, о задействованности миокарда в реализации данного варианта травматической болезни свидетельствует нарастание коэффициента де Ритиса [8, 12]. Данные тенденции должны рассматриваться как компонент патогенеза ожоговой болезни, в дальнейшем участвуя в формировании эндогенной интоксикации [5]. В этом плане известно, что, в частности, активность ЛДГ и КК возрастает при различных травмах независимо от их этиологии, а также в условиях травматического шока [12]. В то же время характер изменения каталитических свойств отдельных энзимов определяется видом полученной травмы [12]. Традиционно реактивную гиперферментемию в ответ на серьезную травму принято рассматривать как результат нарастания содержания ферментов в крови за счет их попадания в кровоток из поврежденных органов и тканей на фоне продолжающегося биосинтеза. С другой стороны, не менее значимым механизмом, который способен обеспечивать повышение активности рассматриваемых энзимов, является стимуляция каталитических свойств последних. Указанные процессы, ассоциированные с нарушениями внутриклеточной модуляции метаболизма и обусловленные дисбалансом молекулярных регуляторов активности ферментов, реализуют свое действие преимущественно через конформационные перестройки энзимов [13].

Таблица 1. Ферментативная активность в крови больных с термической травмой

Показатель	Контрольная группа (n =15)	Основная группа (n =60)
α -Амилаза, Е/л	66,52±12,02	67,34±9,12
Аланинаминотрансфераза, Е/л	22,50±3,46	33,80±5,97*
Аспаратаминотрансфераза, Е/л	24,71±5,38	55,33±8,28*
Коэффициент де Ритиса	1,10±0,12	1,64±0,11*
Гаммаглутамилтрансфераза, Е/л	29,50±7,13	62,11±11,78*
Креатинкиназа, Е/л	105,51±20,46	453,52±69,30*
Креатинкиназа МВ, Е/л	16,71±2,99	38,48±7,06*
α -Гидроксибутиратдегидрогеназа, Е/л	127,64±9,98	165,96±12,98*
Лактатдегидрогеназа, Е/л	205,89±32,55	397,20±28,52*
Щелочная фосфатаза, Е/л	211,37±34,68	238,21±23,19
Липаза, Е/л	29,61±4,34	23,91±5,02
Альдегиддегидрогеназа, нмоль НАДН/мин × мг белка	22,53±3,08	5,34±1,29*

Примечание (здесь и в табл. 2). * — различия статистически значимы по сравнению со здоровыми людьми ($p \leq 0,05$).

Интересен тот факт, что в 1-е сут после термической травмы не обнаруживают значимых сдвигов активности изучаемых гидролаз в плазме крови (α -амилазы, ШФ, липазы). Несмотря на потенциальное участие поджелудочной железы в ответе организма на травматический шок [3, 7], эти данные свидетельствуют о недостаточной диагностической информативности определения рассмотренных ферментов.

В эритроцитах было обнаружено значимое снижение активности фермента биотрансформации АлДГ в 4,3 раза ($p < 0,001$) по сравнению с ее активностью у практически здоровых людей, что может привести к накоплению высококотоксичных альдегидов (см. табл. 1). При этом известно, что последние в повышенных концентрациях нарушают структуру и функции плазматических мембран, выступают ингибиторами многих ферментов мембран клеток организма, вызывают образование внутри- и межмолекулярных сшивок полипептидов [14].

С целью оценки системных сдвигов метаболизма в ранний посттермический период был проведен корреляционный анализ рассмотренных показателей, верифицирующий сопряженность функционирования ферментных систем в условиях исследуемого варианта травматического шока. Установлено, что имеют место многочисленные прямые корреляции между уровнями активности изученных энзимов: АЛТ и ГБДГ ($r = 0,42$; $p = 0,010$), ЛДГ и АЛТ ($r = 0,45$; $p = 0,006$), АСТ и КК ($r = 0,35$; $p = 0,039$), АСТ и ГБДГ ($r = 0,54$; $p = 0,001$), АСТ и ЛДГ ($r = 0,56$; $p = 0,001$), КК и КК-МВ ($r = 0,70$; $p < 0,001$), КК и ГБДГ ($r = 0,31$; $p = 0,046$), КК и ЛДГ ($r = 0,53$; $p < 0,001$), КК-МВ и ЛДГ ($r = 0,66$; $p < 0,001$), а также ГБДГ и ЛДГ ($r = 0,61$; $p < 0,001$). Это свидетельствует о сопряженности ответа ферментных систем на термическую травму, создавая предпосылки для последующей многоуровневой метаболической адаптации [7].

Следует отметить, что нарастание активности исследуемых трансфераз и оксидоредуктаз в плазме крови и снижение каталитических свойств АлДГ в эритроцитах имеют большое прогностическое значение, поскольку указывают на комплексность ответа системы ферментативной детоксикации органов и тканей на термическую травму [2, 5].

Обнаруженное ингибирование эритроцитарной АлДГ (табл. 2), наблюдаемое в раннем периоде ожоговой болезни, ассоциировано с установленным нами резким увеличением концентрации маркера интенсивности липопероксидации МДА в эритроцитах (в 1,9 раза по отношению к показателям практически здоровых людей; $p = 0,021$). Кроме того, в 1-е сут после ожога имеет место отрицательная корреляция между показателями активности АлДГ и уровнем МДА в эритроцитах ($r = -0,36$; $p = 0,032$).

Вторым компонентом метаболического профиля, проанализированным для пациентов с термической травмой, была оценка липидного обмена. Показано, что в плазме крови больных с ожоговой болезнью наблюдается повышение концентрации ХЛ ЛПВП в 1,71 раза по сравнению с показателями здоровых людей ($p = 0,012$), что может рассматриваться как косвенный признак развития интоксикации с вовлечением в патологический процесс печени [5]. Наличие метаболической взаимосвязи между состоянием ферментной детоксикации и липидным обменом в послеожоговом периоде подтверждено наличием отрицательной корреляции между активностью АлДГ и количеством ХЛ ЛПВП ($r = -0,91$; $p = 0,001$) и положительной — между уровнем МДА и содержанием ХЛ ЛПВП ($r = 0,56$; $p = 0,001$). Из этих данных следует, что показатели МДА и ХЛ ЛПВП информативны в плане оценки выраженности метаболических нарушений и степени адаптации организма к травматическому (ожоговому) стрессу.

Согласно нашим данным, термическая травма сопровождается также значительными трансформациями метаболизма углеводов, что выражается в форме существенного повышения концентрации глюкозы в плазме крови (в 1,35 раза; $p = 0,023$) по сравнению с практически здоровыми людьми (см. табл. 2). Это может быть обусловлено нейрогенным влиянием на глюкокортикоидную активность коры надпочечников, в результате чего усиливаются процессы гликогенолиза и глюконеогенеза, что приводит к гиперметаболической перестройке в организме. В то же время клетка в условиях гипоксии более интенсивно расходует глюкозу с образованием лактата. Кроме того, периферические ткани выбрасывают большие количества этого субстрата в системный кровоток для синтеза глюкозы в печени. Выраженность анаэробного гликолиза, характеризующего тканевую гипоксию, стандартно оценивают по концентрации лактата в крови [4, 8]. Нами было зафиксировано его увеличение в 2,27 раза ($p = 0,003$) по сравнению с усредненным показателем практически здоровых индивидуумов (см. табл. 2). Следует подчеркнуть, что у всех пациентов имела место сильная положительная корреляция между плазменным уровнем глюкозы и лактата ($r = 0,74$, $p = 0,031$). Это обусловлено тем обстоятельством, что в условиях гипоксии клетка поддерживает энергетические потребности за счет активации процессов анаэробного гликолиза, который частично компенсирует недостаток АТФ, однако быстро вызывает накопление лактата [15]. При этом усиливается ацидоз, что в свою очередь вызывает повреждение клеточных мембран, сопровождающееся инициацией процесса перекисного окисления липидов [8, 15].

Системность молекулярных механизмов нарушений различных компонентов метаболизма в раннем периоде ожоговой болезни подтверждает обнаружение корреля-

24

Таблица 2. Показатели энергетического и липидного обмена крови больных с термической травмой

Показатель	Контрольная группа (n =15)	Основная группа (n =60)
Глюкоза, ммоль/л	5,15±0,37	6,92±0,42*
Лактат, ммоль/л	1,65±0,16	3,75±0,29*
Церулоплазмин, мг/дл	50,84±6,01	56,30±2,96
Триглицериды, ммоль/л	1,92±0,47	1,96±0,12
ХЛ ЛПВП, ммоль/л	1,95±0,11	3,33±0,37*
ХЛ ЛПНП, ммоль/л	3,01±0,38	2,93±0,23
МДА плазмы, нмоль/мл	1,32±0,08	1,44±0,23
МДА эритроцитов, нмоль/мл	6,00±1,53	11,27±1,56*

Примечание. ХЛ ЛПВП — холестерол липопротеидов высокой плотности, ХЛ ЛПНП — холестерол липопротеидов низкой плотности, МДА — малоновый диальдегид.

ций между показателями, относящимися к различным функциональным блокам обмена веществ. В частности, установлена положительная корреляция между активностью ГГТ и концентрацией глюкозы ($r = 0,38$; $p = 0,019$), отражающая сопряженность энергетического обмена и процессов цитолиза. При этом известно, что увеличение активности ГГТ при термической травме происходит вследствие развития интоксикации и окислительного стресса, индуцирующих повышенную экспрессию фермента, в т.ч. и при кетоацидозе, сопровождающемся увеличением содержания глюкозы в крови.

Заключение

У пациентов с ожогами свыше 15% поверхности тела в ранние сроки после травмы наблюдаются вы-

раженные метаболические нарушения, проявляющиеся тканевой гипоксией (динамика содержания глюкозы и лактата плазмы), повышением активности трансаминаз (АСТ, АЛТ, ГГТ, КК, КК-МВ) и оксидоредуктаз (ЛДГ, ГБДГ) в плазме крови, угнетением детоксикационной системы организма (АлДГ) на фоне развития оксидативного стресса (резкое нарастание уровня МДА в эритроцитах) и нарушением липидного профиля (повышение концентрации ХЛ ЛПВП). Полученные данные, с одной стороны, расширяют представления о сопряженности метаболических сдвигов, формирующихся в ранний период ожоговой болезни (явление системной метаболической дезадаптации), а с другой — позволяют уточнить диагностическую информативность некоторых биохимических параметров крови в оценке состояния пациента с термической травмой.

ЛИТЕРАТУРА

1. Соловьёва А.Г., Мартусевич А.К., Перетягин С.П. Трансформация некоторых параметров физико-биохимического гомеостаза крови в раннем периоде ожоговой болезни. *Клин. лаб. диагностика*. 2012; 9: 77–78.
2. Тиунов Л.А. Механизмы естественной детоксикации и антиоксидантной защиты. *Вестник РАМН*. 1995; 3: 9–13.
3. Ушакова Т.А. Адаптивные реакции у тяжелообожженных в условиях интенсивной терапии. *Автореф. дис. ... докт. мед. наук. М.* 2008. 56 с.
4. Шанин Ю.Н., Шанин В.Ю., Зиновьев Е.В. Антиоксидантная терапия в клинической практике (теоретическое обоснование и стратегия проведения). *Санкт-Петербург: ЭЛБИ-СПб*. 2003. 128 с.
5. Шулаева Н.М., Куспиц Е.В., Шуковский В.В. Актуальные проблемы лечения синдрома эндогенной интоксикации у больных с тяжелой термической травмой. В сб.: *Избранные труды по комбустиологии. Саратов: Научная книга*. 2009. С. 120–135.
6. Мартусевич А.К., Перетягин С.П., Погодин И.Е. Метаболические аспекты ожогового эндотоксикоза. *Пат. физиол. и эксп. тер.* 2009; 1: 30–32.
7. Мартусевич А.К., Соловьёва А.Г., Мартусевич А.А., Перетягин П.В. Особенности функционально-метаболической адаптации организма в условиях травматического стресса. *Медицинский альманах*. 2012; 5: 175–178.
8. Назаренко Г.И., Кишкун А.А. Лабораторные методы диагностики неотложных состояний. *М.: Медицина*. 2002. 566 с.
9. Воробьев А.В., Мартусевич А.К., Соловьёва А.Г., Лузан А.С., Квицинская Н.А. Исследование метаболического статуса при ожоговой болезни. *Вестн. неот. и восст. медицины*. 2008; 3 (9): 338–341.
10. Кершенгольц Б.М., Серкина Е.В. Некоторые методические подходы к изучению метаболизма этанола. *Лабораторное дело*. 1981; 2: 126.
11. Сидоркин В.Г., Чулошникова И.А. Метод определения МДА в эритроцитах и плазме крови с помощью тиобарбитуровой кислоты. Авторское свидетельство СССР № 1807410. Опубликовано 07.04.1993 г. *Бюлл. № 13. М.* 1993.
12. Егорова М.О. Биохимическое обследование в клинической практике. *М.: Практическая медицина*. 2008. 143 с.
13. Березов Т.Т., Коровкин Б.Ф. Биологическая химия. *М.: Медицина*. 1998. 704 с.
14. Ашмарин И.П. Алкогольдегидрогеназа млекопитающих — объект молекулярной медицины. *Усп. биол. химии*. 2003; (43): 3–18.
15. Нагорная Н.В., Четверик Н.А., Фёдорова А.А., Куриленко Я.В. Энергетический обмен клетки в норме и патологии. Возможности его оценки. *В помощь педиатру*. 2008; 15 (6): 34–38.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Соловьёва Анна Геннадьевна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» МЗ РФ.

Адрес: 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18, **тел.:** (831) 436-25-31, **e-mail:** sannag5@mail.ru

Мартусевич Андрей Кимович, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» МЗ РФ.

Адрес: 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18, **тел.:** (831) 436-25-31, **e-mail:** cryst-mart@yandex.ru

Перетягин Сергей Петрович, доктор медицинских наук, руководитель отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» МЗ РФ.

Адрес: 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18, **тел.:** (831) 436-25-31, **e-mail:** psp-aro@mail.ru

Диденко Наталья Владимировна, лаборант-исследователь отделения экспериментальной медицины ФГБУ «ННИИТО» МЗ РФ.

Адрес: 603155, Нижний Новгород, Верхне-Волжская наб., д. 18, **тел.:** (831) 436-25-31, **e-mail:** natalika-nv@mail.ru

Х.А. Курданов, И.А. Бесланеев, Л.М. Батырбекова, М.Х. Курданова

Центр медико-экологических исследований — филиал ФГБУН ГНЦ РФ «Институт медико-биологических проблем» РАН, Нальчик, Российская Федерация

Адаптационные возможности основных регуляторных систем у больных с артериальной гипертензией в условиях высокогорья

26

Цель исследования: изучить параметры гемодинамики, спектрального анализа вариабельности ритма сердца (ВРС) и их связи с суммарной концентрацией стабильных метаболитов оксида азота (нитритов и нитратов) в крови у больных артериальной гипертензией, проживающих в высокогорье. **Пациенты и методы:** обследованы 110 коренных жителей высокогорных районов Приэльбрусья, которые были разделены на 2 группы — больные артериальной гипертензией II степени ($n=50$) и условно здоровые лица ($n=60$). Всем пациентам выполнено стандартное стационарное и амбулаторное обследование. Кроме того, проведены ЭКГ, ритмокардиография, ЭхоКГ, измерение артериального давления, УЗИ почек, щитовидной железы и осмотр глазного дна. Произведена оценка ВРС. **Результаты:** в группе больных артериальной гипертензией выявлено снижение параметров ВРС — общей мощности спектра, низкочастотных диапазонов VLF, LF и высокочастотного HF-диапазона. Основные показатели центральной и интракардиальной гемодинамики были достоверно выше у больных артериальной гипертензией на фоне снижения продукции оксида азота. **Выводы:** между низкочастотными параметрами ВРС, морфофункциональными показателями левого желудочка и содержанием оксида азота в крови у больных артериальной гипертензией установлены обратные достоверные корреляции.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, вариабельность ритма сердца, оксид азота, адаптация, высокогорье. (Вестник РАМН. 2014; 1–2: 26–31)

Введение

Оценка адаптационных возможностей человека к условиям высокогорья — сложная задача современной науки. Она требует поиска и применения таких методик, в которых интегрируются особенности взаимосвязанных функциональных систем организма, и которые являются малоинвазивными, портативными, высокотехнологичными и низкокзатратными.

Артериальная гипертензия (АГ) — ведущая причина смертности и инвалидизации населения урбанизированных стран мира, основной фактор риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и их осложнений [1]. Нарушение функции центральной и вегетативной нервной системы (ВНС), снижение продукции оксида азота (NO), изменение гемодинамических параметров являются важными факторами становления и прогрессирования АГ и развития ее осложнений [2, 3].

Kh.A. Kurdanov, I.A. Beslaneev, L.M. Bатыrbekova, M.Kh. Kurdanova

Center of Medical and Ecological Research — Branch of the Federal State Budgetary Institution of Science State Scientific Centre of the RF «Institute of Medical and Biological Problems» of RAS, Nalchik, Russian Federation

Adaptative Resources of the Main Regulatory Systems in Patients with Hypertension under the Highland Conditions

Aim: to study characteristics of hemodynamics, spectral analysis of heart rate variability (HRV) and their association with the total blood concentration of stable metabolites of nitric oxide (nitrites and nitrates) in patients with hypertension living in highlands. **Patients and methods:** 110 natives of the highlands of Elbrus region were examined. All of them were divided into 2 groups — with 2d stage of hypertension ($n=50$) and conditionally healthy ($n=60$). All the participants were performed routine examination under the conditions of hospitals and out-patient clinics. Moreover they were performed ECG, rhythm-cardiography, echo-CG evaluation of the blood pressure, renal and thyroid ultrasound and eye-ground examination. The assessment of HRV was made. **Results:** in the group of patients with hypertension there was decrease in the total power of HRV — TP, low frequency range — VLF, LF and high frequency range HF. The main characteristics of the central and intracardiac hemodynamics were significantly higher in patients with hypertension in decreasing of nitric oxide production. **Conclusions:** reverse reliable correlations were established between low frequency values of HRV, morpho-functional characteristics of the left ventricle and blood concentration of nitric oxide in patients with hypertension. **Key words:** hypertension, heart rate variability, nitric oxide, adaptation, highlands.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 26–31)

В последние годы для оценки состояния ВНС широко используют исследование вариабельности ритма сердца (ВРС). Анализ ВРС свидетельствует о том, что по мере увеличения системного артериального давления (АД) и степени АГ снижается общая ВРС, возрастают низкочастотные (симпатические) влияния, снижаются высокочастотные (парасимпатические) влияния на ритм сердца [4]. В то же время дисфункция эндотелия, которая выражается снижением продукции NO, вносит существенный вклад в регуляцию ВНС, АД, общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС) и распределения крови в сосудистой сети. NO поддерживает нормальную структуру сосудистой стенки и оказывает мощное противовоспалительное, антитромбогенное и цитопротективное действие. NO влияет на ростовые факторы, пролиферацию и апоптоз кардиомиоцитов, регулирует сократительную функцию миокарда, усиливает релаксацию желудочков и влияет на многие другие факторы, определяющие течение и прогноз болезни у пациентов с АГ [5].

Известно, что в условиях высокогорной гипоксии синтез NO увеличивается за счет адаптивных процессов: активации синтеза NO посредством NO-синтазы и нитритредуктазных свойств гемосодержащих белков (в частности, гемоглобина), а также снижения элиминации NO свободными радикалами кислорода [6, 7].

Комплексное изучение вегетативной регуляции ритма сердца, продукции NO и параметров гемодинамики может дополнить клинико-патогенетические особенности формирования и течения АГ в разных условиях среды и при воздействии других стрессовых факторов.

Цель исследования: изучить параметры гемодинамики, спектрального анализа ВРС и их связи с суммарной концентрацией стабильных метаболитов NO (нитритов и нитратов) в крови у больных АГ, проживающих в высокогорье.

Пациенты и методы

Участники исследования

В высокогорных районах Приэльбрусья было обследовано 110 коренных жителей. В исследование были включены следующие группы:

- 50 больных АГ II степени (22 мужчины и 28 женщин); средний возраст — $54 \pm 4,6$ года; средний индекс массы тела — $25,8 \pm 0,9$ кг/м²; длительность течения АГ — $15,8 \pm 3,2$ года.
- 60 условно здоровых лиц (29 мужчин и 31 женщина); средний возраст — $46,2 \pm 4,3$ года; средний индекс массы тела — $24,1 \pm 1,2$ кг/м².

Критерии включения: длительное наличие высоких цифр АД (более 159/98 мм рт.ст.), наличие АГ и факторов риска в анамнезе, отсутствие ассоциированных клинических состояний.

Критерии исключения:

- лица с признаками острых и/или обострения хронических воспалительных заболеваний, диагностированной стенокардией и другими формами ишемической болезни сердца или при наличии их в анамнезе;
- пациенты с нарушениями ритма и проводимости, с симптоматической гипертензией, с метаболическими и эндокринными нарушениями;
- лица, принимающие лекарственную терапию или продукты питания, влияющие на показатели ВРС или содержание стабильных метаболитов NO в крови.

Методы исследования

Всем пациентам было проведено общеклиническое, инструментальное, лабораторное и биохимическое стационарное и амбулаторное обследование. Дополнительно выполняли электрокардиографию (ЭКГ), ритмокардиографию на компьютерном комплексе «Ритм-1» (Украина) в течение 5 мин в положении лежа. Эхокардиографию (ЭхоКГ) проводили на аппарате Aloka SSD-500 (Япония). Измерения АД регистрировали автоматическими тонометрами AND, Omron (Япония) и мониторами АД Mobil-O-Graph (Нидерланды). Больным АГ проводилось УЗИ почек, щитовидной железы и осмотр глазного дна.

Анализ ВРС. Рассчитывали статистические характеристики динамического ряда: число кардиоинтервалов (NN), среднее квадратическое отклонение (SDNN), коэффициент вариации (CV). Показатели вариационной пульсометрии одно- и двумерного распределения — моду (M) и амплитуду моды (АМо %), характеризующую меру влияния симпатического отдела ВНС, — определяли по Р.М. Бавескому. Оценивали вторичные производные показатели вариационной пульсометрии: индекс напряженности (ИН), индекс вегетативной регуляции (ИВР), вегетативный показатель ритма (ВПР), показатель адекватности процессов регуляции (ПАПР). В частотной области ВРС определяли TP — общую мощность всех нормальных интервалов R-R (мс²) частотой <0,4 Гц — влияние нейрогуморальной регуляции. Исследовали спектральные плотности мощности (мс²) в диапазоне очень низких частот (VLF 0,003–0,04 Гц), отражающие влияние терморегуляторной и периферической моторной системы и межсистемной интеграции на уровне высших отделов головного мозга, эмоциональные и психогенные влияния на ВРС. LF — мощность в диапазоне низких частот (мс²), 0,04–0,15 Гц — отражает симпатические кардиальные влияния; HF — мощность в диапазоне высоких частот (мс²), 0,15–0,4 Гц — характеризует парасимпатические кардиальные влияния. Были также исследованы индекс вагосимпатической регуляции LF/HF и индекс централизации LF+VLF/HF, отражающий степень преобладания недыхательных составляющих синусовой аритмии над дыхательными волнами [8].

ЭхоКГ проводили по стандартной методике, в М, В и М/В-режиме. Для оценки центральной и периферической гемодинамики определяли и рассчитывали следующие показатели: частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), систолическое, диастолическое и среднединамическое артериальное давление (АДС, АДД, АД_{ср}, мм рт.ст.). Определяли размеры левого желудочка (ЛЖ) — КДР (см), КСР (см) и объемы ЛЖ — КДО (мл), КСО (мл), ударный объем — УО (мл), минутный объем кровообращения — МОК (л/мин), общее периферическое сосудистое сопротивление — ОПСС (дин*с/см³). Исследовали показатели глобальной сократимости: процент ударного выброса — фракция выброса (ФВ, %), скорость укорочения циркулярных волокон миокарда — Vcf (с⁻¹), степень укорочения переднезаднего размера ЛЖ в систолу — ОС (%). Массу миокарда ЛЖ определяли по формуле R.V. Devereux и соавт. [9]. Индекс массы миокарда ЛЖ определяли по формуле (ИММЛЖ, г/м² поверхности тела). Рассчитывали параметры, характеризующие геометрию ЛЖ: относительную толщину стенки (ОТС):

$$ОТС = \frac{ТМЖПд + ТЗСд}{КДР},$$

где ТМЖПд — толщина межжелудочковой перегородки в диастолу; ТЗСд — толщина задней стенки ЛЖ в диастолу; КДР — конечный диастолический размер ЛЖ.

Гипертрофию ЛЖ констатировали при ИММЛЖ >124 г/м² у мужчин и >109 г/м² — у женщин при ОТС $>0,42$ ед. (согласно рекомендациям Европейского общества кардиологов, 2007, и рекомендациям Всероссийского научного общества кардиологов (III), 2009) [10]. Функциональный индекс соответствия (ФИС) определяли как отношение УО/ММЛЖ (ед.). Индекс напряженности миокарда ЛЖ (ИН) — отношение АДС/КСО (ед.). Объемно-массовое отношение левого желудочка — КДО/ММЛЖ (ед.) [11].

Полученные данные индексировали на 1 м² поверхности тела: иКДО (мл/м²), иКСО (мл/м²), УИ (мл/м²), УПСС (дин*с/см³/м²), ИММЛЖ (г/м²).

Производство оксида азота (NO) оценивали по суммарному содержанию его стабильных метаболитов — нитритов (NO₂⁻) и нитратов (NO₃⁻) — в плазме крови и трижды отмытых эритроцитах (0,92% раствор хлорида натрия). Содержание NO в крови рассчитывали по суммарному содержанию NO₂⁻ и NO₃⁻ в плазме крови и эритроцитах. Пробы венозной крови для исследования брали утром натощак в объеме не менее 6 мл. Концентрацию NO₂⁻ определяли в безбелковых фильтратах плазмы крови и эритроцитов с помощью реактива Грисса по методу Грина в модификации А.В. Коцюруба [12]. В аликвоте безбелковой пробы определяли NO₂⁻, добавляя реактив Грисса в соотношении 1:1. Величину экстинкции измеряли на спектрофотометре «СФ-6-А» (Россия) при длине волны $\lambda = 543$ нм. Содержание NO₂⁻ рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для стандартных растворов нитрита натрия NaNO₂. Концентрацию NO₃⁻ определяли прямым методом в безбелковых аликвотах проб плазмы и эритроцитов с помощью спектрофотометрического метода [13]. К 1 мл безбелковой пробы добавляли 2,5 мл бруцинового реактива. Величину экстинкции определяли при длине волны $\lambda = 405$ нм. Содержание NO₃⁻ рассчитывали по калибровочной кривой, построенной для стандартных растворов нитрата натрия NaNO₃.

Статистическая обработка данных

Полученные результаты анализировали с применением пакета программ Microsoft Excel 14 for Windows и Statistica v. 6.1 (StatSoft Inc., США). Данные представлены в виде средних арифметических значений (M) и стандартных средних ошибок (m). Статистическую значимость различий средних значений определяли по *t*-критерию Стьюдента и критерию Вилкоксона. Связь признаков изучали при помощи линейной регрессии и корреляции Пирсона. Производные показатели вариационной пульсометрии и суммарную концентрацию метаболитов NO в плазме крови и эритроцитах сравнивали при помощи ранговой корреляции Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

После расчетов и статистической обработки параметров гемодинамики, морфофункциональных показателей ЛЖ, суммарной концентрации стабильных метаболитов оксида азота NO₂⁻ и NO₃⁻ в плазме крови и эритроцитах были получены результаты, обобщенные в табл. 1.

Как видно из таблицы, у больных с АГ II степени по сравнению с группой здоровых лиц увеличены значения иКДО и УИ на 17%, УПСС и ИММЛЖ — на 40 и 56%, соответственно. В группе больных АГ установлено снижение показателей сократимости миокарда ЛЖ (ФВ, ОС и Vcf) на 8–15%. ФИС в группе больных АГ оказался

достоверно выше (на 36%) по сравнению с группой здоровых лиц. Индекс напряжения миокарда ЛЖ значительно увеличен у больных АГ — на 65%, ОТС — достоверно выше в группе больных АГ (на 16%). Объемно-массовое отношение КДО/ММЛЖ достоверно снижено у больных АГ (на 36%).

Концентрация стабильных метаболитов NO (нитритов, NO₂⁻) была существенно (на 40%) снижена у больных АГ, равно как и концентрация нитратов, NO₃⁻ (на 42%). Суммарное содержание нитритов и нитратов в плазме крови и эритроцитах, отражающее содержание NO, у больных АГ снижено на 41%.

Основные показатели ВРС у больных с АГ и здоровых лиц представлены в табл. 2.

Все основные средние показатели частотной и временной области ВРС у больных АГ достоверно отличаются от таковых у здоровых индивидуумов. У больных АГ наблюдается снижение абсолютных значений как общей мощности спектра (TP), так и каждого из составляющих его диапазонов: очень низких частот — VLF, низких частот — LF, высоких частот — HF. При этом достоверно увеличиваются (в 1,8 раза) индекс вагосимпатической регуляции LF/HF и индекс централизации спектра LF+VLF/HF (в 2,9 раза). Эти данные свидетельствуют о преобладании симпатической активации ВНС у больных АГ. Избыточная активация симпатико-адреналовой системы и уменьшение активности парасимпатической системы регуляции говорят о развитии дезадаптивных процессов. У больных АГ выявлено снижение общей мощности спектра TP, в особенности ее высокочастотных компонентов, которые косвенно отражают влияние парасимпатической регуляции нервной системы (HF). Выявлено снижение общей мощности в диапазоне VLF, LF в группе больных АГ. Чем выше мощность спектра TP, тем лучше функциональное состояние и выше адаптационный потенциал организма. Об этом свидетельствует значение SDNN, которое у больных АГ достоверно ниже, чем у здоровых лиц, а показатель симпатико-вагального баланса — LF/HF — выше у больных АГ. Низкие значения отношения LF/HF, LF+VLF/HF в группе здоровых лиц и более высокие значения HF указывают на меньшую симпатико-адреналовую активность и более выраженные вагусные влияния на ритм сердца. Это подтверждают более низкие значения таких показателей, как ИН, ИВР и ПАРС, отражающих меньшую централизацию регуляции сердечного ритма, лучшее функциональное состояние и большие адаптационные возможности организма у здоровых лиц. Увеличение ИВР, ВПР и снижение SDNN и HF говорят о большем напряжении регуляторных и адаптивных механизмов у больных АГ, чем у здоровых лиц, и о смещении вегетативного баланса в область преобладания симпатических влияний. Большое значение имеют факторы централизации регуляторных механизмов и симпатических влияний — LF+VLF/HF, VLF и АМо. Преобладание VLF-компонента в структуре спектральной мощности у больных АГ обусловлено превалирующими церебральными эрготропными влияниями над трофотропными.

Таким образом, значимыми при процессах адаптации являются изменения ВРС в частотной области и характеристики временного и статистико-динамического ряда.

При расчете статистических данных были обнаружены корреляции в группе больных АГ.

Выявленные нарушения регуляторных систем связаны с ослаблением нейрогуморальных влияний на ВРС, о чем свидетельствуют отрицательные корреляционные связи между показателями АДС, АДД, АДСр и АМо, ИН

Таблица 1. Основные показатели гемодинамики, морфофункциональные показатели левого желудочка и содержание стабильных метаболитов NO, NO₂⁻ и NO₃⁻ в крови у больных артериальной гипертонией, проживающих в высокогорье

Показатели	Группы	Здоровые лица (n =60)	Больные АГ II ст. (n =50)	p
АДС, мм рт.ст.		118,7±3,2	171,3±3,6	<0,01
АДср., мм рт.ст.		87,2±2,4	126,9±2,8	<0,01
иКДО, мл/м ²		59,3±0,53	69,6±1,3	<0,01
УИ, мл/м ²		37,4±0,4	42,2±0,8	<0,05
УПСС, дин*с/см ³ на м ²		829,5±12,2	1162,6±12,8	<0,01
ИММЛЖ, г/м ²		81,8±3,2	127,8±3,6	<0,01
ФВ, %		64,7±0,9	59,4±1,5	<0,05
ОС, %		34,5±0,6	29,2±0,78	<0,01
Vcf, с ⁻¹		1,32±0,06	1,12±0,08	<0,05
ОТС, ед.		0,36±0,001	0,42±0,002	<0,01
УО/ММЛЖ, ед.		0,46±0,004	0,34±0,006	<0,01
АДС/КСО, ед.		2,34±0,08	3,89±0,1	<0,01
КДО/ММЛЖ, ед.		0,73±0,002	0,54±0,003	<0,01
NO ₂ ⁻ в крови, мкмоль/л		25,2±1,5	14,9±1,2	<0,01
NO ₃ ⁻ в крови, мкмоль/л		110,6±5,1	65,3±3,1	<0,01
NO в крови, мкмоль/л		135,8±4,6	80,2±7,4	<0,01

Примечание (здесь и в табл. 2–4). p — достоверность различий между группой здоровых лиц и группой больных АГ. АДС — систолическое артериальное давление; АДд — диастолическое артериальное давление; АДср — среднединамическое артериальное давление; иКДО — индекс конечно-диастолического объема, мл/м² поверхности тела; УПСС — удельное периферическое сосудистое сопротивление; ИММЛЖ — индекс массы левого желудочка, гр/м² поверхности тела; ОТС ЛЖ — относительная толщина стенки левого желудочка, ед.; УИ — ударный индекс = ударный выброс (УО, мл) на м² поверхности тела; ФВ — процент ударного выброса из левого желудочка в систолу; ОС — степень укорочения переднезаднего размера левого желудочка в систолу; Vcf, с⁻¹ — средняя скорость циркулярного укорочения волокон миокарда в систолу; УО/ММЛЖ — функциональный индекс соответствия, ед.; АДС/КСО — индекс напряженности миокарда, ед.; КДО/ММЛЖ — объемно-массовое отношение ЛЖ, ед.; NO₂⁻ — суммарная концентрация нитрит-анионов в плазме крови и эритроцитах; NO₃⁻ — суммарная концентрация нитрат-анионов в плазме крови и эритроцитах; NO — суммарная концентрация нитрит- и нитрат-анионов в плазме крови и эритроцитах.

Таблица 2. Основные показатели вариабельности ритма сердца у больных артериальной гипертонией, проживающих в высокогорье

Показатели	Группы	Здоровые лица (n =60)	Больные АГ II ст. (n =50)	p
NN, ед.		368,3±6,4	407,5±9,2	<0,05
SDNN, мс		118,7±4,3	93,3±6,2	<0,01
CV, %		9,43±0,9	5,12±0,54	<0,01
ИН, ед.		70,5±12,3	269,2±22,5	<0,01
АМо, %		36,5±1,8	53,2±1,7	<0,01
ИВР, ед.		126,3±7,1	270,2±9,63	<0,01
ВПР, ед.		3,1±0,15	5,05±0,43	<0,01
ПАРС, ед.		46,7±2,5	78,6±3,5	<0,01
TP, мс ² /Гц		2898,9±105,2	1558,4±93,7	<0,01
VLF, мс ² /Гц		841,4±32,6	732,3±30,3	<0,01
LF, мс ² /Гц		10702±42,3	567,4±57,6	<0,01
HF, мс ² /Гц		987,3±40,6	258,7±46,5	<0,01
LF/HF, ед.		1,08±0,1	2,19±0,1	<0,01
(LF+VLF)/HF, ед.		1,69±0,08	5,02±0,11	<0,01

Примечание (здесь и в табл. 3, 4). p — достоверность различий между группой здоровых лиц и группой больных АГ. NN — общее число всех нормальных кардиоинтервалов; SDNN — среднее квадратическое отклонение кардиоинтервалов NN; CV — коэффициент вариации кардиоинтервалов (аналогичен SDNN); ИН — индекс напряжения регуляторных систем организма, отражающий степень централизации регуляции ритма сердца; АМо, % (амплитуда моды) — число кардиоинтервалов в модальном ряду длительностью 5×10⁻³ с; ИВР (индекс вегетативного равновесия) — соотношение между активностью симпатического и парасимпатического отдела ВНС; ВПР (вегетативный показатель ритма) — показатель вегетативного баланса организма; ПАРС (показатель адекватности процессов регуляции) — соответствие между активностью симпатического отдела ВНС и уровнем доминирования синусового узла; TP — общая мощность всех R-R интервалов; VLF — мощность в диапазоне очень низких частот; LF — мощность в диапазоне низких частот; HF — мощность в диапазоне высоких частот; LF/HF — симпатиковагальный индекс; LF+VLF/HF — индекс централизации, отражающий степень преобладания недыхательных составляющих синусовой аритмии над дыхательными составляющими.

и ПАПР. Они сопровождаются ростом АД, ОПСС, напряженностью регуляторных и снижением адаптивных процессов.

Полученные в исследовании данные согласуются с результатами исследований среди жителей равнины, но отличаются общей мощностью спектра ВРС и концентрацией NO в крови, которые выше как у здоровых лиц, так и у больных АГ [14, 15].

Обсуждение

Учитывая вышеприведенные данные, можно сделать вывод о существенном вкладе изменений частотного спектра ВРС, параметров гемодинамики и продукции NO в процессы долговременной адаптации к гипоксии, как у здоровых лиц, так и у больных АГ. При этом все перечисленные параметры регуляции интегрированы, и нарушение в одной из систем отражается на всех уровнях регуляции организма: в сегментарных (парасимпатические ядерные структуры продолговатого мозга) и надсегментарных (гипоталамус, лимбическая система, ретикулярная формация). Долговременная адаптация к высокогорной гипоксии с ее характерными климатическими факторами может служить моделью адаптации к другим стрессовым факторам, имеющим свою специфику функциональных систем, не связанных с гипоксией.

У больных АГ в условиях высокогорья снижается общая мощность спектра ВРС с преобладанием сверхнизкочастотных VLF и низкочастотных LF-колебаний спектра, уменьшается высокочастотный диапазон HF, и снижаются характеристики временного и динамического ряда ВРС (SDNN, SV). Кроме того, у больных АГ имеет место снижение продукции NO с развитием характерных изменений гемодинамики и морфофункциональной структуры ЛЖ, что вносит существенный вклад в характеристики показателей волновой структуры ритма.

Параметры интракардиальной гемодинамики и показатели морфофункциональной структуры ЛЖ у больных АГ значительно отличаются от показателей в группе здоровых лиц как увеличением АДС, АДД, АДСр, так и ИММЛЖ, ОТС ЛЖ, УПСС, которые значительно превышают показатели здоровых индивидуумов. Индекс сократимости миокарда ЛЖ умеренно снижен. Функциональный индекс соответствия миокарда также снижен у больных АГ (на 35%), что свидетельствует о сниженной производительности миокарда (на 1 мл ударного выброса задействовано больше миокарда, чем у здоровых лиц). Объемно-массовое отношение КДО/ММЛЖ достоверно

снижено у больных АГ (на 36%), что характерно для развития гипертрофии миокарда ЛЖ.

Продукция NO является одним из ключевых факторов адаптации к условиям высокогорной гипоксии, активно участвующих в регуляции функции эндотелия, синаптической регуляции, синтезе и активности ацетилхолина, брадикинина, эритропоэтина, эндотелина и многих других биологически активных веществ. Утрата антипролиферативных и антитромбоцитарных эффектов при дефиците NO обуславливает процессы ремоделирования миокарда, повышение АД, ОПСС и развитие гипертрофии ЛЖ у больных АГ. Нейрональная NO-синтаза блокирует синтез норадреналина и симпатическую активность, способствует секреции гормонов лимбической, гипоталамической и гипофизарной системы. NO тесно интегрирован в процессы регуляции ЦНС и ВНС как через прямое воздействие на пластичность нейронов, ядерных структур и ганглиев, так и посредством регуляции эластичности сосудов и регуляции мозгового кровотока. NO участвует в регуляции частоты сердечных сокращений, частоты дыхания и многих других процессов, определяющих показатели ВРС.

Между спектральными составляющими ВРС (VLF, LF) уровнями АДС, АДД, АДСр и концентрацией NO в крови существуют обратные корреляции, наиболее выраженные у больных АГ (табл. 3). При этом чем выше уровень системного АД и длительность заболевания, тем более выражены корреляции. Между концентрацией NO в крови и морфофункциональными характеристиками левого желудочка ИКДО, ИММЛЖ, ОТС ЛЖ, УИ, УПСС существуют обратные связи, более выраженные у больных АГ.

Между параметрами центральной гемодинамики АДС, АДД, АДСр УИ и спектральными диапазонами ВРС (VLF, LF) выявлены прямые связи, более выраженные в группе больных АГ. Между АДС, АДД, АДСр и диапазоном HF установлены обратные корреляции.

Между параметрами центральной гемодинамики и концентрацией NO в крови выявлены обратные связи с АДС, АДД, АДСр. Между АДСр и УПСС, ОТС, ИММЛЖ установлены прямые корреляции, более выраженные в группе больных АГ, чем в группе здоровых лиц.

Между ВПР, ПАПР, АМо, спектральными диапазонами ВРС (VLF, LF, HF) и концентрацией NO в крови имеются обратные корреляции (табл. 4).

Неблагоприятными для течения АГ в условиях высокогорья являются следующие показатели ВРС:

- снижение общей мощности спектра — TP, SDNN;
- снижение мощности в диапазоне HF; возрастание мощности в диапазонах VLF, LF;

Таблица 3. Корреляционная матрица (коэффициенты корреляции Пирсона) между основными параметрами variability ритма сердца, гемодинамики, морфофункциональной структурой левого желудочка, концентрацией NO в крови в группе больных артериальной гипертензией

n =50	VLF	LF	HF	LF/HF	SDNN	ИН	ПАПР	АМо %	NO
АДС	0,797*	0,794*	-0,575*	0,653*	-0,612*	-0,428*	-0,389*	-0,439*	-0,894*
АДД	0,707*	0,696*	-0,455*	0,452*	-0,624*	-0,837*	-0,302*	-0,411*	-0,768*
АДСр	0,792*	0,773*	-0,488*	0,538*	-0,593*	-0,722*	-0,388*	-0,426*	-0,892*
УПСС	0,398*	0,468*	-0,397*	0,322*	н.д.	0,752*	н.д.	н.д.	-0,578*
ИММЛЖ	0,572*	0,394*	-0,427*	н.д.	-0,306*	-0,304*	0,336*	-0,436*	-0,563*
ОТС ЛЖ	0,588*	0,587*	-0,442*	н.д.	-0,368*	-0,405*	0,434*	0,366*	-0,487*
ИКДО	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	н.д.	-0,488*
NO	-0,577*	-0,499*	0,478*	н.д.	0,475*	-0,478*	-0,366*	-0,496*	1

Примечание. * — достоверность различий между коэффициентами корреляции ($p < 0,05$), н.д. — достоверность различий между коэффициентами корреляции ($p > 0,05$). ПАПР — показатель адекватности процессов регуляции.

Таблица 4. Корреляционная матрица (коэффициенты корреляции Спирмена) между основными параметрами вариабельности ритма сердца и концентрацией NO в крови в группе больных артериальной гипертензией

n = 50	ВПП	ПАПР	АМо %	VLF	LF	HF	SDNN
NO	-0,89*	-0,57*	-0,55*	-0,58*	-0,56*	-0,48*	0,47*

Примечание. * — достоверность различий между коэффициентами корреляции ($p < 0,05$).

- увеличение отношения LF/HF, увеличение индекса централизации;
- снижение показателей статистического и динамического ряда.

Выраженные изменения спектральных и временных показателей ВРС свидетельствуют о вегетативном дисбалансе, прогрессирующем при высоких цифрах АД и длительном течении АГ. Значительное преобладание симпатических вегетативных влияний над парасимпатическими влияниями, снижение продукции NO у больных АГ ассоциировано с развитием угрожающих для жизни ослож-

нений и высоким риском поражений органов-мишеней, что значительно снижает их адаптивные возможности.

Заключение

Исходя из вышеперечисленного, можно констатировать сложность и многоуровневую интеграцию процессов регуляции основных физиологических систем в условиях высокогорной гипоксии как у здоровых лиц, так и больных с АГ.

ЛИТЕРАТУРА

1. ESH-ESC Guidelines Committee. 2007 guidelines for the management of arterial hypertension. *J. Hypertension*. 2007; 25: 1105–1187.
2. Alter P., Grimm W., Vollrath A., Czerny F., Maisch B. Heart rate variability in patients with cardiac hypertrophy relation to left ventricular mass and etiology. *Am. Heart J.* 2006; 151 (4): 829–836.
3. Li H., Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease. *J. Pathology*. 2000; 90: 244–254.
4. Баевский Р.М., Иванов Г.Г. Вариабельность сердечного ритма: теоретические аспекты и возможности клинического применения. *Ультразвуковая и функциональная диагностика*. 2001; 3: 106–127.
5. Лупинская З.А., Зарифьян А.Г., Гурович Т.Ц., Шлейфер С.Г. Эндотелий. Функция и дисфункция. Бишкек. *Барыс Кыргызко - Российский Славянский Университет им. Б.Н. Ельцина (КРСУ)*. 2008. С. 34–220.
6. Манухина Е.Б. Продукция и депонирование NO при адаптации к гипоксии. *Известия РАН. Серия «Биология»*. 1999; 2: 211–215.
7. Реутов В.П., Сорокина Е.Г., Каюшин Л.П. Цикл окиси азота в организме млекопитающих и нитритредуктазная активность гемсодержащих белков. *Вопр. мед. химии*. 1994; 40 (6): 31–35.
8. Конради А.О., Захаров Д.В., Рудоманов О.Г. Яковлева О.И., Герасимович С.А., Шляхто Е.В. Спектральный анализ ВРС при различных вариантах ремоделирования левого желудочка у больных гипертонической болезнью. *Артериальная гипертензия*. 2000; 2: 33–38.
9. Devereux R.B., Alonso D.R., Lutas E.M., Gottlieb G.J., Campo E., Sachs I., Reichel N. Echocardiographic assessment of left ventricular hypertrophy: comparison to necropsy findings. *Am. J. Cardiology*. 1986; 57: 450–458.
10. Всероссийское научное общество кардиологов. Национальные клинические рекомендации. М.: *МЕДИ Экспресс*. 2009. С. 7–34.
11. Нечесова Т.А., Коробко И.Ю., Кузнецова Н.И. Ремоделирование левого желудочка: патогенез и методы оценки. *Медицинские новости*. 2008; 11: 7–13.
12. Коцюруба А.В., Семикопна Т.В., Викторов О.П., Митченко О.И., Буханевич О.М., Гула Н.М. Декларационный патент на винахід 31600. *Бюлл. № 7–11*. С. 5. А15.12.2000. Спосіб кількісного визначенні нітрит-аніону в біологічній рідині (способ количественного определения нитрит-аниона в биологической жидкости).
13. Schmidt H.H.W. Determination of NO via measurement of nitrite and nitrate in culture media. *Biochemica*. 1995; 2: 22–34.
14. Назарова О.А., Шутемова Е.А., Фомин Ф.Ю., Кадникова Ю.В., Келеш М.В. Нейрогуморальная регуляция у пожилых больных артериальной гипертензией с различными типами ремоделирования миокарда. *Вестн. аритмол.* 2005; 40: 45–48.
15. Мульгановский Б.Л., Лешинский Л.А., Кузелин Ю.Л. Влияние артериальной гипертензии на частотные показатели вариабельности сердечного ритма по данным суточного мониторинга электрокардиограммы. *Вестн. аритмол.* 2005; 40: 39–44.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Бесланев Ильяс Амалиевич, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Отдела клинической медицины и физиологии ЦМЭИ-ГНЦ РФ-ИМБП РАН

Адрес: 360021, Нальчик, пр-т Шогенцукова, д. 40, тел.: (8662) 44-23-90, e-mail: ibisl@yandex.ru

Курданов Хусейн Абукаевич, доктор медицинских наук, заслуженный деятель науки РФ, главный научный сотрудник, директор ЦМЭИ-ГНЦ РФ-ИМБП РАН

Адрес: 360021, Нальчик, пр-т Шогенцукова, д. 40, тел.: (8662) 44-31-55, (8662) 47-32-73, e-mail: kurdanov@yandex.ru

Батырбекова Луиза Магомедовна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, заведующая Отделом клинической медицины и физиологии ЦМЭИ-ГНЦ РФ-ИМБП РАН

Адрес: 360021, Нальчик, пр-т Шогенцукова, д. 40, тел.: (8662) 44-31-55, (8662) 47-32-73, e-mail: kurdanov@yandex.ru

Курданова Марьям Хусейновна, кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник Отдела физиологии и патологии высокогорья, ученый секретарь ЦМЭИ-ГНЦ РФ-ИМБП РАН

Адрес: 360021, Нальчик, пр-т Шогенцукова, д. 40, тел.: (8662) 44-31-55, (8662) 47-32-73, e-mail: maryamk@yandex.ru

К.Х. Захидова

Азербайджанский государственный институт усовершенствования врачей им. А. Алиева, Баку

Взаимосвязь между концентрацией патологических цитокинов и эритропоэтина у больных хронической сердечной недостаточностью с анемическим синдромом

32

Цель исследования: изучить взаимосвязь между концентрацией патологических цитокинов и эритропоэтина у больных хронической сердечной недостаточностью (ХСН) с анемией, а также доказать важность этой связи для необходимости назначения эритропоэтинстимулирующих средств. **Пациенты и методы:** обследовано 94 больных ХСН III–IV функционального класса по NYHA с анемией (58 мужчин и 36 женщин). Диагноз анемии подтверждали при концентрации гемоглобина менее 120 г/л у мужчин и менее 110 г/л у женщин. Причиной ХСН являлась ишемическая болезнь сердца (ИБС) (постинфарктный кардиосклероз) ($n=45$) либо ИБС с сахарным диабетом (СД) 2-го типа ($n=15$), либо ИБС с артериальной гипертензией (АГ) ($n=14$), либо ИБС + АГ + СД ($n=20$). У всех больных определяли содержание ферритина, трансферрина, эритропоэтина (ЭПО), N-терминального предшественника мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), патологических цитокинов, до и через 6 мес лечения метоксиполиэтиленгликоль-эпоитином- β (МЭБ). МЭБ назначали больным без дефицита железа. Все больные были рандомизированы на 2 группы. I группа ($n=46$) получала традиционную терапию, включающую ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента, дигоксин, β -блокаторы, диуретики, а II группа ($n=48$) — традиционную терапию в сочетании с МЭБ в дозе 0,60 мкг/кг (50 ЕД) 1 раз/мес подкожно в течение 6 мес. **Результаты:** во II группе больных с ХСН и анемией по сравнению с I группой концентрация Hb увеличилась на 22,4% ($p<0,05$), а ЭПО в сыворотке крови — до нормальных цифр ($29,3\pm 4,3$; $p<0,001$), причем повышение содержания ЭПО вызвало подавление цитокиновой активации. Наблюдали снижение концентрации интерлейкина (IL) 1 β на 36,6% ($p<0,001$), IL 6 — на 54,3% ($p<0,05$), фактора некроза опухоли (TNF) α — на 48,3% ($p<0,05$). Фракция выброса левого желудочка в группе больных ХСН с анемией, получивших МЭБ, повысилась на 19,04% ($p<0,05$). Исходно сниженная толерантность к физической нагрузке (по данным теста с шестиминутной ходьбой) в группе МЭБ по сравнению с плацебо также оказалась достоверно возросшей (на 76,6%; $p<0,05$). **Заключение:** коррекция анемического синдрома при ХСН с применением МЭБ эффективно устраняет эритропоэтиновую недостаточность и связанную с ней цитокиновую агрессию и анемию у больных ХСН с анемией.

Ключевые слова: сердечная недостаточность, анемия, эритропоэтин, цитокины.
(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 32–37)

K.Kh. Zahidova

Azerbaijan State Advance Training Institute for Doctors, Baku

Correlation Between Concentration of Pathological Cytokines and Erythropoietin in Patients with Chronic Heart Failure with Anemic Syndrome

Aim: to study correlation between concentration of pathological cytokines and erythropoietin in patients with chronic heart failure with anemic syndrome and also to prove importance of this communication for need of appointment erythropoietin excitants. **Patients and methods:** 94 patients with chronic heart failure of New York Heart Association (NYHA) class III–IV a left ventricular ejection fraction of 40% or less with anemia were included in investigation (58 males, 36 females). Anemia was detected when hemoglobin (Hb) was less than 120 g/l in males and less than 110 g/l in females. 46 patients received traditional treatment of CHF (I group) and 48 patients were treated additionally with erythropoietin (EPO) (II group). Percutaneous EPO 50 IU monthly to patients without iron deficiency for a period of 6 months. Echocardiography parameters, plasma NT and pro-BNP, cytokines, EPO, ferritin and 6-minute walking test were assessed at baseline and after treatment. **Results:** in patients with CHF and anemia in II group erythropoietin treatment increased Hb levels by 22,4% ($p<0,05$) and erythropoietin serum levels by $29,3\pm 4,3$ IU/ml ($p<0,001$). Increased erythropoietin level was associated with decrease of cytokines levels: IL 1 by 36,6% ($p<0,001$), IL 6 by 54,3% ($p<0,05$), TNF α by 48,3% ($p<0,05$) compared with patients in I group. In erythropoietin-treated patients there is a significant increase of LVEF by 19,04% ($p<0,05$) compared with patients from I group. A greater 6-minute distance walked on exercise testing increased by 76,6% ($p<0,05$) after treatment with erythropoietin. **Conclusions:** Correction of anemia in patients with chronic heart failure with percutaneous erythropoietin injections 50 IU monthly for 6 month period to improve erythropoietin deficit and cytokines aggression and associated anemia, symptoms and quality of life.

Key words: heart failure, anemia, erythropoietin, cytokines.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 32–37)

Введение

Анемия широко распространена среди пациентов с хронической сердечной недостаточностью (ХСН) и встречается у 7–50% больных, имеет большое клиническое значение и является независимым предиктором смертности [1]. В исследовании PRAISE установлено, что при снижении гематокрита на 1% риск смерти у больных ХСН III–IV функционального класса (ф.к.) по NYHA возрастает на 11% [2]. Из возможных причин анемии большой интерес представляет повышение продукции патологических цитокинов, в частности фактора некроза опухоли (TNF) α, способного вызвать как иммунодепрессию, так и снижение активности эритропоэтина (ЭПО), образования эритроцитов в красном костном мозге и метаболизма железа [3]. A. Volger и соавт. установили тесную взаимосвязь между содержанием циркулирующего TNF и концентрацией гемоглобина (Hb) у больных с тяжелой ХСН [4]. Активация TNF α снижает чувствительность рецепторов к ЭПО, нарушает высвобождение и утилизацию железа [5]. Развитие анемии у пациентов с ХСН может быть с низким или повышенным содержанием ЭПО [6]. У пациентов с ХСН IV ф.к. по NYHA уровень ЭПО в плазме возрастает в 6 раз [7]. С другой стороны, у больных ХСН в 37% случаев встречается дефицит железа. E.A. Yankowska и соавт. в своих исследованиях показали значительно худшую выживаемость пациентов с ХСН и железодефицитом по сравнению с больными, имеющими нормальный метаболизм железа, причем в этом же исследовании было указано, что пациенты без анемии в 32% случаев имели железодефицит [8].

Растущее осознание того, что ХСН, почечная недостаточность и анемия часто являются сопутствующими заболеваниями, которые могут взаимно усугубиться в порочном круге, привело к созданию концепции кардиоренального анемического синдрома (КРАС), предложенного D.S. Silverberg [9]. В 2011 г. клиницисты

дополнили данный синдром железодефицитом: кардиоренальный анемический железодефицитный синдром (КРАЖДС) [10].

Таким образом, как было указано выше, в указанной проблеме много противоречивых мнений как в установлении патогенетических звеньев анемии, так и в терапевтической тактике. Должна ли лечебная тактика быть направлена на подавление цитокиновой агрессии или устранение дефицита ЭПО?

Цель исследования: установить взаимосвязь между уровнем циркулирующих патологических цитокинов и ЭПО у больных ХСН с анемией и дать оценку данной взаимосвязи для разработки лечебной тактики.

Пациенты и методы

Участники исследования

Обследовано 94 больных ХСН с III–IV ф.к. по NYHA и анемией, из них 58 мужчин и 36 женщин (табл. 1). Средний возраст больных составил 59,7±1,6 года.

У всех больных диагностировали анемию при концентрации гемоглобина (Hb) менее 120 г/л у мужчин и менее 110 г/л у женщин. Причиной ХСН являлась ишемическая болезнь сердца (ИБС) (постинфарктный кардиосклероз) (*n* =45), ИБС в сочетании с сахарным диабетом (СД) 2-го типа (*n* =15), ИБС с артериальной гипертензией (АГ) (*n* =14) либо ИБС + АГ + СД (*n* =20).

Методы исследования

У всех больных определяли концентрацию ферритина, трансферрина, ЭПО, N-терминальный предшественник мозгового натрийуретического пептида (NT-proBNP), патологических цитокинов до и после 6 мес лечения (табл. 2).

Патологические цитокины сыворотки крови — интерлейкин (IL) 1, 6 и TNF α — определяли посредством тест-систем при помощи иммуноферментного анализа по

Таблица 1. Клиническая характеристика обследованных

Показатель	I группа (<i>n</i> =46)		II группа, получившая терапию МЭБ (<i>n</i> =48)	
	Абс.	%	Абс.	%
Возраст, годы	61,7±1,6	—	59,7±1,6	—
Мужчины	30	65,2	25	52
Женщины	19	41,3	20	41,6
Перенесенный ИМ	22	47,8	23	47,9
Артериальная гипертензия	24	52,1	20	41,6
ИБС + АГ	8	17,3	6	12,5
ИБС + СД 2-го типа	8	17,3	7	14,5
ИБС + СД + АГ	11	23,9	9	18,7
Нарушения ритма сердца: ЖЭ II–IV градации по Lown	23	50	14	29,1
Перенесенные АКШ	2	4,3	5	10,41
Ангиопластика КА	7	15,2	6	12,5
Курение	12	26	7	14,5
Предшествующее лечение:				
— ингибиторы АПФ	12	26	10	20,8
— нитраты	4	8,6	2	4,16
— диуретики	42	91,3	46	95,8
— дигоксин	21	45,6	24	50
— β-блокаторы	10	21,7	8	16,6

Примечание. МЭБ — метоксиполиэтиленгликоль-эпоэтин-β, ИМ — инфаркт миокарда, ИБС — ишемическая болезнь сердца, АГ — артериальная гипертензия, СД — сахарный диабет, ЖЭ — желудочковая экстрасистолия, АКШ — аортокоронарное шунтирование, КА — коронарные артерии, АПФ — ангиотензинпревращающий фермент.

Таблица 2. Лабораторно-функциональная характеристика обследованных

Лабораторные показатели	I группа с ХСН и анемией исходно (n =46)	II группа ХСН с анемией исходно (n =48)
Гемоглобин, г/л	100,6±9	93,2±10
Эритропоэтин, МЕ/мл	2,01±0,3	1,87±0,1
Ферритин плазмы, мкг/л	103,7±13,1	104,3±18,5
Насыщение трансферрина, %	27,5±11,3	26,8±6,4
IL 1β, пг/мл	9,46±1,16	7,04±0,71
IL 6, пг/мл	12,41±2,21	11,8±2,6
TNF α, пг/мл	10,41±2,91	11,67±3,1
C-реактивный белок, мг/мл	8,4±4,3	9,1±4,3
NT-proBNP, фмоль/мл	374,3±73	387,4±52,3
Аланинаминотрансфераза	21,4±11,2	18,3±7,9
Аспаратаминотрансфераза	22,1±9,8	21,4±6,8
Креатинин, мг/дл	0,8±0,02	0,7±0,01
Скорость клубочковой фильтрации	65,2±20,4	64,2±20,8
Функциональные показатели:		
ФВЛЖ, %	30,1±3,4	31,5±4,2
Вес, кг	78,0±13,1	76,5±12,8
Артериальное давление, мм рт.ст.:		
– систолическое	118±14	119±13
– диастолическое	70±10	72±9
Пульс, уд/мин	85±10	93±3,6
Тест с шестиминутной ходьбой, м	232±11	231±10

Примечание. IL — интерлейкин, TNF α — фактор некроза опухоли альфа, NT-proBNP — N-терминальный предшественник мозгового натрийуретического пептида, ФВЛЖ — фракция выброса левого желудочка.

34

стандартной методике на автоматических анализаторах. Уровень NT-proBNP в крови оценивали иммобилизацией антител посредством реактива Biomedica (Австрия). Содержание ЭПО и ферритина в крови определяли на автоматических анализаторах иммуноферментным методом. Все больные были разделены на 2 рандомизированные группы: в I вошли 46 пациентов с ХСН, которым была назначена базисная терапия ХСН, а во II (основную) группу — 48 пациентов с ХСН и анемией, получавших с базисными препаратами метоксиполиэтиленгликоль-эпоитин-β (МЭБ).

МЭБ назначали больным без железodefицита. Дефицит железа устанавливали при концентрации ферритина менее 100 мкг/л и при концентрации 299 мкг/л, если насыщение трансферрином составляло менее 20%. Согласно протоколу исследования, критериями исключения явились тяжелая или злокачественная АГ, острые нарушения мозгового кровообращения давностью менее 12 месяцев, острый инфаркт миокарда давностью 6 мес, острый коронарный синдром, обструктивные заболевания легких, психические расстройства.

Все пациенты, включенные в протокол исследования до начала программы лечения, получали следующую медикаментозную терапию: ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), пролонгированные нитраты, диуретики, дигоксин, β-адреноблокаторы. МЭБ назначали больным 1 раз/мес в дозе 0,60 мкг/кг подкожно (50 ЕД) на протяжении 6 мес. Если концентрация гемоглобина увеличивалась менее чем на 10 г/л в течение 1 мес, дозу МЭБ увеличивали примерно на 25% ежемесячно вплоть до достижения индивидуального целевого уровня Hb. Если увеличение концентрации Hb превышало 20 г/л в месяц, или концентрация Hb увеличивалась и приближалась к 120 г/л, то дозу МЭБ снижали примерно на 25%. Если же концентрация Hb продолжала увеличиваться, то лечение прерывали до тех пор, пока Hb не начнет снижаться.

Клиническую эффективность, лабораторно-функциональные показатели и безопасность назначения МЭБ оценивали на фоне использования базовой традиционной терапии ХСН. Учитывали самочувствие пациентов, исходный уровень и динамику толерантности к физической нагрузке по данным велоэргометрии и теста с шестиминутной ходьбой.

Наблюдение за пациентами в процессе лечения МЭБ продолжали на протяжении 6 мес. Исходно и через 6 мес наблюдения выполняли клинико-функциональные и лабораторные исследования.

Каждый пациент давал письменное информированное согласие на участие в исследовании, на протяжении которого вел дневник наблюдения, куда ежедневно записывал сведения о самочувствии, толерантности к физической нагрузке, самостоятельно измеренном артериальном давлении и частоте сердечных сокращений. При клинической оценке критериями хорошего эритропоэтического эффекта считали повышение концентрации Hb, регресс симптоматики сердечной недостаточности, снижение суточной потребности в диуретиках, а также повышение толерантности к физической нагрузке на 30–40% и более по сравнению с исходными данными; критерии удовлетворительного эффекта — повышение на 20–30%, неудовлетворительного — менее чем на 20%. Качество жизни больных с ХСН оценивали с помощью специализированного Миннесотского опросника для больных с сердечной недостаточностью (Minnesota Living With Heart Failure Questionnaire, MLWHFQ).

Статистическая обработка данных

Статистический анализ результатов исследования проводили с помощью прикладных программ Microsoft Excel и STATISTICA v. 6.0 (StatSoft Inc., США). Количественные признаки, имевшие нормальное распределение, описывали средним (M) и среднеквадратичным отклонением (SD). Данные представлены в виде

$M \pm m$. Данные анализировали с использованием парного критерия Стьюдента. Взаимосвязь между содержанием ЭПО и цитокинов изучали посредством корреляционного анализа. Для сравнения количественных признаков при распределении, отличном от нормального, использовали *U*-тест Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Анализ полученных результатов показал, что у больных с ХСН и анемией наблюдается снижение содержания ЭПО в плазме крови до $2,01 \pm 0,3$ в I и до $1,87 \pm 0,1$ МЕ/мл во II группе, что сопровождается резкой цитокиновой агрессией: повышением концентрации IL 1 до $9,46 \pm 1,16$ пг/мл в I и до $7,04 \pm 0,71$ пг/мл во II группе, IL 6 — до $12,41 \pm 2,2$ пг/мл в I и до $11,8 \pm 2,6$ пг/мл во II, TNF α — до $10,41 \pm 2,9$ пг/мл в I и до $11,67 \pm 3,1$ пг/мл во II. Активация патологических цитокинов, в свою очередь, приводит к еще более значительному ухудшению клинической симптоматики ХСН. Однако взаимосвязь между ЭПО и патологическими цитокинами после лечения в I группе сохраняется, а во II — меняется, что связано с назначением МЭБ. В I группе в результате лечения концентрация ЭПО осталась достоверно низкой — $2,1 \pm 0,01$ МЕ/мл ($p < 0,01$), что отразилось на недостоверном повышении концентрации Hb, а также наблюдалось недостоверное снижение содержания IL 1 β до $7,01 \pm 1,1$ пг/мл, IL 6 — до $8,22 \pm 1,8$ пг/мл, TNF α — до $8,23 \pm 2,8$ пг/мл. Таким образом, отсутствие положительной динамики в клинической картине больных с ХСН и анемией в I группе было доказано недостоверным снижением уровня NT-proBNP до $231,7 \pm 21,5$ фмоль/л. Во II группе больных ХСН происходит достоверное повышение ЭПО до $29,3 \pm 4,3$ МЕ/мл ($p < 0,001$), IL 1 β снижался до $4,47 \pm 0,01$ пг/мл ($p < 0,002$), IL 6 — до $5,4 \pm 1,02$ пг/мл ($p < 0,05$), TNF α — до $6,04 \pm 1,1$ пг/мл ($p < 0,05$). Улучшение клинической симптоматики ХСН сопровождалось снижением содержания NT-proBNP до $198,1 \pm 30,3$ фмоль/л.

У всех пациентов была отмечена хорошая переносимость МЭБ. Систолическое и диастолическое артериальное давление, частота сердечных сокращений в процессе наблюдения фактически нормализовались или оставались в норме.

Концентрация Hb в I группе недостоверно увеличилась до $103,5$ г/л, а в группе, получавшей терапию МЭБ, — достоверно, до $114,1$ г/л. Результаты полученных исследований представлены в табл. 3, 4. Динамика ЭПО, ферритина, NT-proBNP и противовоспалительных цитокинов в сыворотке крови у больных обеих групп в процессе шестимесячной терапии также представлена в табл. 3, 4.

Под влиянием МЭБ произошло достоверное повышение Hb во II группе больных по сравнению с I группой (до $113,7 \pm 25$ г/л; $p < 0,02$), а уровень ЭПО поднялся до $29,3 \pm 4,3$ МЕ/мл ($p < 0,001$) по сравнению с I группой, где наблюдалась ЭПО-недостаточность. При этом повышение содержания ЭПО сопровождалось недостаточным снижением уровня ферритина до $109,3 \pm 2,1$ мкг/л при насыщении трансферрина более 20%. Во II группе повышение концентрации ЭПО в сыворотке крови вызвало подавление цитокиновой активации: наблюдали снижение содержания IL 1 на 36,6% ($p < 0,001$), IL 6 — на 54,3% ($p < 0,05$), TNF α — на 48,3% ($p < 0,05$). Происходящие изменения повлияли на уровень NT-proBNP в крови, который снизился на 48,9% ($p < 0,01$). Положительные результаты обусловили снижение концентрации С-реактивного протеина, креатинина в сыворотке крови, а также повышение скорости клубочковой фильтрации на 25,8%. При этом анализ результатов снижения цитокиновой агрессии показал, что под влиянием МЭБ снизились уровни IL 1 (на 36,6%), IL 6 (на 54,3%) и TNF α (на 48,3%). Таким образом, терапия ЭПО способствует активации ЭПО-рецепторов и синтезу ЭПО, который вызывает подавление цитокиновой агрессии, а коррекция последней является важным звеном в лечении ХСН. В целом снижение активации провоспалительных цитокинов сопровождалось обратным развитием клинических симптомов сердечной недостаточности, регрессом

Таблица 3. Лабораторные показатели пациентов с хронической сердечной недостаточностью и анемией до и после шестимесячной терапии в I группе

Лабораторные показатели	I группа с ХСН и анемией исходно (n = 46)	I группа с ХСН и анемией после шестимесячного наблюдения на фоне базисной терапии (n = 46)	Δ , %	p_1
Гемоглобин, г/л	$100,6 \pm 9$	$103,5 \pm 13$	2,8	нд
Эритропоэтин, МЕ/мл	$2,01 \pm 0,03$	$2,1 \pm 0,01$	4,4	$p_1 < 0,01$
Ферритин плазмы, мкг/л	$103,7 \pm 13,1$	$107,8 \pm 16,1$	3,9	нд
Насыщение трансферрина, %	$27,5 \pm 11,3$	Более 20%	Более 20%	—
IL 1 β , пг/мл	$9,46 \pm 1,15$	$7,01 \pm 1,10$	-25,8	нд
IL 6, пг/мл	$12,41 \pm 2,21$	$8,22 \pm 1,8$	-33,7	нд
TNF α , пг/мл	$10,41 \pm 2,91$	$8,23 \pm 2,8$	-20,9	$p_1 < 0,1$
NT-proBNP, фмоль/мл	374 ± 73	$231,7 \pm 21,5$	-38	$p_1 < 0,1$
С-реактивный белок, мг/мл	$8,4 \pm 4,3$	$6,2 \pm 0,5$	-26,2	$p_1 < 0,1$
Аланинаминотрансфераза	$21,4 \pm 11,2$	$16,8 \pm 3$	-21,4	$p_1 > 0,05$
Аспаратаминотрансфераза	$22,1 \pm 9,8$	$19,1 \pm 3,8$	-13,6	$p_1 > 0,05$
Креатинин, мг/дл	$0,8 \pm 0,02$	$0,5 \pm 0,07$	-37,5	$p_1 < 0,05$
Скорость клубочковой фильтрации, мл/с	$65,2 \pm 20,4$	$70,1 \pm 18,4$	7,5	$p_1 > 0,05$
Функциональные показатели:				
ФВЛЖ, %	$30,1 \pm 3,4$	$35,6 \pm 2,8$	18,2	$p_1 > 0,1$
Тест с шестиминутной ходьбой, м	232 ± 45	386 ± 68	66,3	$p_1 > 0,05$

Примечание. IL — интерлейкин, TNF α — фактор некроза опухоли альфа, NT-proBNP — N-терминальный предшественник мозгового натрийуретического пептида, ФВЛЖ — фракция выброса левого желудочка, нд — недостоверно.

Таблица 4. Лабораторные показатели пациентов с хронической сердечной недостаточностью и анемией до и после шестимесячной терапии МЭБ

Лабораторные показатели	II группа с ХСН и анемией исходно (n=48)	II группа после шестимесячного лечения МЭБ (n=48)	Δ, %	p ₂
Гемоглобин, г/л	93,2±6,8	114,1±5,2	22,4	p ₂ <0,02
Эритропоэтин, МЕ/мл	1,87±0,1	29,3±4,3	1466	p ₂ <0,001
Ферритин плазмы, мкг/л	104,3±1,5	109,3±2,1	4,7	p ₂ =0,05
Насыщение трансферрина, %	26,8±6,4	Более 20%	Более 20%	–
IL 1β, пг/мл	7,04±0,71	4,47±0,01	-36,6	p ₂ <0,001
IL 6, пг/мл	11,8±2,6	5,4±1,02	-54,3	p ₂ <0,05
TNF α, пг/мл	11,67±3,1	6,04±1,06	-48,3	p ₂ <0,05
NT-proBNP, фмоль/мл	387,4±52,3	198,1±30,3	-48,9	p ₂ <0,01
C-реактивный белок, мг/мл	9,1±4,3	3,4±0,07	-62,7	p ₂ >0,05
Аланинаминотрансфераза	18,3±1,7	13,4±1,4	0,54	p ₂ <0,05
Аспаратаминотрансфераза	21,4±2,8	17,81±0,7	-16,8	p ₂ <0,1
Креатинин, мг/дл	0,7±0,01	0,38±0,03	-45,8	p ₂ <0,001
Скорость клубочковой фильтрации, мм/с	64,2±5,6	82,5±4,8	25,8	p ₂ <0,02
Функциональные показатели				
ФВЛЖ, %	31,5±2,2	37,5±1,8	19,04	p ₂ <0,05
Тест с шестиминутной ходьбой, м	231±10	408±79	76,6	p ₂ <0,05

Примечание. IL — интерлейкин, TNF α — фактор некроза опухоли альфа, NT-proBNP — N-терминальный предшественник мозгового натрийуретического пептида, ФВЛЖ — фракция выброса левого желудочка.

36

ремоделирования левого желудочка, что сопровождалось увеличением фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) на 19,04% (с 31,5±2,2 до 37,5±1,8%) во II группе (p <0,05). В I группе отмечалось повышение фракции выброса на 18,2%, однако оно было недостоверным (p >0,1). Исходная достаточно низкая толерантность к физической нагрузке по результатам теста с шестиминутной ходьбой недостоверно возросла в I группе (на 66,3%; p >0,05) и достоверно во II (на 76,6%; p <0,05).

Указанным позитивным изменениям внутрисердечной гемодинамики, гуморально-иммунного статуса и повышению концентрации Hb сопутствовало явное улучшение качества жизни.

Обсуждение

Представленные данные свидетельствуют о важной роли анемического синдрома в патогенезе ХСН. Установленные изменения в содержании Hb, ЭПО, ферритина, сочетающиеся с повышением NT-proBNP и цитокиновой агрессией, обуславливают низкую эффективность традиционной медикаментозной терапии либо развивающуюся рефрактерность к ней и неблагоприятный отдаленный прогноз. Действительно, наличие анемического синдрома у больных ХСН сопровождается увеличением степени тяжести ХСН до IV ф.к. и явным снижением насосной функции левого желудочка (на 30% и менее) и ассоциируется с депрессией инотропной функции сердца и низкой толерантностью к физической нагрузке. В процессе шестимесячного проспективного наблюдения на фоне базовой традиционной терапии ХСН с дополнительным включением МЭБ положительная динамика общеклинических показателей приводит к достоверному снижению частоты обострений и тяжести сердечной недостаточности, уменьшению суточной потребности в мочегонных препаратах на 32–35%, повышению толерантности к физической нагрузке на 76,6% и улучшению качества жизни.

Результаты исследования также подтверждают важное патогенетическое значение противовоспалительных цитокинов IL 1β, IL 6 и TNF α в развитии ЭПО-

рефрактерности и ремоделирования левого желудочка. При этом повышенная экспрессия указанных цитокинов ассоциируется с тяжестью ХСН, сниженной сократительной способностью сердца, которые являются неблагоприятными независимыми факторами прогноза ХСН. Этому сопутствует выраженное снижение толерантности к физической нагрузке.

Многие исследователи сходятся во мнении, что активация провоспалительных цитокинов отражает неблагоприятное развитие ремоделирования левого желудочка и неуклонное прогрессирование ХСН. Установленные закономерности изменения характера продукции и степени агрессии провоспалительных цитокинов при развитии ХСН позволяют объективно оценить при этом роль недостаточного ЭПО-ответа, который способствует развитию анемического синдрома.

В последнее время появляется все больше результатов исследований, свидетельствующих о возможности выявления различных медикаментозных программ с применением того или иного препарата первой линии при лечении ХСН. Так, по данным G. Torre-Amione и соавт. [11], в исследовании SOLVD у больных с тяжелой ХСН (III–IV ф.к.) и низкой ФВЛЖ шестинедельная терапия ингибитором АПФ эналаприлом в дозе 20 мг/сут не приводила к достоверному снижению концентрации TNF α, простагландина E₂. В то же время содержание C-реактивного белка в сыворотке крови данных пациентов снижалось. По данным А.Т. Теплякова и соавт. [12], шестимесячная терапия α₁- и β-адреноблокатором карведилолом в дозе 25 мг/сут у больных с тяжелой ХСН (IV ф.к.) со сниженной фракцией выброса менее 30% и низкой толерантностью к физической нагрузке ингибировала экспрессию TNF α на 31%, а IL 6 — на 25%. При этом в целом уровень провоспалительных цитокинов оставался повышенным по сравнению с нормой. Однако в данных исследованиях участвовали пациенты с ХСН без анемии, либо наличие у них анемии не учитывали. Таким образом, наличие анемического синдрома, по всей вероятности, является также результатом агрессии провоспалительных цитокинов. Роль коррекции анемического синдрома при ХСН с применением МЭБ, способного эф-

фективно корректировать ЭПО-недостаточность, анемию и цитокиновую агрессию у больных ХСН, представляется важной. Под влиянием МЭБ регистрировались достоверные положительные изменения гематологических и гуморальных показателей, взаимосвязанных с тяжестью ХСН: концентрация гемоглобина увеличивалась на 22,4% ($p < 0,02$), концентрация TNF α снижалась на 48,3% ($p < 0,01$), IL 1 — на 36,6% ($p < 0,05$), IL 6 — на 54,3% ($p < 0,05$), что сопровождалось снижением содержания NT-проBNP в сыворотке крови больных ХСН III–IV ф.к. по NYHA на 48,9%. Таким образом, у больных ХСН с анемией ЭПО-недостаточность и цитокиновая агрессия еще более возрастают по сравнению с больными без анемического синдрома. МЭБ достоверно и значительно снижает избыточную экспрессию IL 1, IL 6 и TNF α , что очень важно при стимуляции ЭПО-рецепторов. Положительной динамике гематологических показателей сопутствовали регресс симптомов ХСН и улучшение качества жизни.

Суммируя представленные выше данные, следует отметить, что активатор рецепторов ЭПО длительного дей-

ствия МЭБ, в отличие от стандартных ЭПО, при режиме введения 1 раз/мес хорошо переносится и позволяет плавно достигать и стабильно удерживать целевую концентрацию Hb (при подкожном и внутривенном введении), обеспечивает эффективное и наиболее комфортное лечение анемии, восстанавливает нарушенные звенья цитокиновой системы.

Заключение

Для коррекции анемического синдрома при лечении ХСН ишемической этиологии в комплексе с базисными препаратами необходимо назначение МЭБ, который эффективно устраняет эритропоэтиную недостаточность, анемию и цитокиновую агрессию. Все эти свойства МЭБ указывают на перспективность его использования в кардиологической практике для коррекции ЭПО-недостаточности и связанной с ней цитокиновой агрессии, а также анемического синдрома при ХСН.

ЛИТЕРАТУРА

1. Stamos T.D., Silver M.A. Management of anaemia in heart failure. *Curr. Opin. Cardiol.* 2010; 25: 148–154.
2. Silverberg D.S., Wexler D., Blum M., Tchebiner J.Z., Sheps D., Keren G., Schwartz D., Baruch R., Yachnin T., Shaked M., Schwartz I., Steinbruch S., Iaina A. The effect of correction of anemia in diabetic and non diabetics with severe resistant congestive heart failure and chronic renal failure by subcutaneous erythropoietin and intravenous iron. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003; 18: 141–146.
3. Iversen P.O., Woldbaek P.R., Tonnessen T., Christensen G. Decreased hematopoiesis in bone marrow of mice with congestive heart failure. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2002; 282 (1): 166–172.
4. Bolger A.P., Doehner W., Sharma R., Coats A.J.S., Anker S. Anemia in chronic heart failure: the relationship to inflammatory cytokine expression and prognostic importance. *Circulation.* 2002; 106 (Suppl.): 570–571.
5. Deswal A., Petersen N.J., Feldman A.M., Young J.B., White B.G., Mann D.L. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation.* 2001; 103: 2055–2059.
6. Ivangar S., Abraham W.T. Anemia in chronic heart failure: Can EPO reduce death? *Cleveland Clin. J. Med.* 2005; 72 (11): 1027–1032.
7. Gorg J., Patal S., Wexler D., Sharabi Y., Peleg E., Kamari Y., Grossman E., Sheps D., Keren G., Roth A. Circulating erythropoietin levels and prognosis in patients with congestive heart failure: comparison with neurohormonal and inflammatory markers. *Arch. Intern. Med.* 2005; 165 (11): 1304–1349.
8. Yankowska E.A., Rozentryt P., Witkowska A. et al. Iron deficiency: an ominous sign in patients with systolic chronic heart failure. *Eur. Heart J.* 2010; 31 (15): 1872–1876.
9. Silverberg D.S., Wexler D., Blum M., Iaina A. The cardio renal anemia syndrome: correcting anemia in patients with resistant congestive heart failure can improve both cardiac and renal functional and reduce hospitalizations. *Clin. Nephrol.* 2003; 60 (1): 93–102.
10. Silverberg D.S., Wexler D., Iaina A., Schwartz D. Correction of iron deficiency in the cardio renal syndrome. *Int. J. Nephrol.* 2011; 365: 301.
11. Torre-Amione G., Bourge R., Colucci S.W., Greenberg B., Pratt C., Rouleau J.-L., Sestier F., Movie L., Geddes J., Nemet A., Young J.B. A study to assess the effects of a broad-spectrum immune modulatory therapy on mortality and morbidity in patients with chronic heart failure: the ACCLAIM trial rationale and design. *Canadian J. Cardiol.* 2007; 23 (5): 369–376.
12. Тепляков А.Т., Дибиров М.М., Болотская Л.А. Модулирующее влияние карведилола на активацию цитокинов и регресс сердечной недостаточности у больных с постинфарктной дисфункцией сердца. *Кардиология.* 2004; 9: 50–57.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Захидова Кямаля Халид кызы, кандидат медицинских наук, доцент кафедры кардиологии Азербайджанского государственного института усовершенствования врачей им. А. Алиева

Адрес: AZ1012, Баку, Тбилисский пр-т, д. 3165, **тел.:** (+994) 12 4501451, **e-mail:** Zahidova-Kamala@rambler.ru

А.Э. Лычкова, А.М. Пузиков

Московский клинический научно-практический центр ДЗМ, Москва, Российская Федерация

Пролактин и серотонин

Представлен обзор результатов исследований пролактина. Даны молекулярные и генетические характеристики пролактина (ПРЛ) и его рецептора. Отмечен полиморфизм рецепторов ПРЛ у больных с опухолями молочной железы. Синтезированы аналоги ПРЛ человека, тормозящие его периферические эффекты. Приведены сведения о вегетативной регуляции секреции пролактина. Расширены представления о биологии ПРЛ как фактора риска развития рака молочной железы и простаты. Описаны механизмы действия пролактина с учетом его сигнальных путей. Отмечено практическое значение сигнального каскада ПРЛ для повышения результативности лечения рака молочной железы.

Ключевые слова: пролактин, секреция, рецептор пролактина, серотонин.
(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 38–45)

Введение

Пролактин (ПРЛ) — это 23 кДа гормон гипофиза и внегипофизарных клеток, который, связываясь с мембранным рецептором пролактина ПРЛ-Р, регулирует через сигнальные пути [1] репродуктивную, иммунную и метаболическую функцию и участвует в генезе опухолей грудной железы и простаты [2]. Вне гипофиза ПРЛ секретируется эндометрием, децидуальной оболочкой, лимфоцитами, центральной нервной системой, молочной железой и простатой, где выступает в качестве цитокина [3]. ПРЛ обнаружен во многих жидких средах организма: спинномозговой, амниотической и слезной жидкости, крови, грудном молоке, потовой и фолликулярной жидкости [4, 5]: это внегипофизарный, периферически синтезируемый ПРЛ (табл. 1) [6].

ПРЛ — первый гормон, определяющийся в филогенезе у позвоночных. Считается, что гены ПРЛ и гормона роста появились в результате дубликации общего предкового гена около 400 млн лет назад [7] и затем эволюционировали самостоятельно, располагаясь на разных хромосомах (например, у человека на хромосоме 6 и 17, соответственно) [8]. В свою очередь, ген ПРЛ дал начало более чем десятку генов других гормонов. ПРЛ относят к большому семейству протеинов, куда входят гормон роста, плацентарные лактогены, ПРЛ-подобные и ПРЛ-родственные белки, пролиферины и пролиферин-связанные протеины, обладающие различной степенью гомологичности [4].

ПРЛ — один из регуляторов нервной, эндокринной и иммунной системы организма [9]. Одним из малоизученных вопросов физиологии является нервная регуляция его синтеза и активности.

В период эмбрионального развития передней доли гипофиза вначале экспрессируется ген, ответственный за синтез Pit-1 белка, являющегося активатором гена ПРЛ, соматотропина и тиреотропного гормона. Мутация этого гена сопровождается недостаточностью ПРЛ, соматотропина и тиреотропного гормона. Помимо Pit-1, в транскрипции гена ПРЛ участвуют эстрадиол, тиреолиберин, глюкокортикоиды, дофамин, эпидермальный фактор роста и ряд вторичных мессенджеров, таких как цАМФ, ионы кальция и диацилглицерин.

Главной мишенью ПРЛ является грудная железа, в которой он стимулирует пролиферацию, дифференцировку и секреторную активность эпителиальных клеток [10]. В зависимости от окружения клетки и физиологических условий ПРЛ может стимулировать как пролиферацию, так и дифференцировку, воздействовать на злокачественные и на доброкачественные клетки.

Действие ПРЛ, а также других гипоталамических и гипофизотропных гормонов, помимо изменения активности аденилатциклазы, объясняется изменением электрического потенциала клеточной мембраны. Ее деполяризация приводит к высвобождению гормона, тогда как гиперполяризация — к угнетению этого процесса. Следует отметить, что пролактотрофы отличаются от других клеток передней доли гипофиза тем, что деполяризация

A.E. Lychkova, A.M. Puzikov

Moscow Clinical Research and Practice Center of DHM, Moscow, Russian Federation

Prolactin and Serotonin

An overview of the results of studies on prolactin (PRL) is given. The molecular and genetic characteristics of PRL and its receptor (PRLR) are presented. The PRLR polymorphism in patients with tumors of the breast is described. Synthesized analogues of human PRL inhibited its peripheral effects. The vegetative nervous system modulate PRL secretion. PRL is a risk factor for breast and prostate cancer. The signaling mechanisms of PRL and its possible clinical use in therapy of breast cancer are characterized.

Key words: prolactin, secretion, serotonin.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 38–45)

клеточной мембраны, а следовательно, высвобождение ПРЛ происходят спонтанно, в то время как состояние гиперполяризации, а значит, и угнетение высвобождения гормона поддерживаются пролактостатином.

Рецептор пролактина ПРЛ-Р является членом надсемейства цитокиновых рецепторов и имеет 3 домена: внеклеточный лигандсвязывающий (который обеспечивает специфичность рецептора), короткий трансмембранный и внутриклеточный ICD [11]. Для активации ПРЛ-Р лиганду необходимо 2 сайта. Один рецептор связывается с сайтом, обладающим высоким сродством, другой рецептор — с сайтом меньшего сродства. Формируется активный тройной комплекс, состоящий из молекулы гормона и гомодимера рецептора [12].

ПРЛ-Р существует в нескольких изоформах, для каждой из которых имеется свой сигнальный путь [13]. Рецепторы ПРЛ обнаружены не только на плазматических мембранах клеток, но также в эндосомах, аппарате Гольджи. В печени и в молочной железе лактирующих крыс большая часть рецепторов локализована во внутриклеточных мембранах. Доказано, что у млекопитающих ПРЛ-Л располагаются в следующих органах: молочной железе (в нормальной, опухолевой ткани, грудном молоке), яичниках (клетки гранулезы, желтое тело), матке, плаценте, яичках (клетки Лейдига, сперматиды), придатках яичка, семенных пузырьках, простате (нормальная и опухолевая ткань), печени, глазах (фоторецепторы сетчатки, хориоидная оболочка) и иммунных клетках (тимоциты, лимфоциты), а также на эритроцитах и нейтрофилах, в центральной нервной системе (гипоталамус, черная субстанция, хориоидное сплетение), надпочечниках, почках, кишечнике, островках поджелудочной железы. В частности, 80–90% карцином грудной железы экспрессирует ПРЛ-Р [14].

Гены, ответственные за синтез рецепторов к ПРЛ и соматотропину, локализованы в хромосоме 5 (5p13–14). Различают 2 подгруппы рецепторов к ПРЛ: короткую и длинную форму (транскрипты длиной 2,5–3 и 7,3 kb). В семейство рецепторов соматотропина / ПРЛ-Р помимо двух указанных выше также включают рецепторы к различным цитокинам — ИЛ 2–7, гранулоцитарно-колониестимулирующему фактору, гранулоцитарно-макрофагальному колониестимулирующему фактору. Рецепторы к ПРЛ и соматотропину, как и их мРНК, подвержены регуляции через концентрацию соответствующих гормонов. Если соматотропин вызывает увеличение числа рецепторов как к соматотропину, так и к ПРЛ (up-regulation), то ПРЛ стимулирует увеличение числа только своих собственных рецепторов. И наоборот: высокие концентрации этих гормонов вызывают уменьшение числа рецепторов (down-regulation) через снижение уровня экспрессии соответствующего гена.

Хотя обычно его рассматривают как гипофизпроизводный гормон, ПРЛ человека также синтезируется и вне гипофиза, в т.ч. в молочной железе и простате, где он выступает в качестве ауто- / паракринного фактора [3]. ПРЛ является плейотропным гормоном с рядом биологических эффектов [10] при патологии молочной железы человека и раке простаты. Молекулярные и генетические характеристики ПРЛ, его рецептора и сигнальных путей изучают как перспективные в плане разработки в последующем эффективных мер улучшения лечения и ведения обоих заболеваний [15].

Сигнальный каскад инициирует связывание ПРЛ с его рецептором, вследствие чего происходит аллостерическая реорганизация, которая приводит в свою очередь к непосредственному соприкосновению JAK2-киназы

Таблица 1. Источники внегипофизарной продукции пролактина*

Ткань / тип клеток	Биологические жидкости
Головной мозг / нейрон	Спинальная жидкость
Гипофиз / лактотроф	Слезы
Слезная железа / эпителий	Молоко
Тимус / тимоцит	Сыворотка крови
Лимфатические узлы / эпителиоциты	Моча
Потовая железа / эпителиоциты	Фолликулярная жидкость
Молочная железа / эпителиоциты	Амниотическая жидкость
Селезенка / лимфоцит	
Кожа / фибробласт	
Миометрий / миоцит	
Децидуальная оболочка / клетки стромы	
Костный мозг / лимфоидная клетка	

Примечание. * По [5], с изменениями.

с внутриклеточным доменом рецепторов, что позволяет его фосфорилировать [16]. Связывание ПРЛ с рецептором активирует несколько сигнальных путей, из которых наиболее изучен JAK2-STAT5. Фосфорилированная JAK2 мобилизует несколько киназ и адапторных белков, которые активируют Stat5a/b, MAPK и PI3K [17]. Фосфорилирование STAT-белков, их димеризация и перемещение в ядро обеспечивают связывание этих белков с промоторами генов-мишеней. Stat5a/b опосредует многие эффекты ПРЛ в нормальных и злокачественных клетках молочной железы [11]. ПРЛ-чувствительным геном, прямо или косвенно участвующим в регуляции клеточного цикла, является код протоонкогена *C-Myc*; в регуляции также участвуют циклин D1, фактор транскрипции *AP-1* и белок теплового шока [18]. Существуют и другие ПРЛ-индуцированные сигнальные пути, которые имеют большое значение при раке молочной железы. Один из них — Ras-Raf-MAPK-путь, основными медиаторами которого являются ERK1/2 и c-jun N-терминальные киназы [19].

ПРЛ-сигнальный путь взаимодействует с другими сигнальными путями, участвующими в патогенезе рака молочной железы. Примером может послужить взаимодействие ПРЛ-Р с рецепторами эстрогенов при раке молочной железы. Так, ПРЛ и эстрогены совместно усиливают активность AP-1 [18], эстрадиол вызывает фосфорилирование STAT5 [20], в то время как ПРЛ активирует рецептор эстрогена [21].

Регуляция секреции пролактина нейромедиаторами

Секрецию ПРЛ регулируют дофаминергический, адренергический, холинергический и серотонинергический отдел вегетативной нервной системы (табл. 2).

В гипоталамусе и гипофизе дофамин играет роль естественного тормозного нейромедиатора, угнетающего секрецию (по нисходящему эффекту торможения) ПРЛ, соматолиберина и соматотропина, кортиколиберина и кортикотропина и, совсем в малой степени, тиролиберина и тиротропина. При этом угнетающее действие на секрецию ПРЛ и других гормонов реализуется при разных концентрациях дофамина, что обеспечивает высокую специфичность регуляции.

Адренергическая система. Норадреналин стимулирует, а дофамин тормозит секрецию ПРЛ. Дофамин является продуктом нейронов, расположенных в аркуатных ядрах. Секретируемый нейронами дофамин поступает с кровотоком к клеткам передней доли гипофиза и активирует механизм, ингибирующий высвобождение ПРЛ.

Таблица 2. Некоторые характеристики нейромедиаторов ВНС-регуляторов активности пролактина

Наименование нейромедиатора	Дофамин	Серотонин	Ацетилхолин	Норадреналин
Сокращенное обозначение	ДА	5-НТ	АХ	НА
Синтез из:	L-тирозина	Триптофана	Холина и ацетил-коэнзима А	Дофамина
Метаболит	НА	5-гидрокситриптофан	Холин и уксусная кислота	Адреналин
Рецепторы	D ₁₋₅	5-НТ ₁₋₇	Мускариновые M ₁₋₃ , никотиновые N ₁₋₅	α ₁₋₅ , β ₁₋₄
Действие на секрецию пролактина	Тормозит	Стимулирует	Тормозит	Тормозит

Примечание. ВНС — вегетативная нервная система.

40

Концентрация дофамина в портальной системе гипофиза достаточна для угнетения высвобождения ПРЛ. После назначения леводопы, которая в мозге и в периферических тканях метаболизируется в дофамин, происходит быстрое снижение концентрации ПРЛ в крови как у здоровых лиц, так и у больных с различными формами гиперпролактинемии. Дофамин угнетает не только высвобождение, но и биосинтез ПРЛ. Это ингибирующее действие опосредуется снижением интенсивности образования цАМФ, синтеза фосфоинозитола, арахидоновой кислоты и обмена фосфолипидов. Помимо цАМФ, вторичные мессенджеры полифосфоинозитидной системы участвуют в механизме действия дофамина. Дофамин угнетает также деление клеток и синтез ДНК, что сопровождается исчезновением секреторных гранул в пролактотрофах.

Ингибирующее действие дофамина реализуется посредством стимуляции дофаминовых рецепторов, локализованных на лактотрофах. Идентифицировано 2 типа дофаминовых рецепторов: D₁ и D₂. Дофамин и его агонисты, стимулируя D₁-рецепторы, увеличивают синтез аденилатциклазы. Дофамин и его агонисты, активируя D₂-рецепторы, ингибируют синтез аденилатциклазы, способствуют уменьшению содержания внутриклеточного цАМФ с соответствующим снижением секреции и высвобождения ПРЛ. Назначение антагонистов D₂-рецепторов (например, домперидона или метоклопрамида) приводит к повышению концентрации ПРЛ в крови.

Синергистами дофамина в ингибировании ПРЛ являются простагландин F_{2α} и субстанция P, его антагонистами — ГАМК, опиаты, эстрадиол и серотонин [22].

Серотонинергический механизм играет большую роль в процессах высвобождения ПРЛ. Введение серотонина или мелатонина в III желудочек мозга приводит к гиперпролактинемии, в то время как угнетение синтеза серотонина параклорфенилаланином блокирует высвобождение ПРЛ в ответ на физиологическую стимуляцию. Серотонин оказывает влияние на секрецию ПРЛ через стимуляцию высвобождения VIP; 5-гидрокситриптофан и другие серотонинергические агонисты также стимулируют секрецию ПРЛ. Образующиеся под влиянием моноаминов гипоталамические нейрогормоны попадают с током крови в переднюю долю гипофиза и действуют на секреторные оксифилы, выделяющие ПРЛ и соматотропин. Дополнительным доказательством стимуляторного влияния серотонина на секрецию ПРЛ служит ее прекращение при введении блокатора синтеза серотонина в эксперименте. Эстрадиол усиливал секрецию ПРЛ, частично уменьшаемую введением налоксона, который не влиял на рСРА-индуцированную секрецию ПРЛ. Таким образом, в эстрадиолстимулированной секреции ПРЛ участвует дофаминергическая система и в меньшей мере эндогенные опиоиды. Серотонин, косвенно влияя на дофаминергические нейроны, стимулирует секрецию ПРЛ у крыс с удаленным яичником, которым предварительно ввели эстрадиол [23].

Системное введение серотонина дозозависимо стимулировало секрецию ПРЛ [24]. Центральное введение серотонина может дозозависимо эффективно увеличить содержание пролактина в плазме до 20 раз. Агонист 5-НТ_{1A}-рецепторов усиливал секрецию ПРЛ самцами крыс линии Wistar [25]. Вполне вероятно, что 5-НТ_{1B}-рецептор также участвует в секреции ПРЛ, поскольку неселективный антагонист 5-НТ_{1A,2C,5A,7}-рецепторов метисергид тормозил, но не блокировал стимуляторное действие 5-СЕ (агониста 5-НТ_{1A,1B,5A,7}-рецепторов) и агониста 5-НТ_{1A,1B}-рецепторов RU 24969 [24]. Некоторые авторы оспаривают участие 5-НТ₁- и 5-НТ₂-серотонорецепторов в регуляции секреции ПРЛ [26], поскольку введение антагониста 5-НТ₁-рецепторов метиотепина и блокатора 5-НТ₂-рецепторов кетансерина крысам с удаленным яичником не изменило содержание ПРЛ у них в плазме крови.

Серотонин, активируя 5-НТ₂-рецепторы, и агонисты этих рецепторов (DOI — агонист 5-НТ_{2A,2C}; Са-метил-серотонин — 5-НТ_{2A,2B,2C}; МК 212 — 5-НТ_{2B,2C}-рецепторов) стимулируют секрецию ПРЛ. Кетансерин (блокатор 5-НТ_{2A,2C}-рецепторов) и LY 53857 (блокатор 5-НТ_{2A,2C}-рецепторов) исключали этот эффект 5-НТ₂-рецепторов. Системное введение антагониста 5-НТ_{2A,2C}-рецепторов ритансерина полностью блокировало секрецию ПРЛ в ответ на введение DOI, квипазина или фенфлорамина, что свидетельствует об участии периферических 5-НТ_{2A,2C}-рецепторов в секреции гормона [27].

Системное введение агониста 5-НТ₃-рецепторов 2-метил-5-НТ увеличивало секрецию ПРЛ. Эту реакцию исключили центрально или периферически вводимые блокатор 5-НТ_{3,4}-рецепторов трописетрон (ICS 205-930) и 5-НТ₃-рецепторов ондасетрон (GR38032F). По-видимому, и периферические, и центральные 5-НТ₃-рецепторы опосредуют серотонининдуцированную стимуляцию секреции ПРЛ. По некоторым данным, агонист 5-НТ₄-рецепторов RS 67506 дозозависимо стимулирует секрецию ПРЛ при системном, но не центральном введении, не оказавшем эффекта. Введение агониста 5-НТ₅- и 5-НТ₇-рецепторов 5-СТ оказывает стимуляторное влияние на секрецию ПРЛ [24].

Использование блокаторов обратного захвата серотонина может приводить к избыточному содержанию серотонина, что сопровождается явлениями гиперпролактинемии. Ингибируя дофаминорецепторы гипофиза и через ГАВА-нейроны влияя на тубероинфундулярный сигнальный путь, эти блокаторы способствуют повышению концентрации ПРЛ в сыворотке крови. Гиперпролактинемия может сопровождаться галактореей и снижением фертильности, а в долгосрочной перспективе приводить к снижению плотности костной ткани и повышенному риску развития рака молочной железы. Следовательно, избыточное содержание серотонина обуславливает развитие не только галактореи, но и остеопении, что наблюдают в клинической практике при постменструальном синдроме. В наших экспериментах

гиперсеротонинемия приводила к развитию остеопороза у интактных половозрелых крыс-самок [28].

Таким образом, серотонинактивные препараты и серотонин стимулируют секрецию ПРЛ передней долей гипофиза. 5-НТ_{1А}-, 5-НТ_{2А}-, 5-НТ_{2С}- и 5-НТ₃-рецепторы участвуют в регуляции базальной и стрессиндуцированной секреции ПРЛ; не исключено участие также 5-НТ_{1В}-, 5-НТ₅- и 5-НТ₇-рецепторов в увеличении его секреции.

Антагонисты дофамина и серотонина — резерпин, аминазин, метилдофа и другие вещества этой группы, истощающие запасы катехоламинов и серотонина в церебральных структурах, — вызывают усиление выделения ПРЛ [29]. В частности, резерпин истощает не только запасы катехоламинов в симпатических терминалях, но и запасы серотонина в серотонинергических. Суммарный эффект резерпина опосредуется его серотонино- и катехоламинолитическим действием, причем симпатолитическое действие проявляется при меньших дозах резерпина. Аминазин, являясь α-адреноблокатором, одновременно эффективно блокирует 5-НТ_{1,2}-серотониновые рецепторы. Следовательно, интегральный эффект аминазина — блокада серотониновых и адренорецепторов эффекторных тканей, т.е. интенсивность выделения ПРЛ, зависит от соотношения влияния катехоламинов и серотонина и степени уменьшения их содержания в нервных терминалях [30, 31]. Отделы вегетативной нервной системы оказывают разнонаправленное влияние на секрецию ПРЛ: дофамин, норадреналин и ацетилхолин — тормозное, серотонин — стимуляторное. Это способствует поддержанию гомеостаза ПРЛ в органах и тканях.

При патологии также обнаруживается ведущая роль серотонина в регуляции активности ПРЛ. Об этом свидетельствуют данные об активности 5-НТ при гиперпролактинемии, стрессе, предменструальном синдроме и ожирении.

Транзиторная гиперпролактинемия

Транзиторная гиперпролактинемия в 10% случаев является следствием стрессовых ситуаций. Пролактинома может возникнуть у больных вследствие мутагенного процесса, приводящего к дефекту в нейронах, секретирующих дофамин. На фоне общего постоянного торможения секреции ПРЛ дофамином возникают вызываемые различными стрессовыми воздействиями пики-выбросы ПРЛ, регулируемые не уменьшением тормозящего влияния дофамина, а серотонином и другими ПРЛ-рилизинг-факторами (тиреолиберин, мелатонин, ГАМК, гистамином, эндорфинами, энкефалинами, VIP, субстанцией Р и др.). Кроме того, при стрессе происходит дискретный выброс серотонина, который оказывает ингибирующее влияние на активность дофамина в гипоталамусе. Все эти субстанции находятся в высокой концентрации в срединном возвышении и портальной системе гипофиза. Действие их осуществляется независимо от действия дофамина. Под влиянием половых стероидов (естественных митогенов) могут ускоряться процессы, приводящие к гиперплазии и аденоматозу [32].

Аномально высокий уровень ПРЛ (гиперпролактинемия) может привести к различным расстройствам процесса репродукции. В настоящее время в лечении гиперпролактинемии используют дофамин, который, как отмечено выше, является основным физиологическим супрессором ПРЛ, синтезируемого гипофизом. Эпидемиологические исследования продемонстрировали корреляцию высокого содержания ПРЛ с повышенным риском разви-

тия рака молочной железы. Возможно, блокаторы ПРЛ могут оказаться полезными в лечении рака молочной железы [33].

Менструальный синдром

Несмотря на то что патогенез предменструального синдрома исследуют уже на протяжении многих лет, и существует более 40 теорий его развития, он все еще изучен недостаточно. Большинство исследователей связывают его с изменениями уровня метаболитов прогестерона и соотношения синтез / обмен центральных нейротрансмиттеров, особенно серотонина, с функционированием вегетативной нервной системы, ответственной за развитие «соматических симптомов» [34] на фоне циклических изменений содержания яичниковых стероидов.

Изучение функции гипоталамо-гипофизарно-яичниково-надпочечниковой системы у больных с различными формами постменструального синдрома показало, что снижение концентрации прогестерона и повышение содержания серотонина в крови чаще всего наблюдают при отечной форме постменструального синдрома; повышение содержания ПРЛ и гистамина в крови — при нервно-психической; повышение уровня серотонина и гистамина в крови — при цефалгической. При кризовой форме регистрируют повышение концентрации ПРЛ и серотонина во 2-й фазе цикла и гиперфункцию коры надпочечников. Таким образом, постменструальный синдром имеет несколько форм, при большинстве из которых роль серотонина и ПРЛ является определяющей.

В настоящее время накоплены данные, подтверждающие связь изменений серотонинергической составляющей центральной нервной системы при предменструальном синдроме [35]. Циклические колебания аффективных расстройств при постменструальном синдроме могут быть связаны именно с дисфункцией серотонинергической системы. Было установлено, что уровень серотонина при постменструальном синдроме снижен еще во время предменструального периода. Больные с постменструальным синдромом слабее реагируют на стимуляцию триптофаном во время поздней лютеиновой фазы по сравнению с фолликулиновой и средней лютеиновой фазой, т.е. уменьшение образования серотонина из триптофана может быть причиной постменструального синдрома. Полагают, что развитие предменструального синдрома связано также с действием нейроактивных метаболитов прогестерона, включая и те, которые продуцируются в центральной нервной системе. Эти метаболиты оказывают анксиолитический, анальгетический и анестезирующий эффект, взаимодействуя с рецепторами ГАМК, являющимися основными рецепторами, ингибирующими передачу возбуждения в центральной нервной системе [36].

Ожирение

Гипоталамический контроль секреции ПРЛ при ожирении нарушен. Продукцию ПРЛ стимулирует тиреолиберин, однако при ожирении внутривенное введение тиреолиберина приводит к незначительному увеличению содержания ПРЛ у женщин. На пациентах с ожирением продемонстрирована сниженная секреция ПРЛ после введения тиреолиберина, но повышенный ответ тиреотропина. Подобная диссоциация гормонального ответа на введение тиреолиберина может быть связана

с серотониновой недостаточностью центральной нервной системы, нарушающей ответ тиреотропина и ПРЛ на тиреолиберин при ожирении.

Соотношение нервного (вегетативная нервная система) и эндокринного влияния на ПРЛ. Как адренал- [37], так и овариэктомиа [38] приводят к значительному увеличению плотности нервных волокон в передней доли гипофиза крысы вследствие активного ветвления аксонов. Эти и другие аналогичные факты свидетельствуют о возможности прямой нервной регуляции секреторной активности передней доли гипофиза млекопитающих и дали основание для выдвигания гипотезы двойного нейрогуморального регулирования активности передней доли гипофиза [39]. С нашей точки зрения, приведенные факты свидетельствуют о компенсаторной роли вегетативной нервной системы в поддержании гомеостаза ПРЛ при ослаблении эндокринного влияния на секрецию гормона.

Соотношение нервного (вегетативная нервная система) и пептидергического влияния на ПРЛ. Освобождение нейротрансмиттеров при электрическом раздражении на частоте 2 Гц является основной причиной флуктуации уровня ПРЛ; на частоте электрической стимуляции 10 Гц на содержание ПРЛ в перфузате влияют регуляторные пептиды и (в меньшей мере) нейротрансмиттеры [40].

42

Со своей стороны, ПРЛ оказывает влияние на активность вегетативной нервной системы. Он является важной биологической субстанцией центральной нервной системы и рассматривается как нейротрансмиттер. Многогранное влияние ПРЛ на центральную нервную систему начинается еще внутриутробно и способствует созреванию нейроэндокринной системы плода/новорожденного, формирует родительское поведение у женщины, участвует (вместе с адренкортикотропным и тиреотропным гормонами) в формировании адаптационных и стрессовых ответов, определяет пищевое поведение, влияет на синтез и обмен нейротрансмиттеров (ГАМК, опиоидов, ацетилхолина, серотонина), а также на функцию Ca^{2+} - и K^{+} -каналов, участвует в формировании либидо, отвечает за фазу быстрого сна (REM-сон) и цикл сон–бодрствование, влияет на секрецию гонадолиберина и частоту импульсов лютеинизирующего гормона (рост и созревание фолликулов, овуляция, функция желтого тела), определяет электрическую активность нейронов вентромедиального гипоталамуса, гуморальный и клеточный иммунитет, функцию естественных клеток-киллеров, макрофагов, лейкоцитов (направленная и спонтанная миграция), лимфоцитов (аутоиммунные ответы и аутоиммунные заболевания), влияет на осморегуляцию (транспорт и реабсорбцию натрия и калия), обмен инсулина, связывание с рецепторами в адипоцитах, их дифференцировку, пролиферацию и метаболизм. ПРЛ инициирует больше эффектов, чем все гипофизарные гормоны в совокупности [41].

Подтверждением роли дофамина как ингибитора синтеза гипофизарного ПРЛ служит эффективное использование агонистов дофамина (бромокриптина, каберголина) в лечении пациентов, страдающих гиперпролактинемией сочетанной с пролактиномой [42]. В частности, бромокриптин рассматривают в качестве «золотого стандарта» в лечении гиперпролактинемического гипогонадизма [43].

Однако эти препараты не влияют на синтез внегипофизарного (местного, периферического) ПРЛ (экспрессия которого не зависит от дофамина) или конститутивно активных рецепторов (базальная активность которых не зависит от ПРЛ). Нечувствительность супердистального

промоутера к дофамину объясняет неспособность агонистов дофамина, таких как бромокриптин, блокировать грудной ПРЛ и повлиять на ПРЛ-зависимые опухоли у больных [10]. В лучшем случае агонисты дофамина в конечном счете могут предотвратить суммирование эффектов эндокринного и местного механизма иницирования ПРЛ-Р-сигнального пути.

ПРЛ играет важную роль в обеспечении жизненно важных функций организма, причем внегипофизарная его продукция может локально компенсировать недостаточность выработки гормона гипофизом [5].

Механизмы действия пролактина: центральный и периферический

Одновременная совместная экспрессия ПРЛ и его рецепторов подводит к гипотезе о существовании аутокриной-паракриной петли действия. Местный (внегипофизарный) ПРЛ предположительно играет роль в маммопозе, что показано в экспериментах на ПРЛ-дефицитных мышцах [44]; в ноцицепции — согласно результатам экспериментов с использованием нейронов тройничного сенсорного нерва крыс [45]; в дерматологической биорегуляции — по данным экспериментов с применением ткани и культуры волосных фолликулов человека [46]. Эти примеры носят фрагментарный характер, т.е. недостаточность знаний об эффектах местного (внегипофизарного) ПРЛ контрастирует с обилием данных о его эффектах как эндокринного гормона [47]. Рисунок иллюстрирует развитие представлений о ПРЛ, мишенях и механизмах его действия.

Внегипофизарный ПРЛ исследуют на животных, причем результаты, полученные на грызунах, плохо моделируют физиологическую роль местного ПРЛ человека.

Хронозависимая секреция пролактина

ПРЛ, как и другие гормоны, секретируется пульсирующим образом. У человека секреция ПРЛ имеет четко выраженный пульсирующий характер на протяжении суток. Высвобождение ПРЛ повторяется каждые 95 мин, т.е. 14 раз за 24 ч. В период сна высота таких амплитуд наименьшая, а минимальная высота амплитуды фиксируется около полудня. При пролактиномах суточный ритм секреции ПРЛ нарушается, но его пульсирующее высвобождение остается. Суточным ритмом характеризуется и выработка серотонина.

Внегипофизарный ПРЛ. Примечательно, что хронозависимое увеличение высвобождения ПРЛ в культуре наблюдается при инкубировании лактотрофных [48], децидуальных [49] клеток и клеток миометрия [50], фибробластов кожи [51] и адипоцитов молочной железы [52]. Таким образом, синтез ПРЛ в этих областях, по-видимому, находится под тоническим торможением фактора(ов), которые либо отсутствуют, либо инактивированы в культуре.

Ингибитором выработки ПРЛ, кроме дофамина, ГАМК и соматостатина, является оксид азота [53]. Оксид азота блокирует периодическую секрецию ПРЛ ненаркотизированных взрослых свободно содержащихся крыс. Блокатор синтазы NO N(омега)-нитро-*L*-аргинин метилэфир (*L*-NAME) увеличивал среднюю концентрацию ПРЛ в плазме крови по сравнению с контролем, повышал содержание дофамина и серотонина в переднем гипоталамусе; в срединном возвышении введение *L*-NAME сни-

Классические взгляды		Новые взгляды	
Эндокринный	1	Механизм	1 Аутокринный-паракринный
Нет	2	Генетика	2 Усиление функции
Гиперпролактинемия	3	Патология	3 Генез опухолей ПРЛ-Р
Агонисты дофамина	4	Терапия	4 Блокаторы ПРЛ-Р

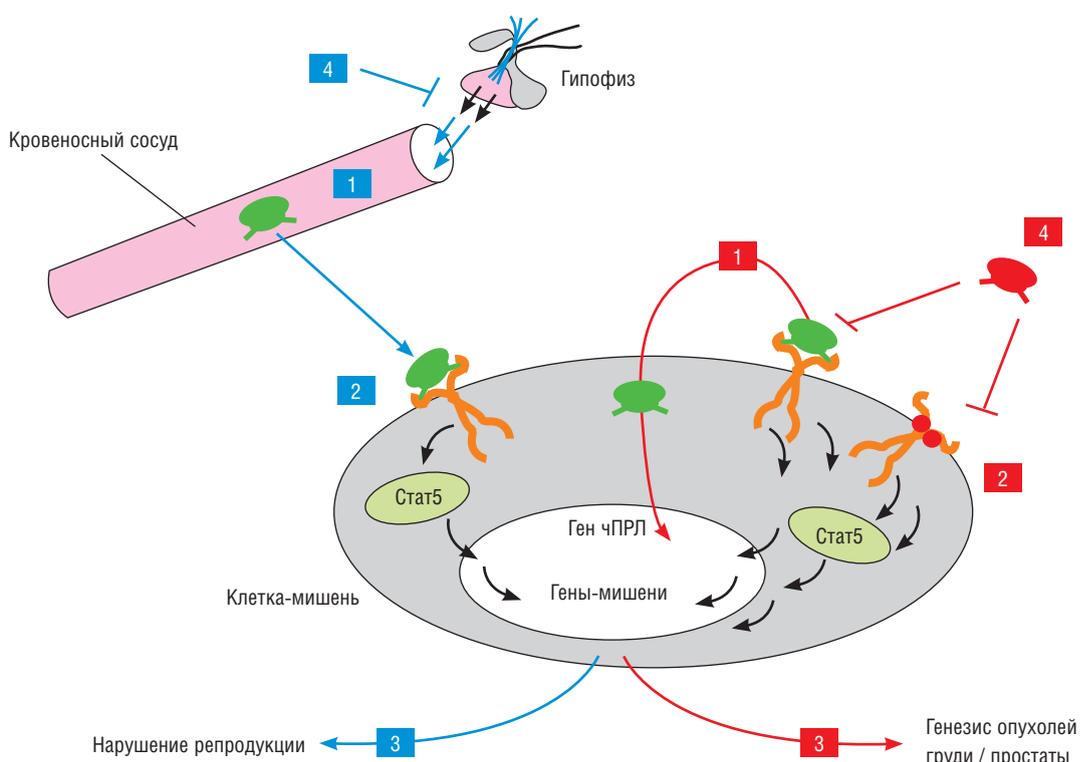


Рис. Основные аспекты биологического действия пролактина.

Примечание. Для наглядности новые и классические результаты исследований механизма действия пролактина выделены красным и синим цветом, соответственно. В качестве сигнального пути пролактина ПРЛ-Р, STAT5 представлен только один ПРЛ-Р (аутокринный / паракринный пролактин и вариант усиления функции ПРЛ-Р), символизируемый большим числом стрелок.

жал содержание дофамина и серотонина по сравнению с контролем [53].

Дофаминергическая, адренергическая и серотонинергическая ветвь центральной и периферической вегетативной нервной системы регулируют секрецию ПРЛ. Многообразие эффектов ПРЛ требует систематизации механизмов регуляции его секреции и воздействия на клетки-мишени.

Заключение

ПРЛ человека обычно рассматривали как гормон, синтезируемый гипофизом под контролем дофамина; эф-

фекты ПРЛ относили исключительно к лактации и репродуктивной функции. Главной патологией считали, прежде всего, гиперпролактинемию. Исследования последнего десятилетия, проведенные на животных и в клинической практике, значительно расширили наши представления о биологии ПРЛ как фактора риска развития рака молочной железы и простаты; был открыт полиморфизм рецепторов ПРЛ у больных с опухолями молочной железы, синтезированы аналоги ПРЛ человека, тормозящие его эффекты периферического происхождения (рис.). Достигнутое углубление понимания различных вариантов сигнального каскада ПРЛ будет полезно в повышении результативности лечения рака молочной железы и других заболеваний, развивающихся с участием этого гормона.

ЛИТЕРАТУРА

1. Bole-Feysot C., Goffin V., Edery M., Binart N., Kelly P.A. Prolactin (PRL) and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in PRL receptor knockout mice. *Endocr. Rev.* 1998; 19: 225–268.
2. Goffin V., Binart N., Touraine P., Kelly P.A. Prolactin: the new biology of an old hormone. *Ann. Rev. Physiol.* 2002; 64: 47–67.
3. Ben-Jonathan N., Mershon J.L., Allen D.L., Steinmetz R.W. Extrahypothalamic prolactin: distribution, regulation, functions and clinical aspects. *Endocr. Rev.* 1996; 17: 639–669.
4. Soares M.J. The prolactin and growth hormone families. Pregnancy-specific hormones/cytokines at the maternal-fetal interface. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2004; 2: 515.
5. Романцова Т.И., Мельниченко Г.А., Черноголов В.А. Проблемы диагностики гиперпролактинемических состояний. *Consilium medicum.* 1999; 1 (2): 2–8.
6. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Романова Т.И. Синдром гиперпролактинемии: диагностика и лечение. В кн.: Заболевания гипоталамо-гипофизарной системы: мат-лы Росс. науч.-практ. конф. М. 2001.
7. Goffin V., Shiverick T., Kelly P.A., Martial J.A. Sequence-function relationships within the expanding family of prolactin, growth hormone, placental lactogen, and related proteins in mammals. *Endocr. Rev.* 1996; 17: 385–410.
8. Myal Y., DiMattia G.E., Gregory C.A., Friesen H.G., Hamerton J.L., Shiu R.P.A. BglII RFLP at the human prolactin gene locus on chromosome 6 (PRL). *Nucl. Acids Res.* 1991; 19 (5): 1167.
9. Серебрянский О.Ю. Клинико-иммунологические особенности гиперпролактинемического гипогонадизма у женщин репродуктивного возраста. Автореф дис. ... канд. мед. наук. М. 2002. 32 с.
10. Ben-Jonathan N., LaPensee C.R., LaPensee E.W. What can we learn from rodents about prolactin in humans? *Endocr. Rev.* 2008; 29: 1–41.
11. Clevenger C.V., Gadd S.L., Zheng J. New mechanisms for PRL action in breast cancer. *Trends Endocr. Metabol.* 2009; 20: 223–229.
12. Teilum K., Hoch J.C., Goffin V., Kinet S., Martial J.A., Kragelund B.V. Solution structure of human prolactin. *J. Mol. Biol.* 2005; 351: 810–823.
13. Swaminathan G., Varghese B., Fuchs S.Y. Regulation of prolactin receptor levels and activity in breast cancer. *J. Mamm. Gland. Biol. Neoplas.* 2008; 13: 81–91.
14. Touraine P., Martini J.F., Zafrani B., Durand J.C., Labaille F., Malet C., Nicolas A., Trivin C., Postel-Vinay M.C., Kuttann F., Kelly P.A. Increased expression of prolactin receptor gene assessed by quantitative polymerase chain reaction in human breast tumors versus normal breast tissues. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1998; 83: 667–674.
15. Jacobson E.M., Hugo E.R., Tuttle T.R., Papoian R., Ben-Jonathan N. Unexploited therapies in breast and prostate cancer: blockade of the prolactin receptor. *Trends Endocrinol. Metab.* 2010; 21 (11): 691–698.
16. Goffin V., Bernichtein S., Touraine P., Kelly P.A. Development and potential clinical uses of human prolactin receptor antagonists. *Endocr. Rev.* 2005; 26 (3): 400–422.
17. Clevenger C.V., Furth P.A., Hankinson S.E., Schuler L.A. The role of prolactin in mammary carcinoma. *Endocr. Rev.* 2003; 24 (1): 1–27.
18. Gutzman J.H., Nikolai S.E., Rugowski D.E., Watters J.J., Schuler L.A. Prolactin and estrogen enhance the activity of activating protein 1 in breast cancer cells: role of extracellularly regulated kinase 1/2-mediated signals to c-fos. *Mol. Endocrinol.* 2005; 19: 1765–1778.
19. Acosta J.J., Munoz R.M., Gonzalez L., Subtil-Rodriguez A., Dominguez-Caceres M.A., Garcia-Martinez J.M., Calcabrini A., Lazaro-Trueba I., Martin-Perez J. Src mediates prolactin-dependent proliferation of T47D and MCF7 cells via the activation of focal adhesion kinase/Erk1/2 and phosphatidylinositol 3-kinase pathways. *Mol. Endocrinol.* 2003; 17: 2268–2282.
20. Fox E.M., Andrade J., Shupnik M.A. Novel actions of estrogen to promote proliferation: integration of cytoplasmic and nuclear pathways. *Steroids.* 2009; 74 (7): 622–627.
21. Gonzalez L., Zambrano A., Lazaro-Trueba I., Lopez E., Gonzalez J.J., Martin-Perez J., Aranda A. Activation of the unliganded estrogen receptor by prolactin in breast cancer cells. *Oncogene.* 2009; 28 (10): 1298–1308.
22. Dinan T.G. Prolactin and Dopamine: What is the connection? *J. Psychopharm.* 2008; 22 (2): 12–19.
23. Mallmann E.S., Ribeiro M.F., Spritzer P.M. Effect of serotonin depletion by p-chlorophenylalanine on serum prolactin levels in estrogen-treated ovariectomized rats: insights concerning the serotonergic, dopaminergic and opioid systems. *Horm. Metab. Res.* 2001; 33 (6): 337–342.
24. Jorgensen H.S. Studies on the neuroendocrine role of serotonin. *Dan. Med. Bull.* 2007; 54 (4): 266–288.
25. Di Sciuolo A., Bluet-Pajot M.T., Mounier F., Oliver C., Schmidt B., Kordon C. Changes in anterior pituitary hormone levels after serotonin 1A receptor stimulation. *Endocrinology.* 1990; 127 (2): 567–572.
26. Gouveia E.M., Franci C.R. Involvement of serotonin 5HT1 and 5HT2 receptors and nitric oxide synthase in the medial preoptic area on gonadotropin secretion. *Brain Res. Bull.* 2004; 63 (3): 243–251.
27. Rittenhouse P.A., Bakkum E.A., Levy A.D., Li Q., Carnes M., van de Kar L.D. Evidence that ACTH secretion is regulated by serotonin 2A/2C (5-HT2A/2C) receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994; 271:1647–1655.
28. Лычкова А.Э., Петраков А.В., Хомерики С.Г. К вопросу о моделировании остеопороза. *Вестник РАМН.* 2010; 4: 31–33.
29. Тумилович Л.Г. Онтогенез и регуляция функции репродуктивной системы. В кн.: Неоперативная гинекология: Рук-во для врачей. Под ред. В.И. Бодяжиной и др. М.: Медицина. 1990. С. 45–97.
30. Лычкова А.Э. Роль медиаторных веществ в развитии миокардита. В кн.: Клинические исследования лекарственных средств в России. 3-я Междунар. конф. Приложение к журналу. М. 2003. С. 215–217.
31. Лычкова А.Э. Особенности воздействия некоторых вегетотропных препаратов на возбудимость холинергических структур, контрактильную функцию сердца и электромоторную активность желудка. *Эксп. клин. гастроэнтерол.* 2005; (5): 79–81.
32. Дедов И.И., Дедов В.И. Биоритмы гормонов. М. 1992.
33. Goffin V., Touraine P., Culler M.D., Kelly P.A. Drug Insight: prolactin-receptor antagonists, a novel approach to treatment of unresolved systemic and local hyperprolactinemia? *Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab.* 2006; 2 (10): 571–581.
34. Балан В.Е., Ильина Л.М. Предменструальный синдром. *Consilium medicum.* 2002; 4 (8).
35. Prilepskaya V.N., Revazova F.S. Vitex agnus castus: Successful treatment of severe premenstrual syndrome. *Maturitas.* 2006; 55 (1): 55–66.
36. Milewicz A., Jedrzejuk K. Premenstrual syndrome: From etiology to treatment. *Maturitas.* 2006; 55 (1): 47–55.
37. Liu Y.Y., Ju G. Galanin-like immunoreactive nerve fibers in the anterior pituitary of the normal and adrenalectomized rat. *Acta Histochem.* 1998; 100: 149–156.
38. Ma D., Zhao C., Mayhew T.M., Ju G. Response of substance P-immunoreactive nerve fibers in the anterior pituitary to plasma oestrogen concentrations in the rat. *J. Neuroendocrinol.* 1997; 9: 735–740.
39. Liu Y.Y., Morris J.F., Ju G. Synaptic relationship of substance P-like-immunoreactive nerve fibers with gland cells of the anterior pituitary in the rat. *Cell Tiss. Res.* 1996; 285: 227–234.

40. Zhang P., Liu L., Xie C.J., Wang K.H., Gao L.Z., Ju G. Excitatory and inhibitory effects of prolactin release activated by nerve stimulation in rat anterior pituitary. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 2009; 7: 154.
41. Сметник В.П., Осипова А.А. Гиперпролактинемия: реакция костной ткани и эффективность терапии каберголином. *Пробл. репродукции.* 2000; 6: 30–36.
42. Molitch M.E. Medication-induced hyperprolactinemia. *Mayo Clin. Proceed.* 2005; 80: 1050–1057.
43. Дедов И.И., Балаболкин М.И., Марова Е.И. Болезни органов эндокринной системы. М.: Медицина. 2000. 568 с.
44. Naylor M.J., Lockefeer J.A., Horseman N.D., Ormandy C.J. Prolactin regulates mammary epithelial cell proliferation via autocrine/paracrine mechanism. *Endocrine.* 2003; 20: 111–114.
45. Diogenes A., Patwardhan A.M., Jeske N.A., Ruparel N.B., Goffin V., Akopian A.N., Hargreaves K.M. Prolactin modulates TRPV1 in female rat trigeminal sensory neurons. *J. Neurosci.* 2006; 26: 8126–8136.
46. Ramot Y., Biro T., Tiede S., Toth B.I., Langan E.A., Sugawara K., Foitzik K., Ingber A., Goffin V., Langbein L., Paus R. Prolactin — a novel neuroendocrine regulator of human keratin expression *in situ*. *FASEB J.* 2010; 24 (6): 1768–1779.
47. Bole-Feysot C., Goffin V., Edery M., Binart N., Kelly P.A. Prolactin and its receptor: actions, signal transduction pathways and phenotypes observed in prolactin receptor knockout mice. *Endocr. Rev.* 1998; 19: 225–268.
48. Ben-Jonathan N., Hnasko R.M. Dopamine as a prolactin inhibitor. *Endocr. Rev.* 2001; 22: 724–763.
49. Brar A.K., Frank G.R., Kessler C.A., Cedars M.I., Handwerker S. Progesterone-dependent decidualization of the human endometrium is mediated by cAMP. *Endocrine.* 1997; 6: 301–307.
50. Stewart E.A., Rein M.S., Friedman A.J. Glycoprotein hormones and their common α -subunit stimulate prolactin production by explant cultures of human leiomyoma and myometrium. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1994; 170: 677–683.
51. Richards R.G., Hartman S.M. Human dermal fibroblast cells express prolactin *in vitro*. *J. Invest. Dermatol.* 1996; 106: 1250–1255.
52. Zinger M., McFarland M., Ben-Jonathan N. Prolactin expression and secretion by human breast glandular and adipose tissue. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2003; 88: 689–696.
53. Lafuente A., Gonzalez-Carracedo A., Romero A. Cano P., Esquifino A.I. Effect of nitric oxide on prolactin secretion and hypothalamic biogenic amine contents. *Life Sci.* 2004; 74 (13): 1681–1690.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Лычкова Алла Эдуардовна, доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической физиологии Московского клинического научно-практического центра Департамента здравоохранения г. Москвы
Адрес: 111125, Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86, **тел.:** (499) 180-41-12, **e-mail:** lychkova@mail.ru
Пузиков Александр Михайлович, сотрудник лаборатории клинической физиологии Московского клинического научно-практического центра Департамента здравоохранения г. Москвы
Адрес: 111125, Москва, шоссе Энтузиастов, д. 86, **тел.:** (499) 180-41-12, **e-mail:** lychkova@mail.ru

И.Н. Тюренков, В.Н. Перфилова, Н.В. Садикова

Волгоградский государственный медицинский университет, Российская Федерация

Изменение ино- и хронотропных резервов сердца стрессированных животных в условиях блокады различных NO-синтаз

Цель исследования: изучить влияние длительного иммобилизационно-болевого стресса на ино- и хронотропные резервы сердца при ингибировании различных NO-синтаз. **Материалы и методы:** исследование проводилось на 30 белых беспородных крысах-самках. В качестве блокаторов NO-системы использовали аминогуанидин (50 мг/кг); 7-нитроиндазол (50 мг/кг) и N-нитро-L-аргинин-метилловый эфир (L-NAME) (10 мг/кг). Стресс моделировали подвешиванием крыс за дорсальную кожную складку на 24 ч. Изучение функциональных резервов сердца осуществляли с использованием пробы на адренореактивность и пробы изометрической нагрузки. **Результаты:** установлено, что иммобилизационно-болевого стресс приводит к снижению ино- и хронотропных резервов сердца, что выражается в уменьшении прироста $dp/dt+$, $dp/dt-$, левожелудочкового давления и частоты сердечных сокращений по сравнению с контрольной группой интактных животных при проведении нагрузочных проб. Селективная блокада nNOS 7-нитроиндазолом вызывает еще большее снижение ино- и хронотропных резервов сердца у стрессированных животных в условиях нагрузочных проб. Наиболее выраженное угнетение инотропной функции сердца стрессированных животных наблюдается при неселективном ингибировании NO-синтаз L-NAME. Введение животным аминогуанидина — блокатора индуцибельной NOS до и после стрессирования вызывает увеличение инотропных резервов сердца, что выражается в повышении прироста скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС при проведении нагрузочных проб. **Выводы:** NO-эргическая система играет существенную роль в ограничении негативного влияния стресса на сократимость.

Ключевые слова: блокаторы NO-синтаз, иммобилизационно-болевого стресс, ино- и хронотропные резервы сердца. (Вестник РАМН. 2014; 1–2: 46–50)

46

Введение

Длительное и интенсивное стрессорное воздействие вызывает депрессию сократительной функции и снижение ино- и хронотропных резервов сердца [1–4]. Существующие в организме стресслимитирующие системы ограничивают стресс-реакцию, значительная роль в этом принадлежит NO-эргической системе [5, 6]. Об этом свидетельствуют литературные данные, которые показывают, что гипоталамус и гипофиз, составляющие центральный отдел стресс-системы, иннервируются NO-эргическими

нейронами, и NO модулирует высвобождение в них кортикотропин-рилизинг-гормона и вазопрессина [7]. На периферии NO-нейроны, контактируя с хромаффинными клетками надпочечников, синтезирующими катехоламины, и угнетая их выделение, ограничивают активацию симпатoadренальной системы [8]. Монооксид азота повышает активность антиоксидантных ферментов и экспрессию кодирующих их генов в условиях окислительного стресса, что может способствовать уменьшению стрессорной активации свободно-радикального окисления и повреждения клеток [9].

I.N. Tyurenkov, V.N. Perfilova, N.V. Sadikova

Volgograd State Medical University, Russian Federation

Change of Cardiac Ino- and Chronotropic Functions in Stressed Animals with Blockade of Different NO-Synthases

Aim: to investigate the effect of long-term immobilization-painful stress on ino- and chronotropic functions of the heart with inhibition of various NO-synthases. **Materials and methods:** 30 female albino rats were taken. Blockers of NO-system were: aminoguanidine (50 mg/kg), 7-Nitroindazole (50 mg/kg) and NG-nitro-L-arginine methyl ester (10 mg/kg). Stress was modeled by suspending the animals for cervical dorsal skin fold for 24 hours. The functional reserves of the heart were studied using adrenoactivity and isometric load tests. **Results:** experiments showed that immobilization-painful stress leads to a decrease of cardiac ino- and chronotropic functions which is observed in the reduction of increment $dp/dt+$, $dp/dt-$, LVP and HR during load tests in comparison to control group of intact animals. Selective blockade of nNOS with 7-Nitroindazole causes even greater decrease an increment indices of myocardial contractility and LVP in stressed animals during load tests. The most pronounced inhibition of inotropic function of the stressed animal's heart observed in the non-selective inhibition of NO-synthases by L-NAME. Administration of aminoguanidine to animals (inducible NOS blocker) before and after stress causes an increase of inotropic reserve of the heart, resulting in increased increment of myocardial contractility and relaxation findings, left ventricular pressure and heart rate during load tests. **Conclusions:** NO-ergic system plays a significant role in limiting of the negative stress effects on the contractile function of the heart.

Key words: blockers of NO-synthases, immobilization-painful stress, cardiac ino- and chronotropic functions.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 46–50)

В кардиомиоцитах оксид азота синтезируется при участии трех NO-синтаз (NOS): конститутивных — нейрональной и эндотелиальной (nNOS и eNOS), и индуцибельной (iNOS) [10–12]. Конститутивные NOS вырабатывают базальный и стимулируемый уровень монооксида азота, который оказывает положительный инотропный эффект; под его влиянием укорачивается период сокращения и расслабления миокарда, увеличивается его растяжимость в диастоле [13]. Индуцибельная NOS экспрессируется при различных патологических процессах в кардиомиоцитах и лейкоцитах. Лейкоцитарная iNOS продуцирует избыточное количество NO, что приводит к образованию пероксинитрита и повреждению клеток сердца. Монооксид азота, вырабатываемый iNOS кардиомиоцитов, оказывает защитное действие, положительно влияет на сократимость и инотропные резервы сердца при ишемии и реперфузии [14–17].

Таким образом, кардиопротективные и кардиодепрессивные эффекты монооксида азота зависят от его концентрации, места продукции и функционального состояния организма [17, 18].

Цель исследования: изучить влияние длительного иммобилизационно-болевого стресса на ино- и хронотропные резервы сердца при ингибировании различных NO-синтаз.

Материалы и методы

Участники исследования

Эксперименты проводили на 30 беспородных крысах-самках массой 250–280 г. Были сформированы следующие группы животных: группа позитивного контроля — интактные животные ($n = 6$); группа негативного контроля — стрессированные животные, которым вводили физиологический раствор (0,1 мл/100 г массы тела животного; $n = 6$), 3 опытные группы — стрессированные животные, получавшие селективный ингибитор индуцибельной NOS амингуанидин в дозе 50 мг/кг ($n = 6$), стрессированные животные, которым вводили селективный блокатор нейрональной NOS 7-нитроиндазол в дозе 50 мг/кг ($n = 6$) и стрессированные животные, получавшие неселективный ингибитор NOS N-нитро-L-аргинин-метиловый эфир (L-NAME) в дозе 10 мг/кг ($n = 22$). Иммобилизационно-болевого стресс моделировали подвешиванием крыс за дорсальную шейную кожную складку на 24 ч. Ингибиторы вводили внутрибрюшинно за 10 мин до и через 10 мин после стрессирования. Изучение функциональных резервов сердца стрессированных животных в условиях блокады NOS осуществляли с использованием пробы на адренореактивность (внутривенное введение адреналина в разведении 10^{-7} г/л в объеме 0,1 мл/100 г массы тела животного) и изометрической нагрузки (окклюзия восходящей части дуги аорты на 30 с) [19].

Методы исследования

Исследование сократимости миокарда проводили через 20 мин после стрессирования. Для этого животных наркотизировали хлоралгидратом (400 мг/кг внутрибрюшинно), и после перевода на искусственную вентиляцию легких в четвертом межреберье осуществляли торакотомию, а затем — перикардотомию. Через верхушку сердца в полость левого желудочка вводили катетер и посредством компьютерного гемодинамического анализатора на базе программы BEAT (Россия) регистрировали пока-

затели кардиогемодинамики: максимальную скорость сокращения ($dp/dt+$) (мм рт.ст./с), максимальную скорость расслабления ($dp/dt-$) (мм рт.ст./с), левожелудочковое давление (ЛЖД) (мм рт.ст.), частоту сердечных сокращений (ЧСС) (уд./мин).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку результатов исследования проводили в пакете прикладных программ STATISTICA v. 10 (Statsoft Inc., США) с предварительной проверкой выборок на нормальность распределения. Согласно характеру полученных данных применяли t -критерий Стьюдента. Данные представлены в виде $M \pm SE$, где M — выборочное среднее, SE — стандартная ошибка среднего. Различия средних величин считали значимыми при уровне $p \leq 0,05$.

Результаты

Установлено, что при стимуляции адренорецепторов сердца у интактной группы животных прирост показателей сократимости миокарда ($dp/dt+$ и $dp/dt-$), ЛЖД и ЧСС увеличился по сравнению с исходными значениями на 66,8; 77,7; 68,0 и 94,9%, соответственно. У животных, подвергшихся длительному эмоционально-болевого стрессированию, при введении адреналина прирост скоростей сокращения и расслабления миокарда ($dp/dt+$ и $dp/dt-$), ЛЖД и ЧСС составил 27,7; 45,4; 36,1 и 41,6%, соответственно, что было достоверно ниже по сравнению с интактной группой на 58,5; 41,6; 46,9 и 56,2%, соответственно (рис. 1, А–Г).

При проведении пробы на адренореактивность в группе животных, получавших ингибитор индуцибельной NOS амингуанидин в дозе 50 мг/кг, прирост скорости сокращения миокарда и ЛЖД составил 32,6 и 53,5%, что было на 17,7 и 48,2% выше показателей животных группы негативного контроля; прирост скорости расслабления миокарда существенно не отличался от такового группы сравнения, а ЧСС составила 17,5% и оказалась ниже на 57,9% (см. рис. 1, А–Г).

Введение селективного блокатора нейрональной NOS 7-нитроиндазола в дозе 50 мг/кг до и после стрессирования животных при проведении пробы на адренореактивность вызвало несущественный прирост $dp/dt+$, $dp/dt-$, ЛЖД и ЧСС: 21,3, 18,8, 24,6 и 24,1%, соответственно, что было ниже такового контрольной группы стрессированных животных на 23,1, 58,6, 31,8 и 42,1%, соответственно (см. рис. 1, а–г).

Неселективный блокатор NOS L-NAME в дозе 10 мг/кг вызывал еще более выраженное снижение показателей сократимости миокарда в ответ на нагрузку адреналином: прирост $dp/dt+$, $dp/dt-$, ЛЖД и ЧСС составил 13,5; 17,4; 26,6 и 13,3%, соответственно, что было на 51,3; 61,7; 26,3 и 68,0% ниже прироста контрольной группы стрессированных животных (см. рис. 1, а–г).

При проведении изометрической нагрузки у стрессированных животных прирост показателей сократимости миокарда ($dp/dt+$ и $dp/dt-$), ЛЖД и ЧСС на 5-й секунде пережатия восходящей части аорты составил 44,9; 41,8; 69,2 и 17,5%, соответственно, что было на 26,0; 24,1; 37,3 и 60,9% меньше показателей интактной группы. Через 25 с работы сердца в изометрическом режиме у стрессированных животных прирост $dp/dt+$, $dp/dt-$, ЛЖД и ЧСС составил 34,4; 30,3; 57,6 и 7,5%, что было ниже значений группы позитивного контроля на 31,9; 29,7; 41,0; 83,4%, соответственно (см. рис. 1, а–г).

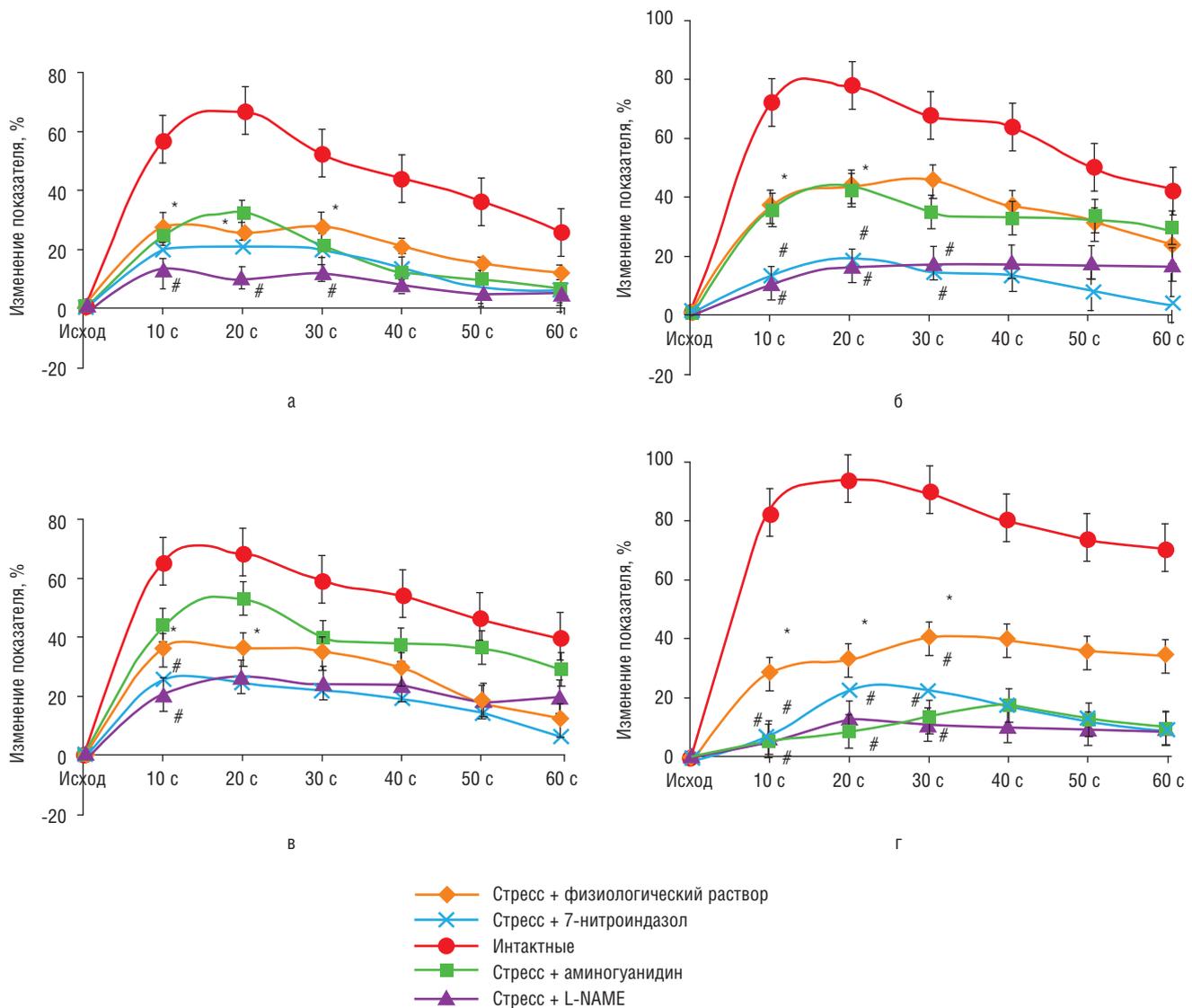


Рис. 1. Изменение скорости сокращения (а), скорости расслабления (б), левожелудочкового давления (в) и частоты сердечных сокращений (г) у стрессированных животных в условиях блокады NO-синтаз по сравнению с группой негативного контроля при проведении пробы на адренореактивность.

Примечание (здесь и на рис. 2). * — данные достоверны относительно интактной группы по *t*-критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$; # — данные достоверны относительно группы негативного контроля по *t*-критерию Стьюдента при $p \leq 0,05$.

В группе животных, получавших аминогуанидин, на 5-й секунде пережатия аорты прирост ЛЖД составил 93,2%, что было выше показателя контрольной группы стрессированных животных на 47,9%; прирост скорости сокращения миокарда и ЧСС существенно не различался и составил 46,9 и 16,7%; прирост скорости расслабления миокарда составил 32,2%, что было ниже на 21,4% по сравнению с группой негативного контроля. Через 25 с окклюзии аорты прирост $dp/dt+$ практически не отличался от такового контрольной группы; $dp/dt-$ составил 20,5%, что было ниже показателя контрольной группы на 30,7%; ЛЖД и ЧСС составили 78,1 и 30,6%, что было на 50,8 и 22,4% выше, чем в соответствующей группе контроля (рис. 2, а–г).

У стрессированных животных, получавших 7-нитроиндазол, в условиях изометрической нагрузки на 5-й секунде окклюзии аорты прирост скорости сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД составил 36,9; 29,7 и 61,7%, что было ниже значений контрольной группы

стрессированных животных на 17,8; 28,9 и 11%, соответственно; прирост ЧСС составил 19,3%, что было на 10% выше такового группы сравнения. На 25-й секунде работы сердца в изометрическом режиме прирост скорости сокращения и расслабления миокарда и ЛЖД составил 12,3; 18,1 и 42,8%, соответственно, что было ниже показателей группы негативного контроля на 61,9; 49,4 и 29,5%; прирост ЧСС составил 9,7%, что было на 29,2% выше такового контрольной группы животных (см. рис. 2, а–г).

В группе животных, получавших L-NAME, прирост $dp/dt+$, $dp/dt-$, ЛЖД и ЧСС на 5-й секунде пережатия аорты составил 20,2; 16,5; 26,0 и 6,9%, соответственно, что было ниже на 54,8; 55,9; 63,6 и 57,9% показателей контрольной группы стрессированных животных. На 25-й секунде окклюзии аорты прирост показателей составил 0,7; -6,2; 18,8 и 0,2%, соответственно, что было ниже таковых группы негативного контроля на 98,6; 114,7; 68,9 и 91% и свидетельствовало о значительном снижении ино-

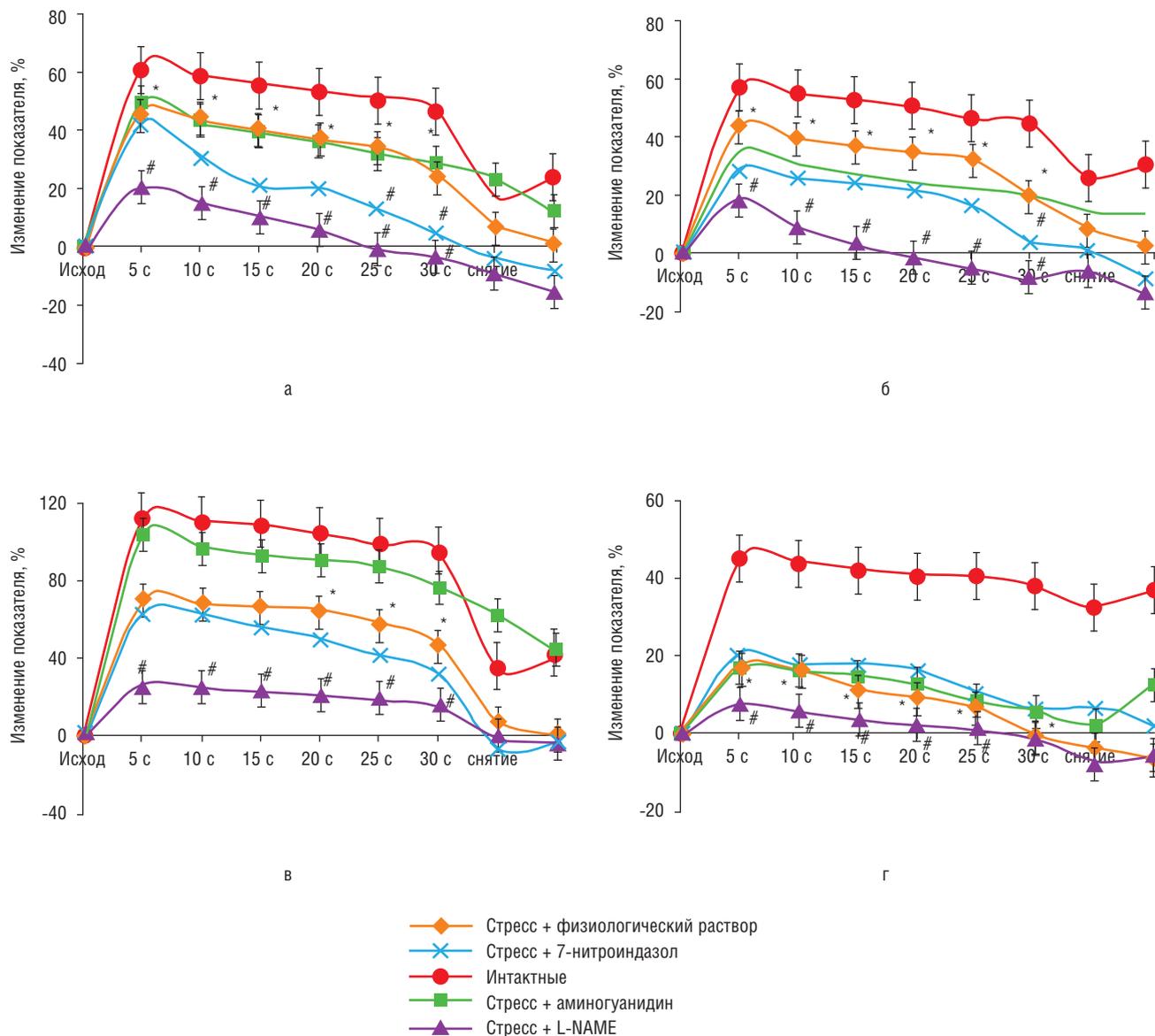


Рис. 2. Изменение скорости сокращения (а), скорости расслабления (б), левожелудочкового давления (в) и частоты сердечных сокращений (г) у стрессированных животных в условиях блокады NO-синтазы по сравнению с группой негативного контроля при максимальной изометрической нагрузке.

и хронотропной функции сердца, обусловленном дефицитом монооксида азота (см. рис. 2, а–г).

Обсуждение

Ранее нами уже было показано, что двадцатичетырехчасовое стрессорное воздействие приводит к снижению ино- и хронотропных резервов сердца у животных, о чем свидетельствует уменьшение прироста скоростей сокращения и расслабления миокарда, ЛЖД и ЧСС по сравнению с интактными животными при проведении пробы на адренореактивность и при максимальной изометрической нагрузке. Ингибирование NOS неселективным блокатором *L*-NAME значительно снижает стрессоустойчивость животных, о чем говорит высокий процент их гибели во время стрессирования, после наркоза, при вскрытии грудной клетки и после проведения нагрузочных проб. Кроме того, введение *L*-NAME вызывает вы-

раженное падение прироста $dp/dt+$, $dp/dt-$, ЛЖД и ЧСС по сравнению с контрольной группой стрессированных животных [4]. По всей вероятности, это связано с существенным снижением активности конститутивных и индуцибельной NOS, глубоким дефицитом монооксида азота, усугублением на этом фоне повреждающего действия стресса на сердце, сопровождающегося значительными функциональными нарушениями.

В данной работе мы поставили цель определить степень участия отдельных (нейрональной и индуцибельной) NOS в стрессорном повреждении сердца. Блокада нейрональной NOS селективным ингибитором 7-нитроиндазолом у стрессированных животных вызывает еще более выраженное снижение инотропных резервов сердца, отмечается меньший прирост показателей сократимости миокарда и ЛЖД относительно контрольной группы стрессированных животных. Очевидно, это связано с тем, что в условиях физиологической нормы нейрональная NOS кардиомиоцитов, локализованная в саркоплазматиче-

ческом ретикулуме, синтезирует NO, который стимулирует циклическое перемещение ионов кальция, регулирует процессы сопряжения возбуждения и сокращения, увеличивает сократимость миокарда [13, 20]. Блокада nNOS и дефицит монооксида азота приводят к нарушению сбалансированности процессов сокращения и расслабления, снижению инотропных резервов сердца.

У стрессированных животных, получавших селективный ингибитор индуцибельной NOS аминогуанидин, пророст показателей сократимости миокарда и ЛЖД при проведении нагрузочных проб в большинстве случаев превосходил таковой у стрессированных животных контрольной группы. По-видимому, это связано с тем, что при стрессорном воздействии активность iNOS возрастает; образующиеся при этом высокие концентрации NO оказывают негативное инотропное влияние. Селективное ингибирование iNOS предупреждает гиперпродукцию монооксида азота, при этом конститутивные NOS обеспечивают его базальные уровни, которые оказывают противоположное действие, улучшают сократимость миокарда.

Заключение

Стрессирование животных на фоне селективной блокады nNOS приводит к большему снижению ино- и хронотропных резервов сердца при проведении пробы на адренореактивность и при максимальной изометрической нагрузке по сравнению с контрольной группой стрессированных животных.

Избирательное ингибирование индуцибельной NOS значительно уменьшает стрессорное повреждение миокарда, что выражается в более высоких показателях у них скорости сокращения и расслабления миокарда и левожелудочкового давления при проведении нагрузочных проб по сравнению с контрольной группой стрессированных животных.

Неселективная блокада всех NO-синтаз при введении L-NAME вызывает значительное снижение стрессоустойчивости животных, выраженное падение ино- и хронотропных резервов сердца по сравнению с группой негативного контроля.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалев Г.В., Гурбанов К.Г., Тюренков И.Н., Найденов С.Н. Влияние транквилизаторов на функциональное состояние миокарда при его стрессорном повреждении. *Фармакология и токсикология*. 1983; 46 (3): 41–44.
2. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца. М. 1984. 269 с.
3. Перфилова В. Н. Кардиопротекторные свойства структурных аналогов ГАМК. *Автореф. дис. ... докт. биол. наук. Волгоград*. 2009.
4. Тюренков И.Н., Перфилова В.Н., Арсенова Н.В. Влияние иммобилизационно-болевого стресса на ино- и хронотропные функции сердца животных в условиях подавления синтеза оксида азота. *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2012; 98 (9): 1131–1139.
5. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресслимитирующая система оксида азота. *Росс. физиол. журн. им. И.М. Сеченова*. 2000; 10: 1283–1292.
6. Gealekman O., Abassi Z., Rubinstein I., Winaver J., Binah O. Role of myocardial inducible nitric oxide synthase in contractile dysfunction and beta-adrenergic hyporesponsiveness in rats with experimental volume-overload heart failure. *Circulation*. 2002; 105 (2): 236–243.
7. Мацко М.А. Соотношение некоторых медиаторов стрессреализующих и стресслимитирующих систем в остром периоде ишемического инсульта. *Патол. физиол. и эксп. тер.* 2004; 4: 14–16.
8. Herbert J., Goodyer I.M., Grossman A.B., Hastings M.H., de Cloet E.R., Lightman S.L., Lupien S.J., Roozendaal B., Seck J.R. Do corticosteroids damage the brain? *J. Neuroendocrinol.* 2006; 18: 393–411.
9. Малышев И.Ю., Манухина Е.Б. Стресс, адаптация и оксид азота. *Биохимия*. 1998; 63 (7): 992–1006.
10. Balligand J.L., Cannon P.J. Nitric oxide synthases and cardiac muscle. Autocrine and paracrine influences. *Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.* 1997; 17: 1846–1858.
11. Buchwalow I.B., Schulze W., Karczewski P., Kostic M.M., Wallukat G., Morwinski R., Krause E.G., Muller J., Paul M., Slezak J., Luft F.C., Haller H. Inducible nitric oxide synthase in the myocardium. *Mol. Cell. Biochem.* 2001; 217 (1–2): 73–82.
12. Krenek P., Kmecova J., Kucerova D., Bajuszova Z., Musil P., Gazova A., Ochodnický P., Klimas J., Kyselovic J. Isoproterenol-induced heart failure in the rat is associated with nitric oxide-dependent functional alterations of cardiac function. *Eur. J. Heart. Fail.* 2009; 11 (2): 140–146.
13. Парахонский А.П. Роль нейрональной NO-синтазы в патологии сердца. *Фундаментальные исследования*. 2010; 9: 208–209.
14. Парахонский А.П. Кардиопротекторные эффекты индуцируемой NO-синтазы. *Совр. наукоемк. технол.* 2010; 9: 207–208.
15. Cuevas P., Carceller F., Martinez-Coso V., Cuevas B., Fernandez-Ayerdi A., Reimers D., Asin-Cardiel E., Gimenez-Gallego G. Cardio-protection from ischemia by fibroblast growth factor: role of inducible nitric oxide synthase. *Eur. J. Med Res.* 1999; 4 (12): 517–524.
16. Bolli R. Cardioprotective function of inducible nitric oxide synthase and role of nitric oxide in myocardial ischemia and preconditioning: an overview of a decade of research. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2001; 33 (11): 1897–1918.
17. Jones S.P., Bolli R. The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection. *J. Mol. Cell Cardiol.* 2006; 40 (1): 16–23.
18. Muller-Strahl G., Kottenberg K., Zimmer H.G., Noack E., Kojda G. Inhibition of nitric oxide synthase augments the positive inotropic effect of nitric oxide donors in the rat heart. *J. Physiol.* 2000; 522: 311–320.
19. Миронов А.Н., Бунатян Н.Д. Рук-во по проведению доклинических исследований лекарственных средств. М. 2012. 944 с.
20. Alvarez S., Boveris A. Mitochondrial nitric oxide metabolism in rat muscle during endotoxemia. *Free Radic. Biol. Med.* 2004; 37 (9): 1472–1478.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Тюренков Иван Николаевич, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, заведующий кафедрой фармакологии и биофармации ФУВ ГБОУ ВПО «ВолгГМУ» МЗ РФ

Адрес: 400001, Волгоград, ул. Пугачевская, д. 3, тел.: (8442) 97-81-80, e-mail: fibfuv@mail.ru

Перфилова Валентина Николаевна, доктор биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии сердечно-сосудистых средств НИИ фармакологии ГБОУ ВПО «ВолгГМУ» МЗ РФ

Адрес: 400001, Волгоград, ул. Пугачевская, д. 3, тел.: (8442) 97-81-80, e-mail: vnperfilova@mail.ru

Садикова Наталья Владимировна, заочный аспирант кафедры фармакологии и биофармации ФУВ ГБОУ ВПО «ВолгГМУ» МЗ РФ

Адрес: 400001, Волгоград, ул. Пугачевская, д. 3, тел.: (8442) 97-81-80, e-mail: arsyonova.n@mail.ru

А.А. Чернозуб

Черноморский государственный университет им. П. Могила, Николаев, Украина

Вариабельность сердечного ритма у нетренированных юношей в условиях различных режимов силовой нагрузки

Цель исследования: изучить особенности variability ритма сердца у нетренированных юношей под влиянием силовых нагрузок в условиях применения определенных тренировочных режимов в процессе продолжительных занятий атлетизмом. **Пациенты и методы:** в обследовании участвовали 40 юношей в возрасте 19–20 лет, не имеющих противопоказаний для занятий с отягощениями. Исследование показателей тренировочной нагрузки, используемых представителями обеих групп в процессе занятий, проводили методом определения индекса тренировочной нагрузки в атлетизме. Для определения значений показателей статистического и спектрального анализа ритма сердца применяли кардиомонитор Polar RS800CX. Контроль исследуемых показателей в состоянии покоя и после силовой нагрузки осуществляли на протяжении 3 мес занятий атлетизмом с интервалом 1 мес. **Результаты:** использование в процессе занятий атлетизмом силовых нагрузок с большим объемом работы и низкой интенсивностью значительно усиливает активность центральных механизмов нейрогуморальной регуляции ритма сердца за счет снижения парасимпатической активации автономной нервной системы на синусовый узел сердца, нежели нагрузки высокой интенсивности с малым объемом работы. **Выводы:** результат долговременной адаптации к занятиям атлетизмом в условиях разных режимов нагрузки характеризуется экономизацией функционирования сердечно-сосудистой системы нетренированного контингента.

Ключевые слова: variability ритма сердца, режим силовой нагрузки, нейрогуморальная регуляция, мощность спектра, нетренированные юноши.

(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 51–56)

51

Введение

В настоящее время одной из актуальных проблем спортивной подготовки и физиологии спорта является изучение влияния физических нагрузок различной направленности на функциональное состояние организма человека [1]. Variability ритма сердца (ВРС) является эффективным методом оценки состояния регуляторных механизмов, нейрогуморальной регуляции деятельности сердца, соотношения активации симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы,

влияния автономного и центрального контура управления ритмом сердца [2, 3].

Использование данного метода неинвазивных функциональных исследований позволяет прогнозировать общие тенденции в развитии различных процессов в организме, в т.ч. адаптационных механизмов в условиях напряженной мышечной деятельности, а также риск развития патологического и компенсаторного процесса [4, 5].

Известно, что метод ВРС активно используют в процессе контроля и управления системой подготовки спор-

А.А. Chernozub

Chernomorsk State University named after P. Mogila, Nikolaev, Ukraine

Heart Rate Variability in Untrained Young Men Under Different Power Loading Modes

Aim: to study features of variability of a rhythm of heart at unexercised young men under the influence of power loadings in the conditions of application of certain training modes in the course of long occupations by athleticism. **Patients and methods:** 40 young men participated in inspections at the age of 19–20 years, not having contraindications for occupations with burdenings. Research of indicators of training loading of both groups used by representatives in the course of occupations conducted a method of definition of an index of training loading in athleticism. For determination of values of indicators of the statistical and spectral analysis of a rhythm of heart the Polar RS800CX cardiomonitor was used. Control of studied indicators at rest and after power loading carried out for 3 months of occupations by athleticism with an interval in 1 month. **Results:** use in the course of occupations by athleticism of power loadings with large volume of work and low intensity considerably increases activity of the central mechanisms of neurohumoral regulation of a rhythm of heart due to decrease in parasympathetic activation of autonomous nervous system on sinusovy knot of heart, than loading of high intensity with a small volume of work. **Conclusions:** the result of long-term adaptation to occupations by athleticism, in the conditions of different modes of loading, is characterized by existence of an ekonomization of functioning of cardiovascular system of the unexercised contingent.

Key words: heart rate variability, power loading mode, neurohumoral regulation, range capacity, untrained young men.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 51–56)

тсменов высокой квалификации [6, 7]. В то же время влияние новейших оздоровительных технологий (атлетизм, фитнес, йога), особенно в условиях использования различных режимов силовой нагрузки, на состояние занимающегося нетренированного человека и физиологические механизмы адаптационных перестроек при занятиях атлетизмом изучено недостаточно.

Таким образом, актуальным становится вопрос изучения адаптационных изменений, возникающих у нетренированных юношей в условиях занятий атлетизмом с использованием различных режимов силовой нагрузки. Кроме того, изучение механизмов адаптации в условиях мышечной деятельности имеет значение с точки зрения коррекции тренировочных программ за счет использования определенной вариативности компонентов тренировочной нагрузки.

Цель исследования: изучить особенности изменения показателей ВРС у нетренированных юношей в процессе занятий атлетизмом в условиях использования различных режимов силовой нагрузки.

Пациенты и методы

Участники исследования

Обследовано 40 практически здоровых, не занимающихся атлетизмом или другими силовыми видами спорта юношей в возрасте 19–20 лет. Обследованные были разделены на 2 группы: контрольная и экспериментальная.

Все наблюдаемые предварительно прошли полный медицинский осмотр и комплексный лабораторный контроль (9 показателей), по результатам которых не имели медицинских противопоказаний к участию в исследовании.

Методы исследования

В качестве модельной мышечной деятельности на протяжении 3 мес тренировок использовалась нагрузка силового характера. Обследуемые представители контрольной группы выполняли физическую нагрузку следующего характера: число силовых упражнений — 4; в каждом упражнении 4 серии по 8 повторений с интервалом отдыха 1 мин; темп выполнения упражнений — быстрый (1/2–1 с в преодолевающем режиме, 2 с — в уступающем режиме); упражнения выполнялись с полной амплитудой (100%); масса отягощения в данных условиях составляла 78–85% максимальной.

Участники экспериментальной группы при этом получали нагрузку следующего характера: число силовых упражнений — 4; в каждом упражнении 4 серии по 4 повторения с интервалом отдыха 1 мин; темп выполнения упражнения — очень медленный (3/6–3 с в преодолевающем режиме, 6 с — в уступающем режиме); упражнения выполнялись с неполной амплитудой (90% максимальной); масса отягощения в данных условиях составляла 65–68% максимальной. Общая продолжительность отдельного тренировочного занятия для представителей каждой группы составляла 29–32 мин.

Исследование показателей тренировочной нагрузки проводили методом определения индекса тренировочной нагрузки в атлетизме [8]. Определяли параметры максимальных силовых возможностей участников в тестовых упражнениях. Рассчитывали следующие показатели нагрузки: коэффициент внешнего сопротивления (R_a), который отображает уровень интенсивности физической нагрузки в зависимости от структуры тренировки

и условий ее проведения; относительный вес отягощения (W_a), величины которого демонстрируют наиболее адекватный функциональным возможностям организма вес снаряда в заданных характеристиках силовой нагрузки; величину силовой нагрузки (W_n), которая отображает объем выполненной работы за единицу времени с учетом особенностей структуры тренировочного занятия и характера силовых нагрузок; индекс тренировочной нагрузки (ITNA), величина которого представляет собой порог утомления организма человека в условиях определенного режима силовой нагрузки. Контроль исследуемых показателей производили 4 раза с интервалом 1 мес на протяжении 3 мес систематических занятий атлетизмом.

Автономную регуляцию оценивали по показателям статистического анализа ВРС. Для этой цели использовали кардиомонитор Polar RS800CX (POLAR ELECTRO OY, Финляндия). Регистрировали параметры автономной регуляции ритма сердца и результаты спектрального анализа сердечного ритма у нетренированных юношей обеих групп. Полученные данные в дальнейшем были обработаны с помощью статистической программы KubiosHRV (Финляндия). Анализ вариабельности ритма сердца производился лежа в течение 5 мин до и после физических нагрузок в начале исследований и после 3 мес занятий атлетизмом.

Статистическая обработка данных

Статистический анализ результатов исследования выполняли с использованием пакета программ IBM *SPSS* Statistics 20 (StatSoft Inc., США). Применяли методы параметрической статистики, позволяющие вычислить среднее арифметическое, стандартную ошибку среднего. Уровень достоверности определяли с помощью парного двухвыборочного t -теста для средних. Также использовали методы непараметрической статистики в виде критерия знаковых ранговых сумм Вилкоксона. Для демонстрации распределения данных использовали интерквартильный размах с указанием 1-й (25% перцентиль) и 3-й (75% перцентиль) квартили.

Результаты

В табл. 1 представлены значения параметров силовой нагрузки участников исследования в условиях различных режимов тренировки, которой подвергались представители обеих групп на протяжении 3 мес занятий.

Анализ данных (см. табл. 1) свидетельствует о том, что используемый юношами экспериментальной группы режим силовой нагрузки характеризуется более высоким уровнем интенсивности ($R_a = 0,71$ у.е.) и порогом утомления организма (ITNA = 0,87 у.е.) в условиях данной двигательной активности по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе. Наличие достоверной разницы значений показателей относительного веса отягощений и величины силовой нагрузки между представителями обеих групп на фоне положительной динамики роста силовых возможностей их организма в процессе 3 мес занятий атлетизмом указывает на определенную закономерность влияния режима силовой нагрузки на результативность.

Таким образом, физические нагрузки с большим объемом работы и низкой интенсивностью оказывают менее значимое влияние на рост результативности в сравнении с нагрузками высокой интенсивности и малым объемом работы.

Таблица 1. Значение параметров силовой нагрузки участников исследования в условиях различных режимов тренировок на протяжении 3 мес занятий атлетизмом, $M \pm m$ ($n=40$)

Показатели	Группы участников	Этапы контроля			
		Исходные данные	После 1-го мес тренировок	После 2-го мес тренировок	После 3-го мес тренировок
Силовые возможности организма, кг	Контрольная	63,25±1,91*	74,53±2,15*	84,02±2,72*	90,03±2,99*
	Экспериментальная	63,41±2,56*	80,48±2,65*	93,15±2,56*	101,56±2,52*
Ra, у.е.	Контрольная	0,64±0,01	0,64±0,01	0,64±0,01	0,64±0,01
	Экспериментальная	0,71±0,01	0,71±0,01	0,71±0,01	0,71±0,01
Wa, кг	Контрольная	40,48±0,46	47,70±0,51*	53,80±0,49*	57,62±0,66*
	Экспериментальная	45,02±0,34	57,14±0,68*	66,13±0,59*	72,11±1,04*
ITNA, у.е.	Контрольная	0,71±0,01	0,71±0,01	0,71±0,01	0,71±0,01
	Экспериментальная	0,87±0,01	0,87±0,01	0,87±0,01	0,87±0,01
Wp, кг/мин	Контрольная	506,01±8,64	596,25±7,3*	672,50±8,31*	720,25±6,5*
	Экспериментальная	300,13±8,23	380,93±4,8*	440,86±5,812*	480,73±6,3*

Примечание. * — $p < 0,05$ по сравнению с результатами предыдущего месяца.

Таблица 2. Результаты исследования статистических показателей variability ритма сердца у нетренированных юношей контрольной и экспериментальной группы в начале занятий атлетизмом, Me (25; 75) ($n=40$)

Показатель	Группы участников	Состояние покоя	После физической нагрузки
Частота сердечных сокращений, уд./мин (Mean HR)	Контрольная	82,01 (80,39; 115,33)	141,83* (131,50; 148,14)
	Экспериментальная	85,74 (85,37; 105,93)	131,16* (130,40; 139,21)
Средняя продолжительность R–R-интервалов, мс (Mean RR)	Контрольная	736,98 (512,46; 746,98)	427,20*(406,80; 458,70)
	Экспериментальная	702,85 (574,58; 705,07)	461,40* (434,17; 463,40)
Стандартное отклонение R–R-интервалов, мс (SDNN)	Контрольная	55,22 (32,03; 58,70)	33,10* (28,00; 41,42)
	Экспериментальная	49,57 (32,28; 51,53)	38,65* (32,47; 40,10)
SD ₁ , мс	Контрольная	16,03 (12,38; 26,46)	2,60* (2,20; 3,30)
	Экспериментальная	18,27 (9,33; 18,40)	3,60* (3,40; 4,90)
SD ₂ , мс	Контрольная	75,07 (43,73; 77,98)	46,50* (39,40; 58,30)
	Экспериментальная	69,47 (44,55; 72,06)	54,3 (45,22; 56,40)

Примечание (здесь и в табл. 3–5). * — $p < 0,05$ по сравнению с состоянием покоя.

В табл. 2 представлены результаты исследования статистических показателей ВРС у нетренированных юношей в условиях применения различных режимов силовой нагрузки в начале занятий атлетизмом.

Анализ данных (см. табл. 2) свидетельствует о том, что у представителей обеих групп в состоянии покоя показатели, отражающие состояние системы регуляции сердечного ритма, находятся в пределах физиологической нормы для здоровых нетренированных людей [9].

После однократного тренировочного занятия атлетизмом в условиях применения различных режимов силовой нагрузки у представителей обеих групп наблюдается изменение значений показателей сердечно-сосудистой системы (см. табл. 2). Это проявляется повышением частоты сердечных сокращений, уменьшением средней продолжительности R–R-интервалов, что свидетельствует о росте степени напряжения системы вегетативной регуляции ритма сердца. Уменьшение значения показателя SDNN свидетельствует об усилении симпатической регуляции, которая подавляет активность автономного контура. Изменения параметров скатерграммы кардиоинтервалов у представителей обеих групп после силовой нагрузки в начале программы исследований характеризуются достоверным снижением SD₁ (см. табл. 2). Это обстоятельство указывает на ослабление аperiодических колебаний ритма сердца у атлетов под влиянием физических нагрузок.

Таким образом, в начале программы исследований у нетренированных юношей реакция сердечно-сосуди-

стой системы отражает сниженный уровень толерантности к физическим нагрузкам вне зависимости от уровня их интенсивности, объема выполненной работы и величины отягощения.

В табл. 3 представлены значения параметров спектрального анализа сердечного ритма у нетренированных юношей в покое и после физической нагрузки в начале программы исследований. В процессе тренировочного занятия представители экспериментальной группы использовали режим нагрузки высокой интенсивности и малого объема работы, а юноши контрольной группы — режим низкой интенсивности и большого объема работы.

Анализ (см. табл. 3) свидетельствует о наличии достоверных различий между обеими группами юношей в состоянии покоя по показателям высокочастотных колебаний кардиоинтервалов (HF), общей мощности спектра кардиоинтервалов (Total) и вегетативного баланса (LF/HF).

В то же время высокий уровень показателя VLF по сравнению с нормой (15–30%), фиксированный у представителей обеих групп, свидетельствует о гиперадаптивном состоянии (напряжение всех регуляторных систем организма) [9]. Также выявлено, что у нетренированных юношей экспериментальной группы показатель HF(%) составляет 5,8% суммарной мощности спектра при норме 15–25% [9], что указывает на смещение вегетативного баланса в сторону преобладания симпатического отдела.

Результаты исследований, зафиксированные после физической нагрузки, демонстрируют преобладание

сверхнизкочастотного спектра (VLF, %) ритма сердца. При этом наблюдается достоверное уменьшение общей мощности спектра колебаний кардиоинтервалов (снижается суммарный уровень активности различных звеньев регуляторного механизма). Увеличение показателя вегетативного баланса у нетренированных юношей в ответ на силовую нагрузку свидетельствует о росте напряженности вегетативной регуляции ритма сердца за счет ослабления активации парасимпатического тонуса.

Полученный результат свидетельствует об усилении центральных механизмов нейрогуморальной регуляции ритма сердца за счет снижения парасимпатического влияния автономной нервной системы на синусовый узел сердца.

Таким образом, использование в процессе тренировки силовых нагрузок большого объема работы и низкой интенсивности значительно усиливает влияние сверхнизкочастотного спектра колебаний кардиоинтервалов с одновременным снижением активации низкочастотного и высокочастотного спектров колебаний кардиоинтервалов в сравнении с данными, фиксированными при работе в режиме высокой интенсивности и малом объеме работы (см. табл. 3). Установленный факт отражает процесс значительного преобладания активации центрального контура регуляции ритма сердца за счет активации нейрогуморального и метаболического факторов [10].

В табл. 4 приведены результаты исследования статистических показателей ВРС у представителей контрольной и экспериментальной группы после 3 мес занятий атлетизмом.

Анализ результатов долговременных изменений сердечно-сосудистой системы свидетельствует о том, что в состоянии покоя у представителей обеих групп через 3 мес занятий атлетизмом наблюдается достоверное снижение показателя частоты сердечных сокращений и, соответственно, рост средней продолжительности R–R-интервалов (см. табл. 4; $p < 0,05$) по сравнению с данными, зафиксированными в начале исследований (см. табл. 2). Изменения контролируемых показателей наиболее выражены у представителей контрольной группы. Также наблюдается тенденция к росту значения среднеквадратического отклонения R–R-интервалов в конце программы исследования (см. табл. 4) по сравнению с началом занятий атлетизмом (см. табл. 2), но изменения контролируемого показателя более выражены у юношей экспериментальной группы.

Этот факт указывает на наличие экономизации функционирования сердечно-сосудистой системы у нетренированных юношей обеих групп вследствие роста уровня толерантности организма к физическим нагрузкам как отражение результата долговременной адаптации.

Таблица 3. Значение параметров спектрального анализа сердечного ритма у нетренированных юношей исследуемых групп в начале занятий атлетизмом, Ме (25; 75) ($n = 40$)

Показатель	Группы участников	Состояние покоя	После физической нагрузки
Сверхнизкочастотный спектр, mc^2 (VLF)	Контрольная	2398,11 (550,90; 2779,55)	1303,00* (603,00; 1387,25)
	Экспериментальная	1656,84 (770,65; 1752,19)	1020,46 (861,00; 1122,00)
Низкочастотный спектр, mc^2 (LF)	Контрольная	928,27 (215,97; 1010,00)	40,00* (32,00; 41,75)
	Экспериментальная	574,79 (446,75; 626,14)	130,00* (91,25; 132,00)
Высокочастотный спектр, mc^2 (HF)	Контрольная	618,54 (148,25; 704,73)	4,50* (4,00; 5,00)
	Экспериментальная	146,43 (129,36; 216,32)	25,00* (24,25; 26,00)
VLF, %	Контрольная	60,20 (47,80; 63,50)	96,60* (93,20; 96,90)
	Экспериментальная	69,40 (49,77; 70,37)	85,85* (84,60; 90,47)
LF, %	Контрольная	23,60 (20,40; 39,55)	3,10* (2,80; 6,10)
	Экспериментальная	24,80 (23,70; 33,80)	11,85* (7,47; 13,00)
HF, %	Контрольная	15,90 (13,10; 16,20)	0,30* (0,28; 0,70)
	Экспериментальная	5,80 (5,65; 18,90)	2,35* (1,97; 2,50)
Total, mc^2	Контрольная	4377,25 (915,14; 4818,00)	1326,00* (647,00; 1432,50)
	Экспериментальная	2366,70 (1410,57; 2524,77)	1192,00* (1019,00; 1224,00)
Соотношение LF/HF, mc^2	Контрольная	1,45 (1,26; 2,86)	8,65* (7,66; 8,89)
	Экспериментальная	4,23 (1,94; 4,27)	4,96* (3,32; 5,19)

Таблица 4. Результаты исследования статистических показателей вариабельности ритма сердца у нетренированных юношей контрольной и экспериментальной группы после 3 мес занятий атлетизмом, Ме (25; 75) ($n = 40$)

Показатель	Группы участников	Состояние покоя	После физической нагрузки
Частота сердечных сокращений, уд./мин (Mean HR)	Контрольная	72,79 (69,44; 89,53)	116,73* (114,43; 121,89)
	Экспериментальная	81,48 (81,30; 88,25)	123,38* (114,12; 125,17)
Средняя продолжительность R–R-интервалов, мс (Mean RR)	Контрольная	832,20 (674,80; 883,65)	518,60* (507,30; 528,80)
	Экспериментальная	744,10 (685,60; 744,20)	492,20 (487,00; 531,70)
Стандартное отклонение R–R-интервалов, мс (SDNN)	Контрольная	78,40 (59,97; 125,10)	55,30* (47,00; 82,82)
	Экспериментальная	70,10 (51,87; 72,40)	54,95* (51,25; 60,00)
SD ₁ , мс	Контрольная	30,60 (21,57; 61,27)	5,50* (3,80; 7,52)
	Экспериментальная	12,60 (12,20; 18,00)	2,50* (2,10; 13,70)
SD ₂ , мс	Контрольная	106,70 (82,00; 165,77)	77,65* (66,10; 116,60)
	Экспериментальная	98,30 (71,22; 98,50)	76,70* (71,80; 84,60)

Таблица 5. Значение параметров спектрального анализа сердечного ритма у нетренированных юношей исследуемых групп после 3 мес занятий атлетизмом, Ме (25; 75) ($n=40$)

Показатель	Группы участников	Состояние покоя	После физической нагрузки
Сверхнизкочастотный спектр, ms^2 (VLF)	Контрольная	3058,50 (2133,50; 8206,75)	2096,50* (1396,00; 3716,00)
	Экспериментальная	3746,00 (1530,50; 3760,00)	1838,00* (1795,00; 2431,00)
Низкочастотный спектр, ms^2 (LF)	Контрольная	2428,00 (673,75; 2528,25)	84,50* (79,25; 92,50)
	Экспериментальная	717,00 (710,00; 760,00)	69,00* (62,50; 177,00)
Высокочастотный спектр, ms^2 (HF)	Контрольная	710,00 (505,25; 2156,25)	26,50* (12,00; 44,50)
	Экспериментальная	165,00 (160,00; 405,00)	6,00* (5,00; 78,00)
VLF, %	Контрольная	63,70 (60,60; 64,50)	95,35* (93,40; 96,50)
	Экспериментальная	80,90 (49,60; 80,90)	96,00* (87,80; 97,00)
LF, %	Контрольная	19,65 (19,60; 21,90)	3,95* (2,40; 7,70)
	Экспериментальная	15,50 (15,30; 33,05)	3,75* (2,80; 8,50)
HF, %	Контрольная	15,85 (12,70; 16,70)	0,90* (0,70; 1,10)
	Экспериментальная	3,60 (3,20; 17,82)	0,30* (0,22; 3,70)
Total, ms^2	Контрольная	5613,00 (3331,50; 12891,50)	2188,00* (1468,00; 3851,00)
	Экспериментальная	4332,15 (2624,75; 4628,00)	2093,00* (1868,00; 2498,00)
Соотношение LF/HF, ms^2	Контрольная	1,25 (1,17; 2,51)	5,20* (2,10; 6,79)
	Экспериментальная	4,35 (1,87; 4,40)	10,94* (2,27; 13,58)

После однократного тренировочного занятия атлетизмом в условиях применения различных режимов силовой нагрузки у представителей обеих групп зарегистрированы более адекватные изменения по показателям сердечно-сосудистой системы после 3 мес занятий атлетизмом (см. табл. 4), чем в начале программы исследований (см. табл. 2). Частота сердечных сокращений и, соответственно, средняя продолжительность $R-R$ -интервалов имеют достоверно меньшие изменения относительно состояния покоя (см. табл. 4), чем в начале исследования (см. табл. 2). Изменение показателя SDNN (среднеквадратического отклонения $R-R$ -интервалов) после силовой нагрузки на данном этапе исследования не отличается от значений в начале занятий атлетизмом.

Анализ результатов (см. табл. 4) свидетельствует о том, что зафиксированные практически идентичные между группами участников положительные изменения в сердечно-сосудистой системе наблюдаются при совершенно разных значениях показателей силовой нагрузки (см. табл. 1). Этот факт указывает на предпочтительное использования в процессе занятий атлетизмом режима силовой нагрузки высокой интенсивности и малого объема тренировочной работы.

Таким образом, по результатам исследования статистических показателей ВРС участников обеих групп после 3 мес занятий атлетизмом установлено, что процесс долговременных занятий атлетизмом приводит к экономизации функционирования сердечно-сосудистой системы.

В табл. 5 представлены значения параметров спектрального анализа сердечного ритма у нетренированных юношей после 3 мес занятий атлетизмом с использованием различных режимов силовой нагрузки.

Анализ значений показателей спектрального анализа ВРС у представителей обеих групп в начале (см. табл. 3) и после 3 мес занятий атлетизмом (см. табл. 5) продемонстрировал разницу в распределении по спектрам колебаний кардиоинтервалов. В конце программы исследования у представителей обеих групп в состоянии покоя выявлен еще более выраженный сверхнизкочастотный спектр и менее выраженный низкочастотный спектр колебаний ритма сердца (см. табл. 5) по сравнению с таковыми, зафиксированными в начале исследований (см. табл. 3). В то же время значения показате-

ля высокочастотного спектра и вегетативного баланса в состоянии покоя в конце исследования (см. табл. 5) практически не изменились по сравнению с первичными данными в начале исследований (см. табл. 3). Это свидетельствует о преобладании влияния центрального контура управления ритмом сердца у юношей исследуемых групп.

Результаты исследований, полученные после физической нагрузки, демонстрируют достоверное увеличение показателя сверхнизкочастотного спектра ритма сердца, значения низкочастотных и высокочастотных колебаний снижаются. Данный факт указывает на то, что превалирование в спектре мощности ВРС VLF-компонента подтверждает значительное преобладание симпатических влияний и отражает повышенную активность центрального, нейрогуморального и метаболического уровня регуляции у представителей контрольной и экспериментальной группы. При этом наблюдается достоверное уменьшение общей мощности спектра колебаний кардиоинтервалов (Total), что связано с активацией симпатического звена регуляции и может рассматриваться как неспецифический компонент адаптационной реакции в ответ на стрессовые воздействия.

Увеличение показателя вегетативного баланса у представителей обеих групп свидетельствует о росте напряженности вегетативной регуляции ритма сердца за счет ослабления активации парасимпатического тонуса (см. табл. 5). Это свидетельствует о значительной активации центрального контура и усилении симпатической регуляции сердечно-сосудистой системы.

Заключение

Анализ результатов исследования свидетельствует о том, что 2 группы нетренированных юношей отличаются не только по режиму силовой нагрузки, который они используют в процессе занятий, но и по степени изменения состояния регуляторных механизмов, нейрогуморальной регуляции деятельности сердца, соотношения активации симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы после физических нагрузок.

Изучение показателей ВРС у нетренированных юношей позволило установить, что процесс дол-

современной адаптации к физическим нагрузкам приводит к экономизации функционирования сердечно-сосудистой системы за счет роста уровня толерантности к силовым нагрузкам в процессе занятий атлетизмом.

Одновременно показано, что использование в процессе занятий атлетизмом силовых нагрузок с большим

объемом работы и низкой интенсивностью (юноши контрольной группы) значительно повышают усиление центральных механизмов нейрогуморальной регуляции ритма сердца за счет снижения парасимпатической активации автономной нервной системы на синусовый узел сердца, нежели нагрузки высокой интенсивности с малым объемом работы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баевский Р.М., Иванов Д.Г., Чирейкин Л.В. Анализ вариабельности сердечного ритма при использовании различных электрокардиографических систем. Метод. рекомендац. М. 2002. 53 с.
2. Aubert A.E., Steps B., Becker F. Heart rate variability in athletes. *Sports Medicine*. 2003; 33 (12): 889–919.
3. Коробейников Г. В. Контроль за психофизиологическим состоянием спортсменов высокой квалификации в условиях напряженной мышечной деятельности. Междунар. науч.-практ. конф. государств-участников СНГ по проблемам физ. культуры и спорта. Минск: БГУФК. 2010. С. 120–125.
4. Баевский Р.М., Берсенева А.П. Оценка адаптационных возможностей организма и риск развития заболеваний. М.: Медицина. 1997. 235 с.
5. Мальцева А.Б., Давыдов П.В., Лобов А.Н. Использование кардиоинтервалографии у высококвалифицированных спортсменов на примере сборных команд России по легкой атлетике и биатлону. *Лечебная физкультура и спортивная медицина*. 2009; 1: 17–22.
6. Михайлов В.М., Харламова Н.В., Беликова М.Э. Вариабельность ритма сердца как метод количественной оценки функционального состояния спортсменов. *Медицина и спорт*. 2005; 1: 19–21.
7. Aubert A.E., Seps B., Beckers F. Heart rate Variability in Athletes. *Sports Med*. 2003; 33 (12): 889–919.
8. Чернозуб А.А. Патент UA 76705 U, МПК А61В 5/22 (2006.01) Спосіб визначення індексу тренувального навантаження в атлетизмі. № u201208376. Заяв. 07.07.2012. Публ. 10.01.2013. Бюлл. № 1. 3 с.
9. Михайлов В.М. Вариабельность ритма сердца: опыт практ. применения. *Иваново: Гос. мед. академия*. 2002. 290 с.
10. Hirsch M., Karin J., Akselrod S. Heart rate variability in the fetus. In: Heart rate variability. M. Malik, A.J. Camm (eds.). *Armonk. NY. Futura Publish. Comp. Inc*. 1995. P. 517–531.
11. Коваленко С.О. Аналіз варіабельності серцевого ритму за допомогою методу медіанної спектрограми. *Фізіологічний журнал*. 2005; 51 (3): 92–95.
12. Чуян Е.Н., Бирюкова Е.А., Раваева М.Ю. Комплексный подход к оценке функционального состояния организма студентов. *Ученые записки Таврического национального университета им. В.И. Вернадского. Сер. «Биология, химия»*. 2008; 21 (60), № 1: 123–140.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Чернозуб Андрей Анатольевич, кандидат наук по физическому воспитанию и спорту, доцент кафедры здоровья человека и физической реабилитации Черноморского государственного университета им. П. Могилы
 Адрес: 54003, Украина, Николаев, ул. 68 Десантников, д. 10, тел.: (0512) 76-55-54, e-mail: chernozub@gmail.com

К.П. Иванов

Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация

Современные медицинские проблемы микроциркуляции и гипоксического синдрома

В настоящей статье описаны давно известные проблемы микроциркуляции, которые были решены лишь за последние 40 лет. Они касаются скорости и характера капиллярного кровотока, его регуляции, роли различных сосудов в транспорте кислорода, роли лейкоцитов в физиологии и патологии капиллярного кровотока, особенностей функции легких в обеспечении кислородом целого организма, роли капилляров и биоэнергетических законов в развитии адаптации организма к гипоксии. Затронут ряд важнейших медицинских проблем микроциркуляции и гипоксического синдрома. Относительно новым фактором в капиллярном кровообращении является то, что в капиллярах мозга и сердца существуют участки тканей с pO_2 , близким к нулевому. Они показывают, что капиллярное кровообращение не имеет единой центральной нервной регуляции кровотока. Кровоток в этих органах подчиняется лишь случайным колебаниям. Также новым фактом является отмена правила Крога о том, что весь обмен веществ и кислорода происходит только в капиллярах. Показано, что через артериолы в мозг доставляется почти 30% потребляемого мозгом кислорода, что меняет наше отношение к капиллярному кровообращению как единственному механизму снабжения тканей кислородом. Кроме того, открытием является массовая адгезия лейкоцитов к стенкам микрососудов, в результате чего происходит окклюзия сосудов, что может вести к развитию инфаркта сердца или инсульта мозга. Впервые показано, что вопреки прежним представлениям альвеолы в легких снабжаются кровью не из тонких артериол, а из мощной сети крупных микрососудов диаметром от 20 до 50 мкм. Они позволяют пропускать в норме 6–12 л крови, а при напряженной мышечной работе — до 18–23 л/мин. Обосновано положение, что при гипоксии только нормальное снабжение организма кислородом может обеспечить полную адаптацию к его недостатку.

Ключевые слова: закон микроциркуляции, парадигма Крога, лейкоциты и капиллярный кровоток.
(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 57–63)

57

Введение

Потребление энергии — это основа жизнедеятельности и жизнеспособности живых организмов. Физиологической основой снабжения тканей организма кровью, кислородом и энергией является микроциркуляция, которую изучают уже на протяжении по крайней мере 200 лет. При нарушении микроциркуляции возникает гипоксия или гипоксический синдром, которые являются причиной множества различных физиологических нарушений и болезней. Подавляющее число представителей живого

мира получает энергию за счет окислительных реакций с участием кислорода, поэтому все нарушения функций организма в результате недостатка кислорода являются следствием недостатка энергии. Изучение микроциркуляции с помощью первых микроскопов началось еще в XVIII в. Следующий период исследования капиллярного кровообращения и гипоксии связан с именем датского ученого Августа Крога и занимает большой период времени, начиная с начала XX столетия и далее — до 50–60-х гг. XX в. Однако в течение последних 10–40 лет физиологические и медицинские исследования микроциркуляции

K.P. Ivanov

I.P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation

Modern Medical Problems of Microcirculation and Hypoxic Syndrome

In this paper long known problems of microcirculation are shown, which were solved only during the last 40 years. They are concerned with the velocity and character of the capillary blood flow, the regulation of the capillary blood flow, the role of various vessels in the oxygen transport, the role of leukocytes in physiology and pathology of the capillary blood flow, with the special features of the function of lungs in supplying the whole organism with oxygen and with bioenergetic laws in the development of an organism adaptation to hypoxia. Here we considered a number of the most important medical problems of microcirculation and hypoxic syndrome. A relatively new factor in the capillary circulation is the fact that in the brain and heart capillaries there are sites with pO_2 close to zero. They show that the capillary circulation has no central nervous regulation of the blood flow. The blood flow in these organs obeys only occasional oscillations. The new fact is that Krogh's rule about metabolism and oxygen exchange occurring only in the capillaries is abandoned. It is shown that almost 30% of consumed oxygen is delivered to the brain via arterioles, which changes our relation to the capillary circulation as a unique mechanism of the tissue supply with oxygen. The new fact is also the mass adhesion of leukocytes to the walls of microvessels, which results in the occlusion of the vessels followed by the development of the heart and brain ischemia. It was shown for the first time that contrary to previous ideas the alveoli in the lungs are supplied with blood from a powerful network of large microvessels from 20 to 50 μ m in diameter rather than from thin arterioles. They make possible the passage of 6–12 l of the blood in the norm and during stressed muscle activity — up to 18–23 l of blood per minute. The principle is substantiated that during hypoxia only normal supply of an organism with oxygen may result in a complete adaptation of an organism to the deficit of oxygen.

Key words: the law of microcirculation, Krogh's paradigm, leukocytes and capillary blood flow.
(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 57–63)

и гипоксического синдрома в связи с применением новой экспериментальной техники ознаменовались многими важными достижениями в этой области. Часть их еще не вошла в учебники и пока не стала основой физиологических и медицинских знаний. Настоящая работа посвящена именно этому периоду изучения микроциркуляции и гипоксического синдрома.

Различия скорости движения крови по капиллярам и гипоксический синдром

Движение крови в сосудах — это основной физиологический параметр кровообращения. Скорость кровотока от аорты и до капилляров — важная характеристика этого параметра. Она определяет эффективность транспорта кислорода к тканям и ликвидацию различного рода гипоксических синдромов. Хотя физиология занимается этой проблемой почти 200 лет, определение скорости и характера кровотока и pO_2 в капиллярах различных органов до недавнего времени оставалось одной из наиболее сложных и практически не решенных теоретических и практических задач общей физиологии. Однако за последние 10–40 лет были получены новые интересные факты.

58

А. Крог как наиболее крупный исследователь капилляров считал, что кровь течет через капилляр равномерно что в капилляре pO_2 имеет постоянную величину. Потому в своих моделях и расчетах он практически пренебрегал скоростью кровотока [1, 2]. Величина pO_2 в капилляре, по мнению А. Крога, равнялась разнице между pO_2 в аорте и в полых венах. Е. Opitz и М. Scheider [3] сделали расчеты диффузии кислорода из капилляров по той же схеме. В 1975 г. К.А. Шошенко собрала данные о линейной скорости кровотока преимущественно в отдельных капиллярах прозрачных и полупрозрачных тканей млекопитающих (сетчатка глаза, конъюнктивы, слизистые оболочки) [4]. Эти попытки были несовершенны, и разброс данных оказался очень велик. Кроме того, они не касались органов с особенно напряженным кровообращением, таких как мозг, сердце или легкие. А в 1974 г. Y.P. Ma и соавт. опубликовали работу, в которой была измерена скорость кровотока в пияльных капиллярах и артериолах крыс. Работа велась на кинотелевизионной установке *in vivo*. В пияльных капиллярах крысы диаметром 3–4 мк скорость кровотока в их опытах достигала почти 11 мм/с [5]. Это беспрецедентно большая скорость, которая выходит далеко за рамки нормы. Возможно, в расчетах или в самом эксперименте эти исследователи допустили какую-то ошибку. Также ранее пытались измерить скорость кровотока в капиллярах W.I. Rosenblum [6] и позже — М. Intaglietta и соавт. [7].

В 1981–1985 гг. мы разработали свой оригинальный кинотелевизионный метод определения скорости кровотока в капиллярах в комбинации с контактным микроскопом [8, 9]. С помощью контактного микроскопа, который позволял наблюдать форменные элементы крови без подсветки, мы непосредственно наблюдали скорость кровотока по скорости прохождения через капилляры лейкоцитов. Лейкоциты легко проходят через капилляр. Краткая задержка возникает только в том случае, если лейкоцит очень большой, или если в капилляр входят сразу два лейкоцита. Таким образом, лейкоцит служил своеобразной реперной точкой для определения скорости кровотока. Если в одном капилляре делается несколько замеров, то легко вычисляется среднее время прохождения лейкоцита вдоль капилляра.

С помощью контактного микроскопа и кинотелевизионной установки мы подробно в течение многих лет исследовали движение крови в капиллярах и показали, что в различных капиллярах мозга и мышц млекопитающих животных кровь течет с разностью скоростью, в среднем составляющей от 0,1–0,3 до 1,5–1,8 мм/с. Можно предположить, что там, где скорость кровотока составляет около 0,1–0,3 мм/с, находятся гипоксические участки. Это примерно 5% общего числа капилляров. Примерно в таком же числе капилляров скорость достигает 1,5–1,8 мм/с. Можно предположить, что в этих капиллярах имеется определенный избыток кислорода. Средняя величина по всем капиллярам примерно составляет 0,6–0,8 мм/с. Расположение участков с недостатком и избытком кислорода напоминают мозаику, в которой невозможно установить какой-либо строгий порядок. Кроме того, кровь течет через капилляры с большими колебаниями скорости. В разных капиллярах колебания скорости могут находиться в пределах, указанных выше границ. Период колебаний разный: от 2–4 до 60 и более секунд. Это особая характерная черта капиллярного кровотока [10, 11].

Сам по себе характер кровотока по капилляру сложный: иногда на фоне более или менее равномерного потока крови в капилляре в течение 2–4 с возникает кратковременное замедление или ускорение кровотока. Эти короткие «толчки» осложняют анализ скорости кровотока и затрудняют определение средней его скорости. Однако в настоящее время определение скорости кровотока по скорости движения лейкоцитов — единственный физиологический способ достаточно точного измерения средней скорости кровотока в различных капиллярах.

Распределение pO_2 в тканях и капиллярах

Самое важное и малоизвестное открытие состоит в том, что в коре головного мозга крыс, кроликов, морских свинок и, по-видимому, человека в норме имеются участки тканей, где pO_2 имеет сравнительно малое значение: от 2 до 5 мм рт.ст. В работающем сердце кролика присутствуют отдельные участки, где pO_2 приближается к нулю. Это означает, что в нормальном физиологическом состоянии в мозге и в сердце животных существуют гипоксические участки [12–15].

С точки зрения транспорта кислорода и гипоксического синдрома наиболее важно определить величины pO_2 и пределы их колебаний непосредственно в капиллярах. Однако эксперименты по их измерению весьма сложны. Для этого надо иметь очень тонкие микроэлектроды с диаметром кончика около 1 мк и очень точные приборы, подводившие микроэлектроды к капиллярам. Мы попытались определить величины pO_2 в артериальной и венозной части одного и того же капилляра. Всего удалось установить величины pO_2 в артериальных и венозных отделах 19 капилляров коры мозга крыс, находившихся под легким наркозом. Оказалось, что различия pO_2 между этими частями капилляров очень велики: примерно от 7–9 до 24–28 мм рт.ст. (в среднем 17 ± 9 мм рт.ст.).

В мышечных капиллярах эти различия намного меньше: от 3–5 до 11–13 или в среднем $8 \pm 1,5$ мм рт.ст. [11, 16]. Такие различия pO_2 между величинами артериальных и венозных отделов меняются в течение 5–10 мин или несколько дольше и могут иметь место благодаря различию скорости кровотока или в результате быстрых колебаний скорости потребления кислорода на протяжении капилляра. Во всех случаях резкое падение pO_2 в венозном

участке капилляра говорит о возможности гипоксических явлений уже в норме, еще до наступления реальной гипоксии.

Причины колебаний скорости кровотока и величин pO_2 в капиллярах

Лейкоциты имеют форму шара. Их объем в 2,0–2,5 раза больше объема эритроцита. Лейкоцит обычно легко проскальзывает через капилляр, но иногда он адгезируется к внутренней стенке микрососуда. Тогда возникает замедление тока крови на разное время. Это первая причина колебания скорости кровотока в капиллярах. Лейкоцит может задержаться в венуле за счет адгезии к стенке этого сосуда. Когда адезированный лейкоцит смыывается кровью, кровоток восстанавливается. Наконец, иногда даже в норме в капилляр или в венулу может войти сразу 2–3 лейкоцита; образуется конгломерат лейкоцитов. Он закрывает отводящую венулу или даже мелкую вену, что вызывает замедление кровотока в нескольких капиллярах. Повышение давления крови выше расположения конгломерата в норме смыывает конгломерат, и микроциркуляция восстанавливается.

Можно предполагать еще одну причину колебаний кровотока. Как уже отмечено выше, в ряде точек органа (мозга) pO_2 по разным причинам может иметь очень низкое значение. Это может вызвать ускорение кровотока. Если через какое-то время pO_2 в данном участке восстанавливается, то скорость кровотока опять снизится.

Известно, что в мозге имеются артериолы диаметром от 14 до 45 мк. При гипоксии они расширяются на 20–30%, что обуславливает ускорение кровотока на 50–70% [11]. Вполне возможна «игра» этих сосудов в норме, т.е. небольшое расширение и сужение при небольших физиологических изменениях pO_2 в тканях мозга, что также может вызывать колебания скорости кровотока.

Стохастический закон микроциркуляции

Можно полагать, что минутный объем кровотока через весь мозг имеет постоянный характер. Сколько входит крови в закрытую черепную коробку, столько же из нее и выходит. Существуют каротидные рефлекссы, которые регулируют постоянство общего кровотока через мозг. Однако внутри мозга этот кровоток, согласно нашим данным, подвергается постоянным перераспределениям, которые зависят от нерегулярного вхождения одного или нескольких лейкоцитов в капилляр, размера лейкоцита, случайной адгезии одного или нескольких лейкоцитов к внутренней оболочке микрососуда, случайного повышения или снижения местного pO_2 , случайного расширения или сужения крупной артериолы. В таком случае можно говорить о случайных стохастических, или непредсказуемых, изменениях кровотока. Попытки многих исследователей выяснить закономерности построения капиллярной сети даже с помощью компьютерного анализа ни к чему не привели. Был констатирован крайне неупорядоченный гетерогенный порядок расположения капилляров в коре головного мозга и в мышцах животных, чрезвычайно разнообразное распределение скоростей кровотока, равно как и распределение гематокрита в капиллярах [17, 18]. Именно поэтому все вышеизложенные исследования о функциональной изменчивости капилляров в дополнение к современным литературным данным позволяют выдвинуть вполне обоснованную ги-

потезу, что кровообращение в капиллярах не подчиняется непосредственной нервной регуляции кровотока в каждом из миллиардов капилляров, а зависит от стохастического (непредсказуемого) закона, основанного на ряде случайных влияний на капиллярный кровоток.

Конечно, может возникнуть вопрос о физиологическом смысле существования такого сложного и в то же время чрезвычайно изменчивого процесса транспорта кислорода от легких к тканям. Когда вместо спокойного равномерного кровотока мы получаем колебательный процесс от очень быстрого кровотока до медленного движения крови, описать этот процесс становится очень трудно. Однако дело в том, что колебательный процесс снабжения тканей кровью и кислородом по ряду физических причин может быть более выгоден, чем равномерный медленный кровоток, особенно если потребление кислорода тканями также все время колеблется. В связи с этим, возможно, саморегуляция кровяных потоков с большими колебаниями их скорости лучше обеспечивает ткани кислородом, нежели медленное, равномерное, однообразное течение крови. Вторая причина возникновения колебательного процесса может состоять в том, что очень узкое капиллярное русло кровообращения служит организму в течение длительного периода жизни, и поэтому на внутренних стенках капилляров неизбежно откладываются продукты распада форменных элементов крови, разложения различных белковых молекул и производных обмена веществ. Очищению от таких отложений и способствуют быстрые колебания скорости кровотока, сопровождаемые изменениями кровяного давления, прохождением лейкоцитов, которые контактируют непосредственно со стенками капилляров и очищают их от различных наслоений. Это, безусловно, очень важная функция. Конечно, пока высказывается только гипотеза, но она имеет ряд фактических подтверждений.

Какое медицинское значение могут иметь наши данные? «Замусоривание» капилляров, образование в них лейкоцитарных пробок и разрушение их с помощью непрерывного колебания скорости и кровяного давления — очень важный момент в жизни организма. Таким путем можно определить норму капиллярного кровотока. Ослабление этой функции и загромождение капилляров отложениями может сигнализировать о назревании инсульта. В настоящее время мы не имеем способа (кроме эксперимента) наблюдать капиллярный кровоток в мозге у пациента. К сожалению, кожный кровоток, который может быть доступен для наблюдения, очень сильно зависит от температуры окружающей среды. Однако имеется еще глазное дно. Из литературы и наших личных наблюдений мы знаем, что в глазном дне существует очень интенсивное капиллярное кровообращение. В норме там хорошо видны лейкоциты, а при патологии — лейкоцитарные пробки. При соответствующей разработке исследований кровообращения в глазном дне можно было бы определять и норму, и патологию капиллярного кровообращения в мозге, поскольку сетчатка глаза — не что иное, как часть мозга, вынесенная наружу.

Отмена парадигмы Крога

Очевидно, что наиболее существенные изменения наших представлений о микроциркуляции, которые произошли в последние 30 лет, возникли в результате отмены парадигмы Крога. В начале XX в. А. Крог высказал гипотезу, согласно которой все процессы обмена между тканями и кровью происходят только в капиллярах. Впо-

следствии он подтвердил ее [1, 2], и затем она стала парадигмой и часто так трактуется и в настоящее время.

Однако в 1979 г. вышла работа B.R. Duling, W. Kushinsky и M. Wahl [19], в которой авторы определяли величину pO_2 крови от аорты и до артериол калибром 25–30 мкм в коре головного мозга животных. Оказалось, что в крови, начиная с крупных артериальных стволов, происходит непрерывное понижение pO_2 . В конечном счете кровь в артериоле диаметром 25 мкм имела pO_2 на уровне $72,6 \pm 3,6$ мм рт.ст., а на наружной стороне оболочки данного сосуда — $60,7 \pm 36,6$ мм рт.ст. Это означает, что кислород наиболее интенсивно выходит из крови артериальных сосудов диаметром от 50 до 25 мкм через их оболочку. Следовательно, ткани снабжаются не только из капилляров.

В том же году была опубликована наша работа по данной теме. Располагая очень тонкими микроэлектродами и специальными приборами для подведения электрода к любому участку капилляра, мы смогли определить содержание кислорода в крови самых различных сосудов от крупных артериальных стволов и артериол до капилляров и даже венул [20]. Если в аорте в наших опытах на крысах pO_2 равнялось 80 мм рт.ст., то в капиллярах величина pO_2 колебалась в больших пределах: от 30 до 50 мм рт.ст. Таким образом, стало совершенно очевидно, что кислород из крови сосудов свободно проникает в интерстиций. Позже мы рассчитали, что в мозге еще до капилляров примерно 30% кислорода крови переходит в интерстиций через стенку артериол, а в мышцах — даже 50% [21]. С помощью математического моделирования мы смогли показать, что снабжение кислородом тканей (или отдельных нейронов) из артериолы намного эффективнее, чем из капилляров, поскольку количество крови, пробегающее через артериолу в единицу времени, намного больше, чем в капилляре [22]. Таким образом, в 70–80-е гг. была полностью дезавуирована парадигма Круга, которая ранее играла важную роль в расчетах и предположениях о снабжении тканей кислородом исключительно из капиллярной крови. По морфологическим данным, в мозге имеются нейроны, к которым вплотную прилежат артериолы диаметром 15–30 мкм. Можно полагать, что снабжение данных нейронов кислородом более эффективно, чем сеть отдельных капилляров, окружающих обычные нейроны. Известно, что при гипоксии некоторые нейроны проявляют удивительную устойчивость к недостатку кислорода. Возможно, это связано с тем, что такой нейрон питается кислородом из артериолы и получает его под большим напряжением и в большем количестве. То, что кислород поступает в ткани не только через капилляры, но и через артериолы, очень важно. Это ведет к переоценке медицинских знаний относительно эффективности всего капиллярного аппарата и к переоценке механизмов гипоксического синдрома. Можно считать, что ткани вокруг артериолы получают кислород в большем количестве и под более высоким напряжением. Повышенная устойчивость некоторых нейронов к гипоксии — старый и нерешенный вопрос, и теперь появилась одна из интересных возможностей решить его.

Массовая адгезия лейкоцитов к стенкам микрососудов и гипоксический синдром

Самое существенное изменение наших современных представлений о микроциркуляции крови и о механизмах гипоксического синдрома заключается в поведении лейкоцитов. Лейкоциты время от времени адгезируются

к внутренней оболочке микрососудов и затем через оболочку проникают в интерстиций. В физиологических условиях такие события совершаются редко, и они не мешают кровообращению. P. Lipton считает, что существует множество биорегуляторов этого процесса [23].

Однако при гипоксии преобладает выделение регуляторов, которые возбуждают этот процесс. В таком случае происходит массовая адгезия лейкоцитов к стенкам микрососудов. При развитии указанного явления образуются лейкоцитарные конгломераты, которые могут произвести полную окклюзию отдельных сосудов. Мы постоянно наблюдали такую окклюзию с помощью нашего контактного микроскопа. Многочисленные иллюстрации данных событий содержатся в 4-м томе нашей монографии «Основы энергетики организма» [11]. Посмертно венулы оказываются буквально «набитыми» лейкоцитами. Интересно, что до наших исследований таких иллюстраций получено не было. Только при помощи контактного микроскопа удалось не только непосредственно наблюдать, но и открыть тяжелые последствия нарушений микроциркуляции.

Особенности микроциркуляции в легких. Гипоксический синдром

Микроциркуляция в легких до последнего времени оставалась *terra incognita*, поскольку методов наблюдения и изучения функции микрососудов в легких в физиологических условиях *in situ* практически не было. Недавно были опубликованы 2 интересные работы, в которых сделаны попытки показать структуру кровотока в легких [24, 25].

До последнего времени сосудистую систему микроциркуляции в легких у млекопитающих и человека в анатомических атласах, учебниках, в других отдельных работах рисовали в виде тонких (10–15 мкм) сосудов. Эти тонкие стволы, по мнению авторов рисунков [26–29], питают кровью альвеолы. Масса легких человека составляет 600 г. Через эту массу в 1 мин проходит 6–12 л крови (при напряженной мышечной работе), что больше массы легких в 10–20 раз. У крысы масса легких составляет ≈ 2 г. Через нее в 1 мин проходит 25 мл крови, что больше массы легких в 12,5 раз. Тонкие кровеносные сосуды с очень медленным течением не могут пропустить такое количество крови. Их редкие разветвления на поверхности альвеол не могут путем диффузии насытить кровь кислородом из воздушного пространства альвеол. Как же природа решила этот вопрос? С помощью контактного микроскопа и миниатюрных телекамер мы сделали большие панорамные цветные снимки (съемка сверху) легкого в физиологических условиях, т.е. прижизненно, при нахождении легкого в грудной полости. Об устройстве контактного микроскопа и метода работы с ним было упомянуто выше [8, 9]. Оказалось, что в легких нет никаких индивидуальных тонких артериол диаметром 10–15 мкм, питающих альвеолы. Вместо отдельных тонких легочных артериол имеется мощная общая сеть микрососудов диаметром от 20 до 50 и более мкм. Эта сеть окружает со всех сторон каждую альвеолу и снабжает ее очень большим количеством крови. Общая емкость сети составляет 20–30% емкости всего легкого. Скорость кровотока в этих сосудах в 10–20 раз больше, чем в капилляре. Вот почему маленькие легкие пропускают огромное количество крови, из которой извлекается столько кислорода, сколько требуется для удовлетворения потребностей всего организма.

Мощная сеть кровеносных сосудов продемонстрирована нами в ряде отечественных и зарубежных периодических изданий [30–35]. В статьях представлены цветные панорамные снимки кровеносной системы легких. Таким образом, за 3–4 года мы смогли полностью изменить представление о кровообращении в легких и показать истинную конструкцию их сосудистой сети, которая разительно отличается от прежней общепризнанной модели. Соответствующие картины легочного кровообращения видны только при физиологических методах исследований и при нормальном кровообращении в легких, после прекращения кровообращения соответствующие картины исчезают из поля зрения. С помощью наших методов мы получаем новые картины в легких при пневмонии, эмфиземе, туберкулезе, ателектазах, пневмокониозах. До сих пор не было представлено панорамных снимков кровообращения легких в физиологических условиях. Вот почему эта мощная система кровообращения в легких до сих пор практически не была известна. Система кровообращения, открытая нами, с широкими микрососудами диаметром 20–50 и более мкм, большой скоростью движения крови, обильным снабжением кровью альвеол позволяет пропустить 6–12 л и более крови в 1 мин и достаточно быстро насытить кровь кислородом. У человека 500 мл крови (т.е. кровяная емкость легких) могут насытиться кислородом при pO_2 от 40 до 90 мм рт.ст. за 1–1,5 с. Именно поэтому легкие играют важнейшую роль в борьбе с гипоксическим синдромом в физиологических условиях (напряженная мышечная деятельность) и в патологии (недостаток кислорода во вдыхаемом воздухе, анемия и др.).

Конструкция системы кровообращения у всех млекопитающих и человека совершенно идентична [36], в связи с чем смысл различных деталей и количественное содержание функций легочного кровообращения легко переносятся от одного вида к другому и в итоге к человеку, что особенно важно для медицинской науки.

Микроциркуляция и адаптация к гипоксии на основании законов биоэнергетики

Когда в организме по разным причинам оказывается недостаточность кислорода, возникает гипоксический синдром, который хорошо известен в медицине. Он может длиться разное время в зависимости от степени кислородной недостаточности. Однако жить сколько-нибудь долго при кислородной недостаточности и снижении потребления кислорода организм млекопитающего и человека не может. Снижение потребления кислорода мозгом на 15–20% уже вызывает нарушение его функций. Поскольку по законам биоэнергетики никакой газ и никакое вещество заменить кислород в живом организме не могут, адаптация наступает лишь тогда, когда количество кислорода, поступающего в организм, будет равно количеству, необходимому для жизни организма. Точно также ничем нельзя заменить аденозинтрифосфорную кислоту (АТФ) — основной продукт окислительного аэробного обмена веществ и источник энергии для физиологической работы. Определенное количество АТФ должно находиться в тканях при адаптации к недостатку кислорода. Эти постулаты составляют основу адаптации к гипоксии.

Основные физиологические механизмы адаптации к недостатку кислорода в мозге проявляются на уровне микроциркуляции. С помощью специально разработанной

методики кинотелевизионного определения скорости капиллярного кровотока мы провели ряд исследований на коре головного мозга крыс. Было показано, что при жесткой гипоксии, когда pO_2 артериальной крови падало до 38 мм рт.ст., средняя скорость кровотока в капиллярах коры головного мозга возрастала с $0,96 \pm 0,08$ до $1,59 \pm 0,13$ мм/с. При анемии скорость кровотока в венулах при уменьшении гематокрита с 44 ± 1 до $32 \pm 1\%$ возрастала на 60%. При снижении гематокрита до $22 \pm 1,5\%$ кровотоки возрастали на 80% [9, 37]. Во времена А. Крога было принято считать, что в мозге имеются резервные капилляры. В настоящее время известно, что резервные капилляры в мозге и в сердце отсутствуют, и потому единственной срочной реакцией адаптации к недостатку кислорода является ускорение кровотока через существующие микрососуды. Конечно, увеличение кровотока через микрососуды на 60–80% нельзя считать надежной адаптацией, поскольку такая реакция возникает в ответ только на очень жесткую гипоксию. В связи с этим начали проводить медицинские исследования по поискам антигипоксантов (иначе говоря, поиски различного вида соединений, которые содержатся в организме или образуются в нем по мере развития гипоксии и якобы способны смягчать гипоксические явления или даже восстанавливать физиологические функции без дополнительного притока кислорода).

В известном обзоре Р. Lipton [23] содержится около 1300 различных ссылок по вопросам гипоксии клетки. Значительная часть их относится к причинам и веществам, которые усугубляют гипоксический синдром и приводят клетки и организм к катастрофе. Среди них торможение транспорта электронов в дыхательной цепи клетки, повышение содержания неорганического фосфата в клетке, образование лактата, снижение рН, повышение концентрации арахидоновой кислоты, торможение синтеза монооксида азота в эндотелии сосудов, повышение содержания ионов кальция в клетке, повышение содержания глутамата и т.д.

Значительно меньше существует биохимических процессов и веществ, которые якобы смягчают гипоксические явления. В обзоре Е.В. Шляхто и соавт. [38] приведены некоторые из механизмов: аденозиновые A_1 -рецепторы, дофаминовые D_2 -рецепторы, рецепторы нейротрофина, эндотелиальная NO-синтаза, фактор, индуцируемый гипоксией (HIF), ядерный транскрипционный фактор κB (NF- κB), специфический белок-1(SPI), ингибиторы апоптоза, разобщающий белок-2, ферменты репарации ДНК, снижение активации каспаз и мн. др.

Что касается процессов и веществ, которые усугубляют гипоксию, то причины их достаточно просты: они объясняются уменьшением притока энергии к клетке. В противном случае все оказывается сложнее. Энергия для физиологической работы высвобождается только в результате кислородного окисления. Переход на анаэробный гликолиз — скорее катастрофа от недостатка энергии, а не адаптация, поскольку гликолиз в качестве источника энергии недостаточен: он в 16 раз менее эффективен, чем аэробный процесс. Если говорить о процессах и веществах, которые якобы смягчают явления гипоксии, то в этом случае уместно напомнить, что появление этих веществ при развитии гипоксии и исчезновение их по приходу в физиологическую норму после гипоксии отнюдь не означает, что данные вещества ослабляют гипоксические воздействия. Они могут являться побочными индифферентными продуктами гипоксии. Как мы уже говорили выше, гипоксия — это прежде всего

недостаток энергии. Многочисленные очень сложные биохимические соединения, которые находятся в клетке, и реакции между ними играют важную роль в процессах жизнеспособности организма, но никакими дополнительными источниками энергии служить не могут. Не могут служить источниками энергии и соединения, которые образуются в клетке в результате гипоксии. Именно поэтому причины благоприятного действия этих веществ на организм при гипоксии требуют еще дополнительных тщательных исследований. Отметим, что Е.И. Гусев и В.И. Скворцова в своем обзоре [39] считают, что различного рода антигипоксанты и нейропротекторы в клинической практике малоэффективны.

Заклучение

Мы коснулись некоторых медицинских проблем микроциркуляции и гипоксического синдрома. Почти все они возникли недавно, в течение последних 10–40 лет, и были хотя бы частично решены тоже недавно. Мы акцентируем на них внимание наших коллег-клиницистов, хотя, конечно, понимаем, что между теорией и практикой существует долгий путь ошибок, разочарований, надежд и прозрений.

Новым положением о капиллярном кровообращении является то, что нерегулярные колебания скорости кровотока и кровяного давления в разных капиллярах, колебания величин pO_2 в разных капиллярах, большие различия величин pO_2 в тканях показывают, что капиллярное кровообращение не имеет единой нервной регуляции внутри различных органов (в первую очередь, мозга и, очевидно, сердца) и подчиняется лишь непредсказуемому стохастического закону случайных воздействий.

Неожиданным для нас оказалось, что очень низкое pO_2 в тканях мозга может устанавливаться и какое-то время поддерживаться при нормальном метаболизме и кровообращении. Такие явления могут вызвать симптомы «точечной» гипоксии.

Новым фактом является отмена почти столетней парадигмы Крога о том, что обмен веществ между кровью и тканями происходит только в капиллярах. Показано, что через артериолы в мозг доставляется примерно 30% всего объема кислорода, что меняет наше отношение к капиллярному кровоснабжению как единственному механизму снабжения тканей и «уборки» метаболитов из них.

Новым фактом нарушения микроциркуляции является массовая адгезия лейкоцитов к внутренним стенкам микрососудов мозга при гипоксическом синдроме. В результате происходит окклюзия сосудов, которая ведет к развитию инсультов мозга и инфарктов миокарда.

Впервые показано, что вопреки прежним представлениям альвеолы снабжаются кровью не из тонких индивидуальных артериол, а, согласно новым данным по микроциркуляции в легких, из мощной сети крупных микрососудов диаметром 20–50 мк. Они позволяют пропускать через относительно маленькую массу легких (примерно 600 г) 6–12 л крови и более в мин. Это обеспечивает кислородом весь организм в покое, при интенсивной физической нагрузке и при недостатке кислорода в воздухе.

Обосновано положение о том, что при гипоксии только нормальное, в соответствии с физиологическими потребностями обеспечение организма кислородом может снять гипоксический синдром и обеспечить полную адаптацию организма к недостатку кислорода.

62

ЛИТЕРАТУРА

- Krogh A. *Studies Anatomie und Physiologie der Capillaren. Berlin.* 1924. 185 p.
- Krogh A. *Studies Anatomie und Physiologie der Capillaren. Berlin.* 1929. 350 p.
- Opitz E., Scheider M. *Über die sauerstoffversorgung des Gehirn. Ergebnisse Physiologie.* 1950; 46: 126–260.
- Шошенко К.А. *Кровеносные капилляры. Новосибирск: Наука.* 1975. 375 с.
- Ma Y.P., Koo A., Kwan H.C. *On-line measurement of the dynamic velocity of erythrocytes in the cerebral microvessels in the rat. Microvasc. Res.* 1974; 8: 1–13.
- Rosenblum W.I. *Erythrocyte velocity and velocity pulse of the mouse brain. Circ. Res.* 1969; 24: 518–523.
- Intaglietta M., Silverman N., Tompkins W.R. *Capillary flow velocity measurement in vivo by television method. Microvasc. Res.* 1975; 10: 165–179.
- Ivanov K.P., Kalinina M.K., Levkovitch Yu.I. *Blood flow velocity in capillaries of brain and muscles and its physiological significance. Microvasc. Res.* 1981; 22: 143–155.
- Ivanov K.P., Kalinina M.K., Levkovich Yu.I. *Microcirculation velocity changes under hypoxia in brain, muscles, liver and their physiological significance. Microvasc. Res.* 1985; 30: 10–18.
- Иванов К.П. *Основы энергетики организма. Т. 3. Современные проблемы и загадки энергетического баланса. СПб.: Наука.* 2001. 275 с.
- Иванов К.П. *Основы энергетики организма. Т. 4. Энергоресурсы организма и физиология выживания. СПб.: Наука.* 2004. 255 с.
- Демченко И.Т., Чуйкин А.Е. *Исследование капиллярного распределения PO_2 . Физиол. журн. СССР.* 1975; 61: 1310–1316.
- Heinrich U., Hoffman J., Baumgartle A. *Oxygen supply of the blood-free perfusion guinea pig brain. Adv. Exp. Med. Biol.* 1985; 191: 4–9.
- Schuchardt S. *Micocardial oxygen pressure. Adv. Exp. Med. Biol.* 1985; 191: 21–35.
- Kessler M., Hoper J., Pohl U. *Tissue oxygen supply. Proc. 5th Inter. Symposium on blood substitutes. Mainz.* 1981. P. 99–107.
- Иванов К.П. *Основы энергетики организма. Т. 2. Биологическое окисление. СПб.: Наука.* 1993. 270 с.
- Harrison D.K., Birkenhake N., Nagen S. *Regulation of capillary blood flow. Adv. Exp. Med. Biol.* 1989; 248: 583–589.
- Hudentz A.C., Spaulding G., Kiani M. *Computer simulation of cerebral microhemodynamics. Adv. Exp. Med. Biol.* 1989; 248: 219–304.
- Duling B.R., Kushinsky W., Wohl M. *Measurement of the perivascular PO_2 in the vicinity of pial vessels. Pflug. Arch.* 1979; 383: 669–678.
- Иванов П.К., Дерий А.Н., Самойлов М.О. *Диффузия кислорода из артериол. ДАН СССР.* 1979; 244: 1509–1513.
- Ivanov K.P., Derry A.N., Vovenko E.P. *Direct measurement of PO_2 of arterioles, capillaries and venules. Pflug. Arch.* 1982; 393: 118–120.
- Иванов К.П., Кисляков Ю.Я. *Энергетические потребности головного мозга. Ленинград: Наука.* 1979. 212 с.
- Lipton P. *Ischemic cell death in brain neuron. Physiol. Rev.* 1999; 79: 1431–1568.

24. Кулик А.М., Бартызель А.И., Арефьев П.С. Метод прижизненного изучения микрососудов легких в эксперименте. *Бюлл. эксп. биол. и медицины*. 1982; XCIII (3): 19.
25. Tabuchi A., Mertens M., Pries A. Intravital microscopy of the murine pulmonary microcirculation. *J. Appl. Physiol.* 2008; 104: 338–346.
26. Miller W.S. The lung. *Spingfield-Baltimore: Thomas*. 1947. 210 p.
27. Фуллер А.Ф., Шенке М. Учебник физиологии. М. 2008. 450 с.
28. Шейд П. Физиология дыхания. Фундаментальная физиология. Под ред. А.Н. Комкова. М.: *Академия*. 2004. С. 773–838.
29. Синельников А.Д. Атлас анатомии человека. М.: *Медицина*. 1979. 470 с.
30. Иванов К.П., Потехина И.Л., Алюхин Ю.С., Мельникова Н.Н. Микроциркуляция в легких. *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. 2010; 9 (3): 81–85.
31. Иванов К.П., Мельникова Н.Н. Морфологический анализ системы микроциркуляции в легких. *Морфология*. 2011; 139 (3): 63–67.
32. Иванов К.П. Новые данные о кровообращении в легких и оксигенации гемоглобина. *Бюлл. эксп. биол. и мед.* 2012; 154 (10): 402–405.
33. Иванов К.П. Функция альвеол как результат эволюционного развития дыхательной системы. *Журн. эволюц. биохим. и физиол.* 2013; 49 (1): 55–59.
34. Ivanov K.P. Microcirculation in the lungs: special features of cons tractio and dynamics. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2013; 756: 197–201.
35. Ivanov K.P. Circulation in the lungs a. the microcirculation in the alveoli. *Respir. Physiol. Neurobiol.* 2013; 187: 26–30.
36. Schmidt-Nielsen K. Why is animal size so important? *Cambridge: Cambridge University Press*. 1984.
37. Иванов К.П., Калинина М.К., Левкович Ю.И. Скорость микроциркуляции в мозге при уменьшении концентрации гемоглобина в крови (гемодилюция). *ДАН СССР*. 1983; 273: 251–253.
38. Шляхто Е.В., Баранцевич Е.Р., Щербак Н.С., Галагуда М.М. Молекулярные механизмы формирования ишемической толерантности головного мозга. *Вестник РАМН*. 2012; 7: 20–30.
39. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: *Медицина*. 2001. 325 с.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Иванов Кирилл Павлович, доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией биоэнергетики и терморегуляции Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, заслуженный деятель науки РФ
Адрес: 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6, **тел.:** (812) 293-76-80, **e-mail:** kpivanov@nc2490.spb.edu

Л.М. Огородова¹, О.С. Фёдорова¹, М.М. Федотова¹, Т.А. Евдокимова²

¹ Сибирский государственный медицинский университет, Томск, Российская Федерация

² Российская медицинская академия последилового образования, Москва, Российская Федерация

Формирование пищевой сенсibilизации у детей на фоне инвазии *Opisthorchis felinus*

Цель исследования: установить механизмы развития пищевой сенсibilизации на фоне хронической инвазии *Opisthorchis felinus* у детей. **Пациенты и методы:** в ходе эпидемиологического исследования сформированы группы больных хроническим описторхозом ($n=237$) и детей, не имеющих описторхоза ($n=496$). В исследовании использовали интервьюирование родителей / опекунов, измерение концентрации общего и специфического IgE к пищевым аллергенам в сыворотке крови, компонентную алергодиагностику, метод полимеразной цепной реакции в режиме реального времени в образцах стула. **Результаты:** наличие хронической описторхозной инвазии у детей ассоциировано со снижением риска развития пищевой сенсibilизации в сравнении с неинвазированными лицами (9,7 против 16,94%, $OR=0,53$; 95% CI 0,31–0,88; $p=0,01$). Высокая интенсивность описторхозной инвазии отрицательно коррелирует с повышением содержания специфического IgE к пищевым аллергенам в сыворотке крови ($OR=0,46$; 95% CI 0,24–0,91; $p=0,023$). Установлена зависимость между повышением концентрации общего IgE в сыворотке крови и интенсивностью описторхозной инвазии в сочетании с пищевой сенсibilизацией. В группе больных описторхозом преобладает сенсibilизация к термостабильным аллергенам класса I (суп c1, cor a11, gal d2, пру p3), у детей, не имеющих описторхоза — к термолабильным гомологам bet v1 (mal d1, пру p1, cor a1, ara h8). **Выводы:** получены эпидемиологические данные о значимом влиянии гельминтной инвазии *Opisthorchis felinus* на механизмы формирования пищевой сенсibilизации у детей.

Ключевые слова: пищевая сенсibilизация, инвазия *Opisthorchis felinus*, специфический IgE, общий IgE, компонентная алергодиагностика. (Вестник РАМН. 2014; 1–2: 64–68)

64

Введение

В последние годы изучению вопросов формирования пищевой сенсibilизации, ключевого звена «атопического марша», посвящено множество исследований [1–3]. Согласно современному представлению, развитие сенсibilизации к пищевым аллергенам происходит вследствие генетически детерминированного нарушения механизма формирования оральной толерантности [1]. Иницирующим звеном является повышение проницаемости эпителиального барьера в сочетании с дефицитом секреторного IgA. Пищевые аллергены подвергаются процессингу в дендритных клетках с последующей презентацией антигена в ассоциации с молекулами II класса главного комплекса гистосовместимости. Данный комплекс при

взаимодействии с наивными Т клетками приводит к дифференцировке последних в Th₂-лимфоциты, секреции интерлейкинов (IL) 4 и 13 и индукции синтеза специфического IgE [2, 3].

Исследования в области молекулярной алергологии продемонстрировали потенциально возможные варианты развития пищевой сенсibilизации в зависимости от структуры и физико-химических свойств аллергенов. Гиперчувствительность к термостабильным белкам животного и растительного происхождения, устойчивым к протеолизу (класс I), развивается в пищеварительном тракте в первые годы жизни. Сенсibilизация к термолабильным белкам (класс II) развивается по механизму перекрестной реактивности в респираторном тракте за

L.M. Ogorodova¹, O.S. Fedorova¹, M.M. Fedotova¹, T.A. Evdokimova²

¹ Siberian State Medical University, Tomsk, Russian Federation

² Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russian Federation

Food Sensitization in Children with *Opisthorchis Felinus* Invasion

Aim: to determine the mechanism of food sensitization in children with chronic *Opisthorchis felinus* invasion. **Patients and methods:** during the epidemiological study the groups of patients (7–10 years) with chronic opisthorchiasis ($n=237$) and children without chronic opisthorchiasis ($n=496$) were formed. The investigation included interviewing of parents / guardians, measurement of total IgE, specific IgE to food allergens and component-resolved diagnostic, real-time PCR in stool samples. **Results:** the chronic opisthorchiasis invasion in children is associated with reduced risk of food sensitization, compared with non-infected group (9,7 vs 16,94%, $OR=0,53$; 95% CI 0,31–0,88; $p=0,01$). Opisthorchiasis of high intensity negatively correlated with increased level of specific IgE to food allergens in serum ($OR=0,46$; 95% CI 0,24–0,91; $p=0,023$). The association between level of total IgE and intensity of opisthorchiasis combined with food sensitization was found. The sensitization to allergens class I (суп c1, cor a11, gal d2, пру p3) is more prevalent in patients with opisthorchiasis, in uninfected children the sensitization to bet v1-homologues (mal d1, пру p1, cor a1, ara h8) is most common. **Conclusions:** the epidemiological data on the effect of the *Opisthorchis felinus* invasion on mechanisms of food sensitization in children were obtained.

Key words: food sensitization, invasion *Opisthorchis felinus*, specific IgE, total IgE, component-resolved diagnostics.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 64–68)

счет сходства растительных пищевых белков с аллергенами пыльцы растений [2, 3].

Следует отметить, что риск развития сенсибилизации зависит от множества факторов, способных модифицировать иммунный ответ. Так, в ряде предшествующих исследований показана роль гельминтных инвазий в регуляции активности аллергического воспаления [4, 5]. В ходе эпидемиологического исследования, выполненного в эндемичном по инвазии *Opisthorchis felineus* очаге, установлено, что распространенность пищевой аллергии у детей ниже в регионах с высоким уровнем инвазии. Для пациентов, имеющих симптомы пищевой аллергии, наличие сопутствующего хронического описторхоза является протективным фактором в отношении повторных рецидивов болезни [6].

Цель исследования: установить механизмы развития пищевой сенсибилизации на фоне хронической инвазии *O. felineus* у детей.

Пациенты и методы

Участники исследования

В ходе эпидемиологического исследования были сформированы группы больных хроническим описторхозом ($n = 237$) и детей, не имеющих описторхоза ($n = 496$). Средний возраст больных хроническим описторхозом составил $8,98 \pm 1,02$ года, неинвазированных детей — $8,78 \pm 1,08$ года ($p = 0,46$). Соотношение мальчиков и девочек среди больных гельминтозом составило 49,79 против 50,20%, а среди школьников без паразитоза — 49,37 против 50,63%, соответственно ($p = 0,83$).

Данная работа выполнена в рамках «Исследования распространенности, социально-экономического значения и основ пищевой аллергии в Европе» (грант VI рамочной программы Евросоюза № FP6-2006-ТТС-TU-5 Proposal 045879 EuroPrevall). Протокол исследования одобрен Локальным этическим комитетом при ГБОУ ВПО «СибГМУ» МЗ РФ (заключение № 635 от 10 сентября 2007 г.) [7].

Схема исследования включала скрининговый и клинический этап. Скрининговый этап выполнен в дизайне одномоментного эпидемиологического исследования в выборке детей в возрасте 7–10 лет ($n = 13\ 010$) с использованием «Скринингового вопросника пищевой аллергии у детей». Клинический этап представлен одномоментным исследованием «случай–контроль» ($n = 1288$). Для достижения сформулированной цели и проведения молекулярно-генетической диагностики инвазии *O. felineus* сформирована репрезентативная выборка ($n = 733$).

Методы исследования

Применяли метод полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени в образцах стула (протокол исследования разработан совместно с лабораторией паразитологии Медицинского центра университета Амстердама, Нидерланды). По результатам клинического обследования и ПЦР-диагностики сформированы вышеуказанные группы:

- больные хроническим описторхозом ($n = 237$);
- дети, не имеющие хронического описторхоза ($n = 496$).

Всем участникам исследования выполнена оценка содержания общего и специфического IgE сыворотки крови к пищевым аллергенам (куриное яйцо, коровье молоко, соя, арахис, пшеница, рыба, кунжут, пшеница, гречиха, кукуруза, рис, фундук, томат, грецкий орех, морковь, сельдерей, креветки, мак, чечевица, горчица, подсолнеч-

ник, яблоко, киви, дыня, банан, персик; ImmunoCAP, Phadia, Швеция).

Большим с пищевой сенсибилизацией проведена компонентная аллергологическая диагностика (ImmunoCAP, Phadia, Швеция): определение концентрации специфического IgE к классу I (bos d5 — молоко, gal d 2 — куриное яйцо, sur c1 — рыба, pen a1 — креветки, cog a11 — фундук, rru p3 — персик, ara h1 — арахис) и классу II пищевых аллергенов (mal d1 — яблоко; cog a1 — фундук; rru p1 — персик; ara h8 — арахис), а также к пыльцевому аллергену березы bet v1.

Статистическая обработка данных

Статистический анализ выполняли с использованием пакета прикладных программ SPSS Base v. 20.0. Результаты обработаны с помощью пакета описательных статистик с использованием непараметрических критериев. Данные представлены в виде $X \pm SE$, где X — среднее арифметическое, SE — ошибка среднего. Количественные признаки исследуемых групп сравнивали при помощи U -критерия Манна–Уитни и метода Краскела–Уоллиса. Для сравнения частот качественных признаков применяли критерий χ^2 Пирсона, а в группах менее 5 человек — с поправкой Йейтса на непрерывность. Для оценки вероятностей развития события применяли метод отношения шансов и относительного риска посредством программного продукта StatCalc. Использовали логистический и линейный регрессионный анализ. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Результаты молекулярно-генетической диагностики описторхоза показали, что в группе больных описторхозом преобладали лица, имеющие высокую интенсивность инвазии (53,59%; $n = 127$). Инвазия средней и низкой интенсивности диагностирована у 21,52 ($n = 51$) и 24,89% ($n = 59$) детей, соответственно.

Симптомы пищевой аллергии по результатам клинического интервьюирования чаще регистрировали у детей, не имеющих инвазии (62,7%; $n = 311$), в сравнении с группой больных описторхозом (54,01%, $n = 128$; $p = 0,02$). Число детей, имеющих симптомы пищевой аллергии по результатам клинического интервьюирования, было сопоставимо в подгруппах больных с низкой, средней и высокой интенсивностью инвазии (54,24; 56,86 и 52,76% соответственно; $p > 0,05$).

Исследование ассоциации пищевой сенсибилизации и инвазии *O. felineus*

По результатам измерения содержания IgE в сыворотке крови специфическая сенсибилизация к пищевым аллергенам наблюдалась у 9,7% школьников, страдающих хроническим описторхозом, и у 16,94% неинвазированных детей (OR = 0,53; 95% CI 0,31–0,88; $p = 0,01$). Наиболее высокая частота сенсибилизации отмечена у детей с низкой интенсивностью инвазии *O. felineus* (табл. 1). Напротив, данный показатель был наименьшим в группе детей, имеющих высокую степень гельминтизации. Регрессионный анализ продемонстрировал негативную ассоциацию высокой интенсивности описторхозной инвазии и пищевой сенсибилизации по результатам оценки специфического IgE в сыворотке крови.

В группе больных хроническим описторхозом в сравнении с группой детей, не имеющих инвазии, зарегистрирован статистически значимо более низкий средний

Таблица. Распространенность пищевой сенсibilизации в зависимости от интенсивности инвазии *O. felineus*

Интенсивность инвазии	Распространенность пищевой сенсibilизации, n (%)	b	χ^2	OR	95% CI	p
Отсутствие инвазии (n=496)	84 (16,94)	Референтная группа				
Низкая (n=59)	9 (15,25)	-0,12	0,02	0,88	0,42–1,86	0,74
Средняя (n=51)	3 (5,88)	-1,88	3,34	0,31	0,09–1,07	0,05
Высокая (n=127)	11 (8,66)	-0,76	4,34	0,46	0,24–0,91	0,02

Примечание. b — константа регрессионного уравнения, χ^2 — критерий Пирсона, OR — отношение шансов, 95% CI — доверительный интервал, p — достигнутый уровень значимости.

уровень специфического IgE к исследуемым аллергенам: фундуку (11,97±7,62 против 27,65±5,04 кЕА/л; p=0,04), яблоку (0,59±0,21 против 4,85±1,19 кЕА/л; p=0,01), персику (0,74±0,28 против 3,80±1,13 кЕА/л; p=0,01), грецкому ореху (0,65±0,36 против 2,12±1,30 кЕА/л; p=0,04).

По результатам оценки концентрации специфического IgE в сыворотке крови в группе детей без гельминтной инвазии в качестве ведущих зарегистрированы такие пищевые аллергены, как фундук, персик, яблоко. Однако у больных хроническим описторхозом наличие сенсibilизации к указанным продуктам встречалось статистически значимо реже, и наиболее часто регистрировали диагностический уровень IgE к аллергенам молока и пшеницы (рис. 1).

66

Исследование ассоциации уровня общего IgE сыворотки крови и инвазии *O. felineus*

Повышение концентрации общего IgE ≥ 100 кЕА/л зарегистрировано у 42,99% пациентов, инвазированных *O. felineus*, и у 36,36% школьников без паразитоза (p=0,095). Средний уровень общего IgE в исследуемых группах также статистически значимо не различался (228,20±33,37 кЕА/л у больных хроническим описторхозом против 179,17±25,13 кЕА/л у детей без гельминтной инвазии; p=0,25). Кроме того, в ходе регрессионного анализа не отмечено линейной зависимости интенсивности описторхозной инвазии от уровня общего IgE в сыворотке крови. Однако у больных хроническим описторхозом, имеющих пищевую сенсibilизацию, зарегистрирован более высокий средний уровень общего IgE по сравнению с несенсibilизированными индивидами (1062,81±259,68 и 138,49±15,12 кЕА/л, соответственно; p=0,01). В ходе многофакторного линейного регрессионного анализа установлена статистически зна-

чимая позитивная зависимость повышенного содержания общего IgE и интенсивности описторхозной инвазии в сочетании с пищевой сенсibilизацией: геометрическое соотношение (Geometric Mean Ratio, GMR) =1,31; 95% CI 1,06–1,62; p=0,01. Таким образом, повышенное содержание общего IgE связано главным образом не с наличием гельминтной инвазии, а в большей степени с сочетанием паразитоза и пищевой сенсibilизации.

Результаты компонентной аллергологической диагностики в исследуемых группах

В связи с тем, что в ходе исследования были получены различия в структуре сенсibilизации у детей, больных хроническим описторхозом, и неинвазированных лиц, нами был проведен молекулярный аллергологический анализ с целью верификации ведущего типа пищевой сенсibilизации в изучаемых группах. Установлено, что в структуре сенсibilизации детей, не имеющих инвазии, преобладают термолабильные аллергены класса II: яблока (mal d1), персика (pru p1), фундука (cog a1), арахиса (ara h8). Напротив, у больных хроническим описторхозом сенсibilизация к аллергенам данной группы формируется статистически значимо реже, а в структуре сенсibilизации ведущее значение приобретают термостабильные аллергены класса I: молоко (bos d5), рыба (sur c1), куриное яйцо (gal d 2), креветки (pen a1), фундук (cog a11); персик (pru p3); арахис (ara h1; рис. 2).

Известно, что сенсibilизация к аллергенам класса II формируется в респираторном тракте опосредованно, на фоне сенсibilизации к пылевым аллергенам. По данным ряда исследований, наиболее значимым аллергеном, определяющим структуру пищевой сенсibilизации в данном климатогеографическом регионе, является аллерген березы [6, 8].

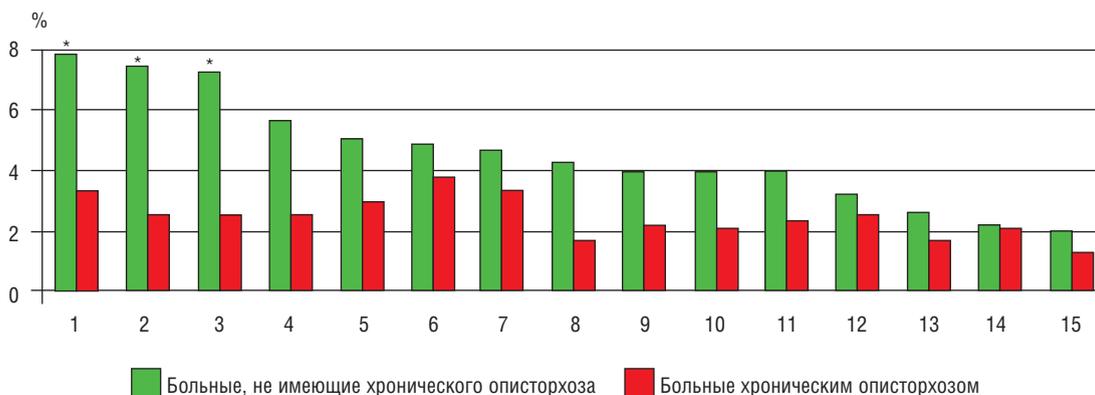


Рис. 1. Структура пищевой сенсibilизации в исследуемых группах по результатам оценки содержания специфического IgE сыворотки крови.

Примечание.* — p < 0,05 при сравнении показателей в исследуемых группах (критерий χ^2 Пирсона). 1 — лук, 2 — персик, 3 — яблоко, 4 — морковь, 5 — кунжут, 6 — молоко, 7 — пшеница, 8 — подсолнечник, 9 — арахис, 10 — томат, 11 — яйцо, 12 — соя, 13 — горчица, 14 — грецкий орех, 15 — рыба.

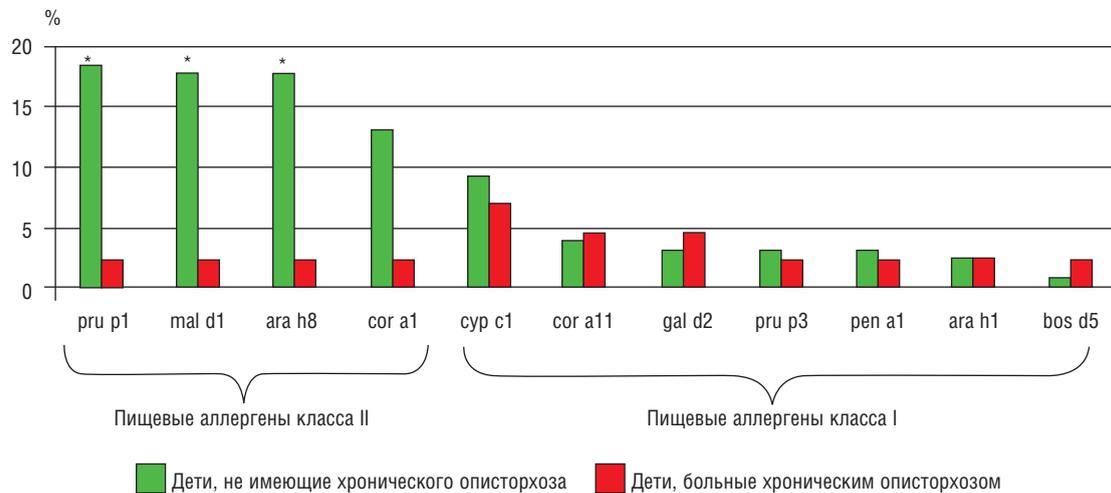


Рис. 2. Распространенность сенсibilизации к пищевым аллергенам класса I и II в исследуемых группах.

Примечание. # — класс I: bos d5 — молоко; gal d2 — куриное яйцо; cyp c1 — рыба, pen a1 — креветки; cor a11 — фундук; prn p3 — персик; ara h1 — арахис. ## — класс II: mal d1 — яблоко; cor a1 — фундук; prn p1 — персик; ara h8 — арахис. * — $p < 0,05$ при сравнении показателей в группах (критерий χ^2 Пирсона).

Сенсibilизация к пищевым белкам, имеющим молекулярное сходство с аллергеном bet v1 (mal d1, prn p1, cor a1, ara h8), отмечена у 22,65% детей, не имеющих описторхоза, против 2,32% школьников с хроническим описторхозом (OR =0,08; 95% CI 0,01–0,59; $p = 0,01$). При этом в группах детей, сенсibilизированных к bet v1, перекрестная реактивность к пищевым аллергенам класса II (mal d1, prn p1, cor a1, ara h8) составила 82,86% для неинвазированных лиц против 25% больных описторхозом (OR =0,07; 95% CI 0,01–0,99; $p = 0,04$).

Обсуждение

В ходе исследования получены новые данные об особенностях формирования пищевой сенсibilизации у детей в эндемичном по инвазии *O. felineus* регионе. Так, наличие хронического описторхоза ассоциировано со снижением вероятности развития пищевой сенсibilизации. При этом наименьший риск развития пищевой сенсibilизации зарегистрирован в группе пациентов, имеющих высокую интенсивность описторхозной инвазии. Полученные результаты позволяют предположить «дозозависимый» эффект антигенного влияния гельминтов в регуляции иммунного ответа. В целом исследование специфической сенсibilизации в зависимости от интенсивности гельминтной инвазии — малоизученный аспект. В настоящее время доступны результаты исследования сенсibilизации к аллергену клеща домашней пыли в группах пациентов с высокой и низкой интенсивностью инвазии трематодой *Schistosoma haematobium* ($n = 672$, Зимбабве) [9]. Результаты свидетельствуют об отрицательной ассоциации инвазии высокой интенсивности и повышенного содержания специфического IgE сыворотки крови к клещу домашней пыли. С другой стороны, в некоторых исследованиях не установлено значимой ассоциации гельминтных инвазий (аскаридоз, трихоцефалез) с развитием аллергической сенсibilизации [10]. Данное расхождение прежде всего связано с различием в типах регуляции иммунного ответа хозяина у нематод и трематод. Более того, авторы исследования констатируют превалирование у обследованных

детей паразитозов низкой интенсивности [10]. Вероятно, иммуномодулирующее влияние гельминтной инвазии является количественно-опосредованным: подтверждением тому служат результаты исследования, демонстрирующие ассоциацию высокой интенсивности инвазии *S. haematobium* и более высокого титра антител к гельминтным антигенам, а также повышенной продукции IgG, IgG₁, IgG₂ и IgG₄ [11].

Значительный интерес представляют полученные данные о влиянии гельминтной инвазии на уровень общего IgE в сыворотке крови. Установлено, что интенсивность описторхозной инвазии не является независимым предиктором повышенного содержания общего IgE, однако отмечена линейная зависимость концентрации общего IgE от интенсивности описторхозной инвазии у лиц с пищевой сенсibilизацией. Предполагают, что гельминтные антигены стимулируют выработку большого количества поликлонального IgE. Тем не менее дети, страдающие гельминтозами, несмотря на высокий уровень общего IgE, имеют более низкий уровень IgE специфического. В своих исследованиях Graves и соавт. и Marsh и соавт. показали, что синтез этих двух видов антител может регулироваться отдельно друг от друга, в отдельных участках генома [12, 13]. Очевидно, гельминтные антигены могут регулировать иммунный ответ, усиливая продукцию поликлонального и снижая интенсивность синтеза специфического IgE. Поликлональные IgE связывают IgE-рецепторы на тучных клетках, блокируя их для соединения со специфическими IgE и таким образом подавляя специфический иммунный ответ [14].

Результаты, полученные в популяции жителей одного климатогеографического региона, свидетельствуют о том, что у детей, не имеющих описторхозной инвазии, преимущественно формируется сенсibilизация к термолабильным растительным пищевым протеинам класса II по механизму перекрестной реактивности с пыльцевыми аллергенами. Напротив, в группе больных описторхозом преобладает сенсibilизация к термостабильным аллергенам класса I. Подобные различия могут быть объяснены с позиции возрастных аспектов формирования сенсibilизации. Так, развитие сенсibilизации к аллергенам класса I (коровье молоко, рыба, куриное яйцо, термостабильные

белки арахиса, фундука, яблока) происходит в первые 3 года жизни, в то время как гиперчувствительность к аллергенам класса II формируется значительно позже [2, 3]. При этом пик инвазирования трематодой *O. felineus* приходится на школьный возраст, что может препятствовать естественному течению аллергической сенсибилизации у детей в данном возрастном периоде [15].

Заключение

Результаты проведенного эпидемиологического исследования свидетельствуют о значимом влиянии гель-

минтной инвазии *O. felineus* на механизмы формирования пищевой сенсибилизации у детей. Полученные данные могут быть использованы при разработке мероприятий первичной профилактики пищевой сенсибилизации для населения гиперэндемичных по гельминтной инвазии регионов.

Исследование поддержано грантом ФЦП (ГК № 02.740.11.0716) «Иммуногенетика и иммуноэпидемиология аллергических заболеваний в мировых очагах инфекций», грантом ФЦП (ГК № 16.522.12.2006) «Разработка наборов реагентов для иммунологической и молекулярно-генетической диагностики описторхоза».

ЛИТЕРАТУРА

1. NIAID-Sponsored Expert Panel. Guidelines for the diagnosis and management of food allergy in the United States. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 126 (6): 1–58.
2. Eigenmann P.A. Mechanisms of food allergy. *Pediatr. Allergy Immunol.* 2009; 20 (1): 5–11.
3. Berin M.C., Sampson H.A. Food allergy: an enigmatic epidemic. *Trends Immunol.* 2013; 34 (8): 390–397.
4. Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., Сазонов А.Э., Фёдорова О.С., Деев И.А., Кремер Е.Э. Влияние инвазии *Opisthorchis felinus* на иммунный ответ при бронхиальной астме. *Бюлл. сибирской медицины.* 2010; 9 (3): 85–90.
5. Wordemann M., Diaz R.J., Heredia L.M., Collado Madurga A.M., Ruiz Espinosa A., Prado R.C., Millan I.A., Escobedo A., Rojas Rivero L., Gryseels B., Gorbea M.B., Polman K. Association of atopy, asthma, allergic rhinoconjunctivitis, atopic dermatitis and intestinal helminth infections in Cuban children. *Trop. Med. Int. Health.* 2008; 13: 180–186.
6. Фёдорова О.С. Распространенность пищевой аллергии у детей в мировом очаге описторхоза. *Бюлл. сибирской медицины.* 2010; 9 (5): 102–107.
7. Wong G.W., Mahesh P.A., Ogorodova L., Leung T.F., Fedorova O., Holla A.D., Fernandez-Rivas M., Clare Mills E.N., Kummeling I., van Ree R., Yazdanbakhsh M., Burney P. EuroPrevall-INCO surveys on the prevalence of food allergies in children from China, India and Russia: the study methodology. *Allergy.* 2009; 65: 385–390.
8. Jimenez-Lopez J.C., Gachomo E.W., Ariyo O.A., Baba-Moussa L., Kotchoni S.O. Specific conformational epitope features of pathogenesis-related proteins mediating cross-reactivity between pollen and food allergens. *Mol. Biol. Rep.* 2012; 39 (1): 123–130.
9. Rujeni N., Nausch N., Bourke C.D., Midzi N., Mduluzi T., Taylor D.W., Mutapi F. Atopy is inversely related to schistosome infection intensity: a comparative study in Zimbabwean villages with distinct levels of *Schistosoma haematobium* infection. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2012; 158 (3): 288–298.
10. Amarasekera M., Gunawardena N.K., de Silva N.R., Douglass J.A., O’Hehir R.E., Weerasinghe A. Impact of helminth infection on childhood allergic diseases in an area in transition from high to low infection burden. *Asia Pac Allergy.* 2012; 2 (2): 122–128.
11. Mutapi F., Ndhlovu P.D., Hagan P., Woolhouse M.E. A comparison of humoral responses to *Schistosoma haematobium* in areas with low and high levels of infection. *Parasite Immunol.* 1997; 19: 255–263.
12. Graves P.E., Kabesch M., Halonen M., Holberg C.J., Baldini M., Fritzsche C., Weiland S.K., Erickson R.P., von Mutius E., Martinez F.D. A cluster of seven tightly linked polymorphisms in the IL-13 gene is associated with total serum IgE levels in three populations of white children. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000; 105: 506–513.
13. Marsh D.G., Neely J.D., Breazeale D.R., Ghosh B., Freidhoff L.R., Ehrlich-Kautzky E., Schou C., Krishnaswamy G., Beaty T.H. Linkage analysis of IL4 and other chromosome 5q31.1 markers and total serum immunoglobulin E concentrations. *Science.* 1994; 264: 1152–1156.
14. Lynch N.R., Hagel I.A., Palenque M.E., Di Prisco M.C., Escudero J.E., Corao L.A., Sandia J.A., Ferreira L.J., Botto C., Perez M., Le Souef P.N. Relationship between helminthic infection and IgE response in atopic and nonatopic children in a tropical environment. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1998; 101: 217–221.
15. Огородова Л.М., Фрейдин М.Б., Сазонов А.Э., Фёдорова О.С., Гербек И.Э., Черевко Н.А., Рудко А.А., Брагина Е.Ю., Перевозчикова Т.В., Файт Е.А., Лебедева Н.Ю. Изучение распространенности аллергической патологии и описторхозной инвазии и их взаимосвязи у населения Томской области. *Бюлл. сибирской медицины.* 2006; 5 (4): 48–51.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Огородова Людмила Михайловна, доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАМН, заведующая кафедрой факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО «СибГМУ» МЗ РФ
Адрес: 634050, Томск, пр-т Ленина, д. 107, тел.: (3822) 51-36-96, e-mail: lm-ogorodova@mail.ru

Фёдорова Ольга Сергеевна, доктор медицинских наук, профессор кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО «СибГМУ» МЗ РФ
Адрес: 634050, Томск, пр-т Ленина, д. 107, тел.: (3822) 51-36-96, e-mail: olga.sergeevna.fedorova@gmail.com

Федотова Марина Михайловна, аспирант кафедры факультетской педиатрии с курсом детских болезней лечебного факультета ГБОУ ВПО «СибГМУ» МЗ РФ
Адрес: 634050, Томск, пр-т Ленина, д. 107, тел.: (3822) 51-36-96, e-mail: fedotova.letter@mail.ru

Евдокимова Татьяна Анатольевна, кандидат медицинских наук, ассистент кафедры питания детей и подростков ГБОУ ДПО «РМАПО» МЗ РФ
Адрес: 123995, Москва, ул. Баррикадная, д. 2/1, тел.: (495) 959-86-96, e-mail: et2005@yandex.ru

А.А. Карабиненко, Ю.М. Петренко, Г.И. Сторожаков, Н.М. Широхова

Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва,
Российская Федерация

Новый класс явлений, обнаруживаемый при нейросетевом анализе многопризнаковых данных у больных с воспалительными заболеваниями легких

Цель исследования: применить нейросетевой метод анализа многопризнаковых данных у больных с воспалительными заболеваниями легких для распознавания вариабельности их диагнозов с учетом степени тяжести течения болезни и расширения аналитических возможностей этого метода путем использования нетрадиционных методических подходов. Подходы основаны на последовательном вычленении из всего набора признаков тех из них, которые оказываются относительно наименее диагностически значимыми. **Материалы и методы:** в исследовании использованы многопризнаковые данные пациентов, полученные в ходе клинического исследования анамнестических, клинических, лабораторных и инструментальных данных 60 пациентов в возрасте старше 65 лет на разных этапах лечения внебольничной пневмонии. Для нейросетевого анализа учитывали антропометрические, иммунологические и иммунохимические показатели сыворотки крови больных внебольничной пневмонией, находившихся в остром периоде заболевания. **Результаты:** установлены скрытые закономерные связи между определенными признаками, которые образуют специфические характеристические ряды, свойственные инфекционно-воспалительным бронхолегочным заболеваниям. Эти ряды состоят из сочетания небольшого числа признаков, необходимых и достаточных в своей совокупности для безошибочного подтверждения диагноза у пациентов. **Выводы:** можно утверждать, что наличие таких характеристических рядов демонстрирует существование нового класса явлений в виде скрытых взаимоотношений между признаками, входящими в эти ряды, и отражает особенности течения патогенетических процессов при различных вариантах степени тяжести воспалительных заболеваний легких. Дальнейшее изучение этих взаимосвязей представляется важным в более глубоком понимании многих аспектов данного заболевания. **Ключевые слова:** внебольничная пневмония, диагноз, нейросетевой анализ, многопризнаковые данные, характеристические ряды. (Вестник РАМН. 2014; 1–2: 69–74)

69

Введение

Постановка правильного диагноза в клинической практике является серьезной проблемой современной медицины [1]. Это связано с объективными трудностями

интерпретации многопризнаковых данных, получаемых при обследовании пациентов, на основании которых врачом выносятся заключения о предполагаемом диагнозе. Считают, что применение метода нейросетевого анализа (НСА) существенно повышает объективность интерпре-

A.A. Karabinenko, Y.M. Petrenko, G.I. Storozhakov, N.M. Shirohova

The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

A New Class of Phenomena Identified During the Analysis of Neural Network of Multidimensional Data from Patients with Inflammatory Lung Diseases

Aim: to apply the neural network analysis method of multi-data of patients with community-acquired pneumonia (CAP) to recognize the variability of their diagnoses and discovery of new analytical capabilities of NSA based on new methodological approaches of the meeting. **Materials and methods:** in this paper, we applied a new approach of neural network analysis of multivariate data, obtained based on clinical, laboratory and instrumental tests in 60 patients older than 65 years at various stages of the treatment of community-acquired pneumonia. Anthropometric data were used together with the results of immunological and immunochemical studies of blood serum of patients with community-acquired pneumonia who were in the acute phase of the disease. **Results:** a new approach analysis of these data revealed the presence of characteristic groups of the biomarkers, which consist from a combination of a small number of the signs that are necessary and sufficient in the aggregate for accurate classification of diagnoses for patients. **Conclusions:** the presence of these symptoms characteristic series shows that we have discovered a new class of phenomena. These phenomena manifest themselves in the hidden relationships between the signs which included in these groups and are reflect features of the flow processes in the pathogenesis of inflammatory diseases of the lungs in different diagnostic areas. Their study can be an important and interesting in terms of understanding the many aspects of this disease.

Key words: community-acquired pneumonia, diagnosis, neural network analysis, multidimensional data, characteristic groups. (Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 69–74)

тации медицинских данных и улучшает качество диагностических заключений, в связи с чем данный метод представляется перспективным по сравнению с традиционными методами статистического анализа. В последнее время метод НСА многопризнаковых данных получил широкое распространение в зарубежной медицинской литературе, где его успешно используют главным образом для целей диагностики. Примером могут послужить публикации последнего времени [2, 3], где НСА используют с целью ранней диагностики болезни Альцгеймера по наличию в тромбоцитах маркеров амилоидного каскада [3]. В работе была обоснована эффективность НСА для правильной классификации контрольных испытуемых и пациентов с болезнью Альцгеймера в легкой форме выраженности, причем на основе использования только маркеров периферического β -амилоидного каскада. Обоснованность эффективности НСА достигнута за счет использования альтернативного подхода — линейного дискриминантного анализа. При таком подходе исследований НСА однозначно оказался предпочтительнее альтернативного традиционного статистического анализа. В англоязычной литературе имеются обзоры, посвященные применению НСА в медицине [4]. Использование НСА для медицинских целей находит все более широкое распространение и в Российской Федерации. Так, НСА был использован для распознавания патологических очагов при маммографии для классифицирования и идентификации обнаруженных очаговых образований в молочной железе [5]. Применительно к пульмонологии следует отметить, что НСА был применен для прогнозирования течения бронхиальной астмы по параметрам реоэнцефалографии [6]. Другим примером применения НСА в пульмонологии является исследование [7], в котором в качестве анализируемого объекта использовали спектральную плотность мощности дыхательного шума. По различным параметрам дыхательного шума НСА позволил разделить группу испытуемых на 2 класса («норма» и «патология»), а затем в классе «патология» дифференцировать испытуемых на 3 подкласса («пневмония», «бронхит» и «астма»). Полученная нейросетевая классификация, выполненная на основе анализа параметров дыхательного шума, не противоречила классификации на основе традиционных методов аускультативной диагностики, применяемой врачами. Недооценивание возможностей НСА, незнание нейросетевых ресурсов и способов их использования мешают широкому распространению этого подхода в медицине.

Цель исследования: применить нейросетевой метод анализа многопризнаковых данных пациентов с внебольничной пневмонией (ВП) для распознавания вариативности их диагнозов и обнаружении новых аналитических возможностей НСА на основе новых методических подходов его проведения.

Пациенты и методы

Участники исследования

Использована информация о 60 пациентах в возрасте старше 65 лет, прошедших стационарное лечение в клинических отделениях ГКБ № 12 ДЗМ по поводу ВП различной степени тяжести [8].

Методы исследования

В информационные сведения входили данные, составляющие антропометрический и иммунологический блок. В антропометрический блок входили признаки:

1 — возраст, 2 — пол, 3 — рост, 4 — вес, 5 — площадь поверхности тела, 6 — стаж курения, 9 — оценка ВП в баллах по прогностической шкале CURB-65, 10 — длительность лечения. Эти 8 признаков были пронумерованы в указанном порядке их перечисления, и эта приведенная числовая нумерация служила их обозначением при последующем упоминании. В иммунологический блок данных входили признаки: 12 — содержание С-реактивного белка в сыворотке крови, 13, 14, 15 и 16 — иммуноглобулины сыворотки крови класса А, М, G и E, соответственно, 17 — циркулирующие иммунные комплексы сыворотки крови, 18 — ревматоидный фактор сыворотки крови, 19 — антиген фагоцитирующих клеток (отражает фагоцитарную активность), 20 — антиген колониеобразующих клеток (отражает клеточную иммунную активность), 21 — миграция пятен скопления антистафилококкового антигена в иммунной сыворотке в присутствии золотистого стафилококка (*Staphylococcus aureus*), 22 — антитела к вирусным антигенам I группы, 23 — антитела к вирусным антигенам II группы, 24 — пуловая сыворотка, 25 — аутоиммунная сыворотка крови, 26 — пульмотропные аутоантитела класса BMLuM 01-230, определяемые методом сэндвич-ИФА («Эли-Пульмо-Тест» по А.Б. Полетаеву), 27 — пульмотропные аутоантитела класса ЦБЛуS 06-300, определяемые методом сэндвич-ИФА («Эли-Пульмо-Тест» по А.Б. Полетаеву), 28 — пульмотропные аутоантитела класса ЦБЛуS 06-80, определяемые методом сэндвич-ИФА («Эли-Пульмо-Тест» по А.Б. Полетаеву), 29 — содержание γ -интерферона в сыворотке крови, 30 — рецепторы интерферона, 31 — нитросиний тетраэтилзолый для идентификации иммунной активности клеток, 32 — содержание гемоглобина в эритроцитах. Перечисленные признаки этого блока, числом 21, продолжали нумерацию предшествующих и кодировались числовым рядом от 12 до 32. Диагноз, который был пронумерован цифрой 7, использовался при НСА как целевой признак. Разновидности диагнозов у пациентов трактовались по 5 градациям распространения, осложненности течения и коморбидному фону, а именно: 1 — очаговая ВП в пределах 1 доли легкого неосложненного течения; 2 — полисегментарная ВП в пределах одного легкого среднетяжелого течения; 3 — полисегментарная двусторонняя ВП тяжелого течения; 4 — полисегментарная ВП тяжелого течения с осложнением; 5 — полисегментарная ВП на фоне хронической obstructивной болезни легких или хронической сердечной недостаточности тяжелого течения. НСА проводили на основании использования нейросети прямого распространения в формате 3×10 (3 слоя на 10 нейронов в каждом), создаваемой в ресурсе «NeuroPro», доступном по адресу: <http://alife-soft.narod.ru/program/neuropro.zip>. Использовался алгоритм «обучение с учителем». При загрузке нейросети входными данными, а это пронумерованные признаки, она вначале «обучается», а затем уже в режиме тестирования выносит вердикт о подтверждении диагноза, тем самым подтверждая диагностическую значимость совокупности параметров. В работе на вход нейросети подавали данные в виде наборов значений признаков (перечислены выше) по 60 пациентам совместно с целевым признаком — диагноз под № 7, причем использовали режимы вычислительных процедур, исходно заложенные в этом ресурсе (рекомендованные по умолчанию). Необходимо отметить, что в вопросе описания самой технологии НСА и ее применения к описанным выше биометрическим многопризнаковым данным, мы довольствуемся вышесказанным, следуя примеру зарубежных авторов при публикации ими своих работ по данной тематике.

Статистическая обработка данных

В работе использована база многопризнаковых данных по пациентам с внебольничной пневмонией [8]. Обработка данных осуществлялась на основе нейросетевого анализа, который по характеру включает в себя статистический анализ.

Результаты

На начальном этапе работы задача заключалась в выяснении возможностей НСА по распознаванию диагнозов у пациентов, используя их аналитические данные, собранные ранее нами в виде базы данных [8]. В табл. 1 представлены результаты НСА по подтверждению диагнозов пациентов с ВП. Видно, что нейросеть по представленным ей наборам признаков разных пациентов смогла безошибочно устанавливать им диагнозы. Это свидетельствует о возможности применения НСА в клинических целях при создании эффективного диагностикума при воспалительных заболеваниях легких. Однако на данном этапе нас больше интересовали вопросы выяснения новых перспектив применения НСА. Представим одну из возможностей использования НСА многопризнаковых данных. Смысл ее заключается в следующем. В случае получения 100% положительного результата — установле-

ния диагнозов у всех пациентов с ВП — из используемого набора признаков убирают наименее значимый признак, после чего нейросетевой аналитический процесс (обучение/тестирование) проводят заново с оставшимися признаками. В случае если с оставшимися признаками нейросеть оказалась способной снова безошибочно устанавливать диагнозы у пациентов, то из набора признаков снова удаляют самый малозначительный. Необходимо отметить, что возможность оценивать диагностическую значимость любого признака, входящего в набор, по которому тестируются диагнозы у пациентов, исходно заложена в ресурсах программной среды NeuroPro. Такие процедуры по удалению слабозначимых признаков последовательно следуют до тех пор, пока удаление какого-либо признака не достигнет порога диагностической значимости. То, что описано в настоящей работе, есть часть нашего оригинального подхода к НСА. В табл. 1 представлены данные, полученные таким последовательным вычленением наименее значимых признаков до момента достижения минимума числа признаков, обеспечивающих 100% распознавание всех больных по диагнозам.

Первая строка этой таблицы (нулевой шаг) с единичными цифровыми символами показывает, что нейросеть безошибочно распознала диагнозы у всех пациентов при использовании полного набора из 29 признаков. Вторая

Таблица 1. Наборы признаков для нейросетевого анализа по определению диагнозов у пациентов с внебольничной пневмонией, получаемых путем последовательного вычленения слабозначимых признаков из исходного их набора

Шаги	Признаки																															
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32		
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1		
3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1		
4	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1		
5	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1		
6	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1		
7	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1		
8	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1		
9	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1		
10	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	1	0	0	1		
11	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	1	0	0	0	1		
12	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	1		
13	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	1		
14	0	1	1	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0		
15	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0		
16	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0		
17	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	0	0	0	0	0		
18	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0		
19	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0		
20	0	1	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
21	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
22	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
23	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
24	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0		
25	0	0	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
26	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
27	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
28	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		

Примечание. В таблице проиллюстрирован процесс вычленения признаков по критерию минимизации их значимости и непрерывном переобучении нейросети. Содержание в ячейках нулей и единиц означает отсутствие определенного признака в наборах или его присутствие, соответственно. Выделенный 7-й столбец служит указанием целевого признака.

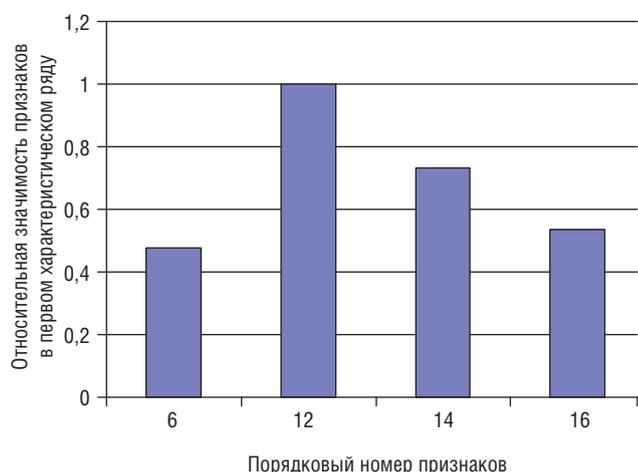


Рис. Значимость граничных признаков, составляющих 1-й характеристический ряд.

72

строка свидетельствует о 100% распознавании диагноза в условиях, когда признак 22 по критерию его малозначительности из анализа был исключен (нулевой символ в ячейке на пересечении столбца 22 и строки 2). При этом влияние (чувствительность) реагирования того или иного признака на диагноз определяет его значимость. Малозначительность признака с учетом отмеченного выше означает, что признак является слабореагирующим на изменение диагноза. Последовательные исключения из рассмотрения других признаков приведены в нижележащих строках табл. 1. Рассматривая данные этой таблицы, можно отметить некоторые моменты. Во-первых, представляет интерес то обстоятельство, что признак 9 (прогностическая шкала CURB-65) как балльный не несет той значимой диагностической нагрузки среди признаков, которую можно было бы ожидать, исходя из его содержания. Другими словами, на 17-м шаге, обозначенном в табл. 1, признак 9 отсутствует (он был удален из рассмотрения на 16-м шаге как слаботочный), то есть он со стороны самых слабых признаков занимает 16-ю позицию; выше его в плане значимости для классификации диагнозов пациентов находятся следующие признаки: 2, 4, 6, 10, 12, 13, 14, 16, 17, 18, 24, 27 и 28 (см. табл. 1). Следует обратить внимание на строку, соответствующую 25-му шагу, в табл. 1. Ее особенность такова: под № 6 входит признак «стаж курения», который среди других признаков этой строки в иерархии значимостей занимает самое последнее место (рис.). Здесь необходимо упомянуть вторую важную особенность этой строки. Удаляя этот самый слаботочный признак из дальнейшего рассмотрения, получаем, что набор признаков после исключения из него признака «стаж курения» на 26-м шаге оказался уже не способным безошибочно определять диагноз «пневмония» у пациентов. То есть хотя признак «стаж курения» и был самым малозначительным признаком из 4, представленных на 25-м шаге табл. 1, он тем не менее нес определенную диагностическую нагрузку по распознаванию диагноза. И без него оставшиеся 3 признака в своей совокупности уже не могут безошибочно подтверждать диагноз. При этом сочетание признаков, приходящихся на нижележащие строки, ни при каких условиях не в состоянии

безошибочно распознавать диагнозы у пациентов. Таким образом, 25-я строка является граничной, разделяя таблицу так, что для верхних строк входящие в них признаки в своем сочетании обладают способностью безошибочно распознавать диагнозы у пациентов, а для нижних — нет. Данный ряд, полученный на 25-м шаге, терминологически определен нами как граничный характеристический ряд. В этом месте следует указать на новое важное обстоятельство, являющееся особенностью нашего подхода. Его суть заключается в том, что, запустив повторно процедуру, подобную предыдущей, но при этом исключив из исходного набора признаков табл. 1 все признаки, составляющие граничный характеристический ряд, т.е. строку 25-го шага, мы получим неожиданный результат: НСА по набору признаков, из которых исключены все наиболее значимые, стал безошибочно распознавать диагнозы у пациентов. Другими словами, исключенные как малозначительные, все эти признаки оказались несущими в себе большой потенциал распознавания диагнозов, причем избыточный. Объяснение этому, по-видимому, следующее. Самые сильные (доминантные) по значимости признаки «забивают» влияние слабых, и роль последних сводится к «шумовому влиянию». По существу, они бесполезны в осуществлении НСА в присутствии доминантных признаков, составляющих характеристические ряды более высокого иерархического уровня. Можно сказать, что они не только бесполезны, но и, вероятно, являются «балластным» фактором. Следовательно, в таких случаях они должны удаляться из сферы НСА. Из нового сформированного нами набора малозначительных признаков, вновь действуя подобно вышеизложенному (т.е. путем поэтапного исключения из него слаботочных признаков), через определенное число шагов мы получим 2-й граничный характеристический ряд, на следующем цикле — 3-й характеристический ряд и т.д. Если дать общее определение этим рядам, то они представляют собой необходимое и достаточное число признаков, которые в своем сочетании обладают свойством на 100% распознавать диагнозы у всех пациентов с ВП. Еще раз подчеркнем, что используемая терминология «характеристическая группа» или «характеристический ряд» признаков в нашем представлении означает то обстоятельство, что этими признаками при их одновременном сочетании однозначно (на 100%) классифицируются по диагнозу все пациенты с ВП. В табл. 2 представлено содержание всех характеристических рядов, полученных в итоге описанных процедур. Исходя из общих соображений, полученные совокупности характеристических рядов или групп табл. 2 можно обозначить следующим образом.

- Группа 0 — признаки 1–6 и 9–32 (расширенная диагностическая характеристика при ВП по 29 признакам).
- Группа 1 — признаки 6 (стаж курения), 12 (С-реактивный белок), 14 (IgM), 16 (IgE) — характеризует активность системного воспаления.
- Группа 2 — признаки 2 (пол), 13 (IgA), 27 (ЦБ Lus 06-300), 28 (ЦБ Lus 06-80) — характеризует пульмотропную иммунную реакцию при активном воспалении.
- Группа 3 — признаки 18 (ревматоидный фактор) и 26 (БМ Lum 01-230) — отражает общую активность воспаления в легких.
- Группа 4 — признаки 20 (КоН А), 22 (VHS I), 23 (VHS II), 24 (антитела пульмоногенной сыворотки), 25 (антитела аутогенной сыворотки) — состояние гуморального иммунитета на фоне ВП.
- Группа 5 — признаки 5 (площадь поверхности тела), 15 (IgG), 31 (НСТ) — показатель напряженности им-

Таблица 2. Сводная таблица характеристических рядов (групп) по безошибочному распознаванию разновидностей диагнозов у пациентов с внебольничной пневмонией

Группы	Признаки																																
	1	2	3	4	5	6	7	9	10	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32			
0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
1	0	0	0	0	0	1	1	0	0	1	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	1	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	
3	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
4	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0
6	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
7	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
8	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	0	0	

Примечание. Ряд 0 — ряд из всего набора по 30 признакам (признак 7 — целевой). Обозначения те же, что и в табл. 1. В данной таблице представлена ниспадающая по значимости иерархия характеристических рядов.

мунитета — характеризует антропогенно-иммунологический баланс.

- Группа 6 — признаки 1 (возраст), 3 (рост), 4 (масса тела), 9 (балл по шкале CURB-65) — отражает клинико-антропометрический показатель тяжести ВП.
- Группа 7 — признаки 10 (продолжительность лечения, койко-дни), 17 (циркулирующие иммунные комплексы), 21 (лейкоцитарная реакция на *S. aureus*), 32 (гемоглобин крови) — клеточное звено иммунитета при инфекционном воспалении.
- Группа 8 — признаки 19 (фитогемагглютинин), 29 (интерферон γ), 30 (рецепторы интерферона) — клеточное звено регуляции иммунитета при воспалении.

Таким образом, во всех 8 характеристических группах (кроме группы 0) встречаются неповторяемые минимальные сочетания биометрических признаков, позволяющие подтвердить диагноз. Эта закономерность может помочь установить оптимальную диагностическую значимость биометрических признаков, получаемых методом НСА, и быть использована для научного обобщения тех или иных звеньев патогенеза патологического или компенсаторного процесса. Более детальный анализ состава характеристических рядов указанной таблицы позволяет отметить ряд важных и интересных моментов касательно некоторых биометрических признаков. О первом характеристическом ряде и входящих в него признаках выше уже говорилось (см. обсуждение 25-го шага табл. 1). Тем не менее еще несколько моментов относительно этого ряда представляется важным подчеркнуть. Признак «стаж курения» входит в этот первый по силе значимости характеристический ряд признаков, на 100% распознающих диагнозы у всех обследованных пациентов, что выглядит вполне естественно. Этот признак сцеплен с другими признаками данного ряда, а именно с признаками 12 (С-реактивный белок), 14 (IgM) и 16 (IgE), являющимися иммунологическими показателями. Можно полагать, что стаж курения каким-то своеобразным способом видоизменяет характер иммунологических ответов, сопровождающих процесс пневмонии, протекающий по разным диагностическим вариациям, а возможно, и направляет течение заболевания по тому или иному варианту диагноза. Интересно, что среди этих признаков характеристического ряда «стаж курения» в иерархии значимостей занимает самое последнее место, а на первом находится признак 12 (С-реактивный белок). Далее, как видно из табл. 2, второй характеристический ряд признаков включает в себя признак «пол». То, что этот признак

входит в характеристический ряд с довольно высокой иерархией среди всех характеристических рядов, свидетельствует о некоем своеобразии течения патогенетических процессов у мужчин и женщин, что, вероятно, находится в тесной зависимости от естественного гормонального фона. По данным относительной значимости признаков (по типу представленного рис.) следует, что признак «пол» под № 2 не есть последний по относительной значимости среди других признаков этого ряда. Он сочетается с признаками 13 (IgA), 27 (ЦБ Lus 06-300) и 28 (ЦБ Lus 06-80), т.е. с признаками, характеризующими иммунологический статус организма при пневмонии различного генеза. Это означает, что указанное своеобразие течения ВП у мужчин и женщин каким-то образом связано с иммунологическими особенностями и, возможно, является потенциально важным для такого рода заболевания. Определенный интерес представляет 6-й характеристический ряд в связи с тем, что в его сочетание признаков входит CURB-65. Выше в отношении признака 9 (CURB-65) уже была отмечена его малозначительность на начальных стадиях анализа (см. табл. 1). В то же время представляется интересным и другое, более важное обстоятельство, а именно: в 6-м характеристическом ряду он выступает совместно с признаками 1, 3 и 4, обозначающими, соответственно, возраст, рост и вес. Другими словами, физический статус организма и CURB-65 только при совместном анализе определяют безошибочность диагноза у пациентов при НСА, естественно, после процедуры обучения. Это дает основание более тщательно исследовать патогенетические аспекты пневмоний и роль «внешних» данных пациентов. Из данного рисунка видно, что обсуждаемый нами признак 9 (CURB-65) в своем характеристическом ряду отнюдь не самый значимый, как можно было бы думать, а предпоследний. Первыми же по значимости и по вкладу в диагностический эффект, как это ни странно, являются возраст и масса тела. Признак «рост» здесь выступает самым слабозначимым, без которого ряд в диагностическом плане неполноценен, т.е. не способен безошибочно распознавать диагноз. Вовлеченность ростового фактора в течение пневмоний разного диагноза ставит вопрос и о патогенетической сущности данного обстоятельства.

Заключение

В плане достоверности полученных результатов следует отметить, что насколько достоверны первичные дан-

ные, которые были использованы в работе, настолько достоверны и полученные в ней результаты НСА. Исходные многопризнаковые данные по ВП были получены нами в течение длительного периода занятий лечебной деятельностью по ВП и строгого подбора клинического материала. Они широко представлены в научных публикациях. Поэтому в заключение мы можем вынести следующее положение: обнаружен новый класс явлений,

проявляющих себя в скрытых взаимоотношениях между признаками, которые отражают особенности протекания патогенетических процессов по разным диагностическим направлениям. Их изучение представляется перспективным для медицинской науки в плане понимания причин и обстоятельств заболеваний ВП и их диагностических разновидностей с целью выработки новых и эффективных подходов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Albu A., Ungureanu L. Artificial Neural Network in Medicine. *Telemed. J. E. Health* 2012; 18 (6): 446–453.
2. Luca M.D., Grossi E., Borroni B., Zimmermann M., Marcello E., Colciaghi F. et al. Artificial neural networks allow the use of simultaneous measurements of Alzheimer disease markers for early detection of the disease. *Transl. Med.* 2005; 27 (3): 30.
3. Luca D.M., Pastorino L., Bianchetti A., Perez J., Vignolo L.A., Lenzi G.L. et al. Differential level of platelet amyloid beta precursor protein isoforms: an early marker for Alzheimer disease. *Arch. Neurol.* 1998; 55 (9): 1195–1200.
4. Cleophas T.J., Cleophas T.F. Artificial intelligence for diagnostic purposes: principles, procedures and limitations. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2010; 48 (2): 159–165.
5. Твердохлеб В.М., Аранович М.В. Анализ признаков для распознавания очагов заболеваний на маммограммах. Сб. трудов XXI Междунар. науч. конф. «Математические методы в технике и технологиях». Саратов. 2008. С. 33–36.
6. Безруков Н.С., Ермакова Е.В. Прогнозирование бронхиальной астмы по параметрам реоэнцефалографии на основе гибридной сети. Сб. трудов XIX Междунар. науч. конф. «Математические методы в технике и технологиях». Воронеж. 2006. С. 211–214.
7. Филагова Н.Н., Спиридонов А.В. Нейросетевой алгоритм для построения иерархической классификации. Сб. трудов XXI Междунар. науч. конф. «Математические методы в технике и технологиях». Саратов. 2008. 65 с.
8. Широхова Н.М. Внебольничная пневмония у лиц пожилого и старческого возраста: особенности диагностики и клинического течения. Автореф. ... дис. канд. мед. наук. М. 2012. 27 с.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Карабиненко Александр Александрович, доктор медицинских наук, профессор кафедры госпитальной терапии № 2 ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: (495) 321-10-06, e-mail: karabinenkoa@mail.ru

Петренко Юрий Михайлович, доктор биологических наук, профессор кафедры общей и медицинской биофизики ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: (495) 434-44-74, e-mail: yury_petrenko@mail.ru

Сторожак Геннадий Иванович, доктор медицинских наук, профессор, академик РАМН, член Президиума РАМН, заведующий кафедрой госпитальной терапии № 2 ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: (495) 321-55-44, e-mail: rgmugt@mail.ru

Широхова Наталья Михайловна, кандидат медицинских наук, врач-терапевт кафедры госпитальной терапии № 2 Российского национального исследовательского медицинского университета им. Н.И. Пирогова, врач-терапевт ГБОУ ВПО «РНИМУ им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ

Адрес: 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, тел.: (495) 321-55-44, e-mail: rgmugt@mail.ru

Г.М. Элбакидзе¹, А.Г. Меденцев², А.Г. Элбакидзе¹

¹ Медико-биологический центр Ассоциации содействия международному центру научной культуры — «Всемирная лаборатория», Москва, Российская Федерация

² Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН, Пушкино, Московская область, Российская Федерация

Влияние продигиозанзависимого комутона на устойчивость митохондрий печени к повреждению протонофором

Эффектор тканевого стресса гепатоцитов — продигиозанзависимый комутон (ПЗК) — вызывает деэнергизацию митохондрий печени, предварительно нагруженных ионами Ca^{2+} . При этом наблюдается снижение мембранного потенциала (МП) и выход ионов Ca^{2+} из матрикса по циклоспорин А-чувствительному механизму мегапоры. В условиях блокирования мегапоры циклоспорином А протонофор FCCP вызывает снижение МП и выход ионов Ca^{2+} по циклоспориннечувствительному механизму. Показано, что ПЗК повышает устойчивость митохондрий к действию упомянутого протонофора, вызывая ингибирование этих эффектов. Ингибирующее действие ПЗК осуществляется по K^+ - и НАДН-зависимому механизму. Протекторное действие распространяется не на весь пул митохондрий в таких клетках, а только в отношении митохондрий, сохранивших высокую интактность, и при условии, что в них не активирован механизм мегапоры. Кроме того, представленные в настоящей статье результаты свидетельствуют о том, что в определенных условиях ПЗК может оказывать протекторное действие и посредством усиления энергопродукции в поврежденных митохондриях.

Ключевые слова: тканевый стресс, комутон, кальций, мегапора, протонофор.
(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 75–79)

75

Введение

Ранее было показано, что активация клеток Купфера введением эндотоксина продигиозана вызывает накопление в печени эффектора тканевого стресса гепатоцитов комутона [1]. Механизм действия этого регулятора на митохондрии малоизучен. Показано, что продигиозанзависимый комутон (ПЗК), выделенный из печени крысы и охарактеризованный как термостабильное соединение с молекулярной массой 617 Да [2], оказывает тканеспе-

цифическое деэнергизирующее влияние на митохондрии из гомологичной ткани, предварительно нагруженные ионами Ca^{2+} [3]. Оно выражается как в стимуляции быстрого выброса упомянутых ионов из матрикса митохондрий, так и в ускорении их медленного выхода [4]. Нельзя исключать, что оба эффекта ПЗК реализуются по одному механизму, а именно путем активации им мегапоры (неселективной поры) во внутренней мембране митохондрий, и отличаются лишь по своей интенсивности. В связи с этим было необходимо исследовать действие

G.M. Elbakidze¹, A.G. Medentsev², A.G. Elbakidze¹

¹ Association for World Laboratory, Biomedical Centre, Moscow, Russian Federation

² G.K. Skryabin's Institute of Biochemistry and Physiology of Microorganisms, RAS, Puschino, Moscow district, Russian Federation

Influence of Prodigiozan-Dependent Comuton on the Resistance of Liver Mitochondria Against Damage by Protonophor

An effector of tissue stress of hepatocytes, prodigiozan-dependent comuton (PDC), provokes deenergization of liver mitochondria, preloaded by Ca^{2+} ions. In this case a decrease of membrane potential (MP) and Ca^{2+} efflux by cyclosporine A sensitive mechanism of megapore is observed. If megapore is blocked by cyclosporin A, protonophor FCCP provoked decrease of MP and Ca^{2+} efflux by cyclosporin A-insensitive mechanism. It is shown that PDC increases resistance of mitochondria to mentioned protonophor action by inhibition of both these effects. An inhibitory action of PDC is realized by K^+ and NADH-dependent mechanism. The effector of hepatocyte tissue stress, prodigiozan-dependent comuton (PDC), evokes deenergizing liver mitochondria preloaded with Ca^{2+} , both membrane potential (MP) decrease and Ca^{2+} release in according to cyclosporine A-sensitive mechanism of megapore being observed. If megapore is blocked by cyclosporin A, protonophore FCCP reduces of MP and Ca^{2+} release in according to cyclosporin A-insensitive mechanism. PDC is shown to increase the resistance of mitochondria against protonophore action mentioned above by means of inhibition of both these effects. Inhibitory action of PDC is realized due to both K^+ and NADH-dependent mechanism. protective effect takes place only in intact mitochondria of these cells providig (on condition that) its megapore mechanism is not activated. Moreover, the results obtained are evidence of PDC can function as protector due to intensification of energy generation in damaged.

Key words: tissue stress, comuton, calcium, megapore, protonophore.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 75–79)

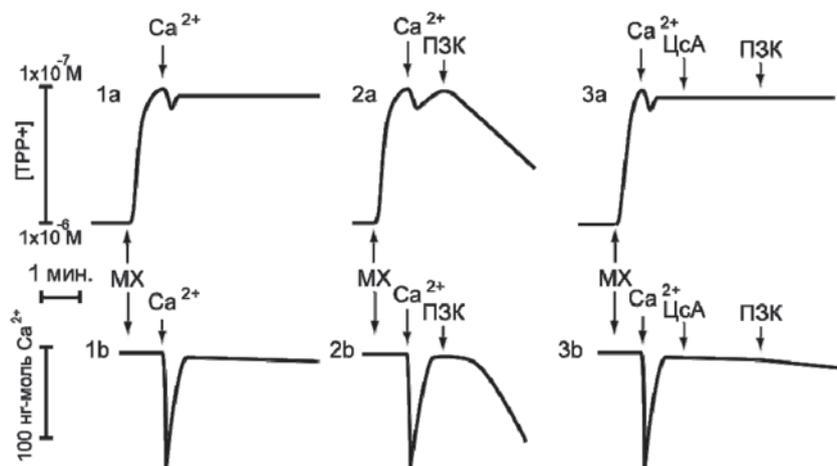


Рис. 1. Влияние циклоспорина А на МП (а) и выход ионов Ca^{2+} (б) из митохондрий печени, индуцированный добавлением ПЗК.

Примечание. Добавки в среду: МХ — митохондрии печени, 1,8 мг белка/мл, ЦсА — 5 мкМ циклоспорина А, Ca^{2+} — 130 нг-моль $\text{CaCl}_2/1$ мг белка, продигозанзависимый комутон (ПЗК) — 5,5 мкг/мг белка. МП — мембранный потенциал.

76

ПЗК на митохондрии печени в условиях блокирования мегапоры циклоспорин А с учетом того, что ПЗК обладает гепатопротекторным действием на гепатоциты [2, 5].

Цель исследования: изучить влияние комутона на устойчивость таких интегральных показателей физиологического состояния митохондрий, как метаболизм ионов Ca^{2+} и величина мембранного потенциала (МП) в условиях повреждения этих органелл протонофором FCCP.

Материалы и методы

Материал для исследования

Эксперименты проводили на самцах беспородных белых крыс массой 200–230 г. Митохондриальную фракцию из печени крысы выделяли методом Шнейдера в модификации [6].

Методы исследования

Измерение транспорта ионов Ca^{2+} и регистрацию величины МП митохондрий осуществляли синхронно, Ca^{2+} -селективным электродом фирмы «НИКО АНАЛИТ» [7] и ТФФ⁺-чувствительным электродом той же фирмы [8], соответственно. Суспензию митохондрий в процессе измерений инкубировали в открытой, термостатируемой при 28 °С, ячейке объемом 1 мл при непрерывном перемешивании. Состав среды инкубации: 250 мМ сахарозы, 30 мМ КСI, 1 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ трис-буфера; рН 7,2. Изменения в составе среды инкубации митохондрий, равно как и добавки в эту среду, оговорены в подписях к рисункам. Величину дыхательного контроля по Чансу рассчитывали на основании измерений скоростей поглощения кислорода суспензией митохондрий печени в закрытой полярографической ячейке объемом 1 мл электродом Кларка при 28 °С. Состав среды инкубации: 280 мМ сахарозы, 3 мМ KH_2PO_4 , 10 мМ трис-буфера; рН 7,5. В эту среду добавляли 2 мг белка митохондрий, затем 200 мкмоль аденозиндифосфата и проводили регистрацию поглощения кислорода вплоть до его полного исчерпания в ячейке. Концентрацию белка в митохондриальной фракции измеряли методом, описанным в [9]. В экспериментах использовали высокоочищенный ПЗК из печени крысы, гомогенный в процедурах высокоэф-

фективной жидкостной хроматографии. Использовали химические реактивы фирмы Sigma-Aldrich (США).

Статистическая обработка данных

При статистической обработке результатов рассчитывали ошибку генерального среднего.

Результаты

Как видно из рис. 1а, предварительно нагруженные ионами Ca^{2+} митохондрии печени сохраняют интактность, о чем свидетельствует стабильно высокая величина МП и удержание ими ионов Ca^{2+} в матриксе в течение всего эксперимента. Между тем добавление ПЗК в среду измерения вызывает у этих митохондрий выраженное снижение МП (рис. 1 и 2а), которое сопровождается быстрым выходом ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий в окружающее пространство (рис. 1 и 2б). Оба этих эффекта ПЗК блокировались при добавлении в среду измерения циклоспорина А перед введением ПЗК (рис. 1, 3а и 3б). Показано, что ПЗК не влияет на величину МП митохондрий печени, предварительно нагруженных ионами Ca^{2+} в среде с циклоспорин А и рутениевым красным (РК) (рис. 1а и 2). При этом после добавления в среду измерения с циклоспорин А и ПЗК рутениевого красного наблюдается медленный выход ионов Ca^{2+} из матрикса митохондрий (рис. 2 и 1б).

Исследование влияния ПЗК на устойчивость митохондрий к повреждению проводили на суспензии этих органелл, предварительно нагруженных ионами Ca^{2+} . Как известно, под влиянием FCCP митохондрии повреждаются. При этом наряду с падением МП происходит выход ионов Ca^{2+} из матрикса в окружающее пространство по циклоспорин А-нечувствительному механизму [10]. Оба этих эффекта FCCP наблюдали и в нашем эксперименте (рис. 2а и 2б). Обнаружено, что добавление в среду измерения ПЗК в этих условиях не только полностью снимает эффект FCCP в отношении МП (рис. 2 и 3а), но также блокирует быстрый выход ионов Ca^{2+} из матрикса в окружающее пространство по циклоспорин А-нечувствительному механизму. При этом ПЗК инициирует медленный выход ионов Ca^{2+}

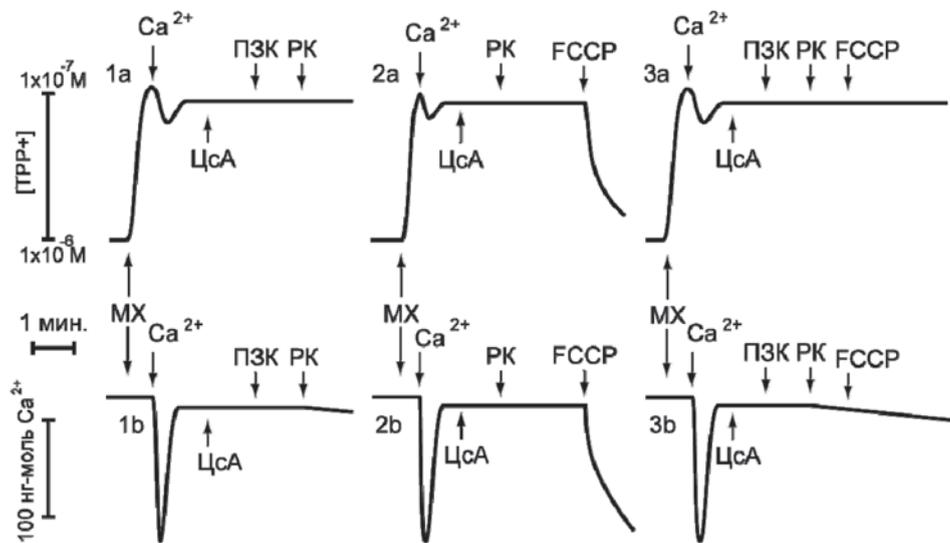


Рис. 2. Влияние ПЗК на МП (а) и выход ионов Ca^{2+} (б) из митохондрий печени после добавления 4 мкМ FCCP.

Примечание. Добавки в среду: то же, что на рис. 1, а также МХ — 1,4 мг белка, ЦсА — 2,2 мкМ циклоспорина А, РК — рутениевый красный, 2,4 нг, Ca^{2+} — 130 нг-моль $\text{CaCl}_2/1$ мг белка, ПЗК — 7,0 мкг/мг белка.

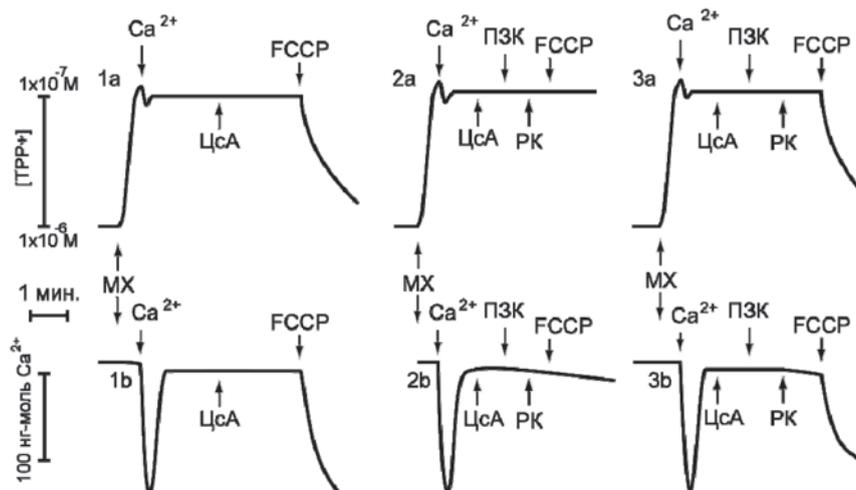


Рис. 3. Влияние ионов K^+ и Na^+ на эффект ПЗК в отношении МП и выхода ионов Ca^{2+} у митохондрий печени, поврежденных добавлением 4 мкМ FCCP: а — влияние на МП митохондрий, б — влияние на метаболизм ионов Ca^{2+} . FCCP — протонофор.

Примечание. Добавки в среду: то же, что на рис. 1 и 2, а также МХ — 1,5 мг белка/1 мл митохондрий печени, ЦсА — 2,1 мкМ циклоспорина А, РК — 2,6 нг, Ca^{2+} — 140 нг-моль $\text{CaCl}_2/1$ мг белка, ПЗК — 6,8 мкг/мг белка.

из матрикса митохондрий, который сохраняется и после добавления в среду измерения FCCP (рис. 2 и 3б).

На рис. 3 представлены результаты влияния замены ионов K^+ на ионы Na^+ в среде измерения на эффекты ПЗК в отношении МП и выброса ионов Ca^{2+} у поврежденных добавлением FCCP митохондрий в присутствии циклоспорина А и РК. Как видно из рисунков, в среде измерения с ионами K^+ циклоспорином А и РК вызываемые у митохондрий добавлением FCCP быстрые процессы (снижение МП и выброс ионов Ca^{2+} из матрикса; рис. 1а, 1б и 3) блокируются добавлением ПЗК (рис. 2а, 2б и 3). Между тем замена ионов K^+ на ионы Na^+ в тех же условиях полностью снимает эти эффекты ПЗК (рис. 3а и 3б).

На рис. 4 представлены результаты экспериментов по исследованию влияния степени интактности митохондрий, поврежденных FCCP, на эффекты ПЗК в отношении МП в среде измерения с циклоспорином А и РК. Из рисунка следует, что при окислении сукцината эффект блокирования снижения МП у поврежденных FCCP митохондрий под действием ПЗК наблюдается у митохондрий с высоким дыхательным контролем (рис. 4А). У митохондрий с низким дыхательным контролем в тех же условиях ПЗК вызывает противоположный по знаку эффект, а именно: усиливает снижение МП, вызванное FCCP (рис. 4В). Замена сукцината на β -оксибутират приводит к реставрации «нормализующего» эффекта ПЗК в отношении МП

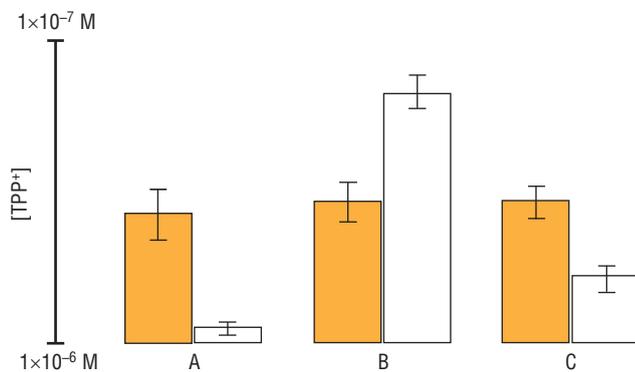


Рис. 4. Влияние степени интактности митохондрий печени и субстратов окисления на протекторный эффект ПЗК в отношении митохондрий печени при повреждении митохондрий под действием 1,6 мкМ FCCP.

Примечание. Ордината — концентрация ТФФ+ в среде инкубации (СИ). В СИ перед введением митохондрий (1,2 мг) добавлены: 1 мМ MgCl₂, 1,3 мкг/мл олигомицина, 5 мкМ циклоспорина А. После введения митохондрий в СИ добавлено 130 нг-моль CaCl₂/1 мг белка. Белые столбики — добавление ПЗК (5,2 мкг/мг) белка, заштрихованные — без ПЗК. А — митохондрии с ДК =3,0–3,2; В и С — митохондрии с ДК =1,5–1,3. А и В — в СИ 5 мМ сукцината, С — в СИ с 2 мМ малоната добавлено 2,5 мМ β-оксибутирата.

78

и метаболизма ионов Ca²⁺ у митохондрий с низким дыхательным контролем, поврежденных добавлением FCCP (рис. 4С).

Обсуждение

Вызываемая ПЗК стимуляция быстрого выхода ионов Ca²⁺ из предварительно нагруженных этими ионами митохондрий развивается на фоне снижения МП по циклоспорин А-чувствительному механизму (см. рис. 1). Эти данные свидетельствуют об активации мегапоры во внутренней мембране митохондрий. Чувствительность вызываемых ПЗК эффектов к циклоспорину А указывает на активацию им мегапоры. Эти результаты согласуются также с данными о способности ПЗК индуцировать такой характерный признак открытия мегапоры, как высокоамплитудное набухание митохондрий печени в присутствии ионов Ca²⁺ [4]. Вызываемый ПЗК медленный выход ионов Ca²⁺ в присутствии РК наблюдается в среде измерения с циклоспирином А. Таким образом, ПЗК обладает способностью стимулировать выход ионов Ca²⁺ из матрикса митохондрий печени не только путем индукции мегапоры, но и при посредстве Ca²⁺/H⁺-обменного механизма.

В экспериментах по повреждению митохондрий в среде измерения с РК протонофором FCCP вызывал нечувствительное к циклоспорину А быстрое снижение МП и выход ионов Ca²⁺ из матрикса митохондрий. Выход ионов Ca²⁺ в вышеописанных условиях не может быть объяснен обратимостью функционирования унипортера в результате падения МП ввиду присутствия в среде измерения РК [11]. В связи с этим можно предположить, что циклоспорин А-нечувствительная Ca²⁺-проницаемость внутренней мембраны митохондрий индуцируется здесь по иному механизму: возможно, при участии митохон-

дриальной фосфолипазы A₂ [12]. Была обнаружена способность ПЗК ингибировать оба эти эффекта FCCP.

Можно предположить, что обнаруженная способность ПЗК препятствовать снижению МП и выходу ионов Ca²⁺ из матрикса митохондрий под действием FCCP является результатом усиления энергопродукции в митохондриях этим регулятором. Такое объяснение согласуется с ранее полученными данными об усилении под действием ПЗК продукции восстановленных пиридиннуклеотидов в экспериментах с суспензией гепатоцитов [2]. Тот факт, что замена ионов K⁺ на ионы Na⁺ снимает ингибиторное действие ПЗК на снижение МП и выход ионов Ca²⁺ из матрикса митохондрий, поврежденных под действием FCCP (см. рис. 3), свидетельствует, что эти эффекты ПЗК реализуются при участии K⁺-зависимого механизма. То обстоятельство, что при замене субстрата окисления с сукцината на β-оксибутират удается получить эффект ингибирования падения МП под действием FCCP в присутствии ПЗК, может указывать на вклад никотинамидадениндинуклеотида (НАДН) в его реализацию.

На основании полученных результатов можно сформулировать совокупность условий, необходимых для повышения устойчивости митохондрий к повреждению под влиянием ПЗК. К ним относятся «нагруженность» митохондрий ионами Ca²⁺, высокая интактность этих органелл, а также «закрытое» состояние их мегапоры, несмотря на повышение протонной проницаемости у внутренней мембраны, вызванное повреждающим воздействием. В связи с этим можно полагать, что протекторное действие ПЗК может осуществляться в гепатоцитах, накапливающих ионы Ca²⁺ в митохондриях в результате перегрузки физиологических функций этих клеток или вследствие их повреждения [14]. При этом протекторное действие распространяется не на весь пул митохондрий, сохранивших высокую интактность, и при условии, что в них не активирован механизм мегапоры.

Ранее было предложено объяснение механизма тканевого стресса, согласно которому протекторное действие его эффектора — комутон — осуществляется путем активации неспецифической реакции клеток на повреждение [12]. На основании данных, свидетельствующих о деэнергизирующем действии ПЗК на гомологичные митохондрии [4], предполагалось, что протекторное действие этого внутриклеточного регулятора обусловлено формированием в клетке второй фазы данной физиологической реакции [12], для которой характерно торможение клеточного метаболизма [13]. Между тем рассмотренные в настоящей статье результаты свидетельствуют о том, что в определенных условиях ПЗК может оказывать протекторное действие и посредством усиления энергопродукции в поврежденных митохондриях. Как известно, усиление метаболизма является признаком первой фазы неспецифической реакции клеток на повреждение [13], поэтому можно полагать, что протекторное действие ПЗК на гепатоциты может быть обусловлено также путем формирования этой фазы неспецифической реакции клеток на повреждение. В данных условиях можно было бы ожидать усиления в поврежденной клетке репаративных процессов механизмом тканевого стресса.

Заключение

Таким образом, эффектор тканевого стресса гепатоцитов, продигозанзависимый комутон, вызывает деэнергизацию митохондрий печени, предваритель-

но нагруженных ионами Ca^{2+} . При этом наблюдается снижение мембранного потенциала и выход ионов Ca^{2+} из матрикса по циклоспорин А-чувствительному механизму мегпоры. В условиях блокирования мегпоры циклоспорином А протонифор FCCP вызывает снижение МП и выход ионов Ca^{2+} по цикло-

спориннечувствительному механизму. Показано, что ПЗК повышает устойчивость митохондрий к действию упомянутого протонифора, вызывая ингибирование этих эффектов. Ингибирующее действие ПЗК осуществляется по K^+ - и НАДН-зависимому механизму.

ЛИТЕРАТУРА

1. Элбакидзе Г.М., Элбакидзе А.Г., Куликова Л.А. Исследование участия клеток Купфера в инициации процесса пролигиозан-зависимого накопления комутона в печени крысы. *Докл. АН*. 2006; 407 (1): 119–123.
2. Elbakidze G.M., Elbakidze A.G. Tissue stress — the tissuespecific intratissue adaptation mechanism. VIII World Congr. of Int. Soc. for Adapt. Med., *Abstract book. Moscow*. 2006. P. 135–136.
3. Элбакидзе Г.М., Федоров В.П., Элбакидзе И.М. Индукция β - и γ -состояний комутонной регуляции дыхания и окислительного фосфорилирования митохондрий из печени и почки крысы ионами кальция. *Изв. АН СССР. Сер. биол.* 1986; 3: 400–409.
4. Элбакидзе Г.М., Элбакидзе А.Г., Меденцев А.Г. Исследование влияния пролигиозанзависимого комутона на медленный выход ионов кальция из матрикса митохондрий различной тканевой и видовой принадлежности. *Докл. АН СССР*. 2011; 437 (6): 842–845.
5. Elbakidze G.M., Elbakidze A.G. Principles of tissue growth intratissue regulation, Collierville. *USA: InstantPublisher*. 2009. 163 p.
6. Мосолова И.М., Горская И.А., Шольц К.Ф., Котельникова А.В. В кн.: *Методы современной биохимии*. Под ред. В.Л. Кретьевича. М.: *Наука*. 1975. С. 45–47.
7. Хавш Е. Ионо- и молекулярно-селективные электроды в биологических системах. М.: *Мур*. 1988. 221 с.
8. Kamo N., Muratsugu M., Hongoh R., Kobatake Y. Membrane potential of mitochondria measured with electrode sensitive to tetraphenyl phosphonium and relationship between proton electrochemical potential and phosphorylation potential in steady state. *J. Membr. Biol.* 1979; 49: 105–121.
9. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 1951; 193: 265–275.
10. Chinopoulos C., Starkov A. A., Fiskum G.J. Cyclosporin A-insensitive permeability transition in brain mitochondria: inhibition by 2-aminoethoxydiphenyl borate. *Biol. Chem.* 2003; 278 (30): 27382–27389.
11. Montero M., Alonso M.T., Albillos A., Garcia-Sancho J., Alvarez J. Mitochondrial Ca^{2+} -induced Ca^{2+} release mediated by the Ca^{2+} uniporter. *Mol. Biol. of the Cell.* 2001; 12 (1): 63–71.
12. Halestrap A.P., McStay G.P., Clarke S.J. The permeability transition pore complex: another view. *Biochimie.* 2002; 84 (2–3): 153–166.
13. Элбакидзе Г.М., Элбакидзе А.Г. Механизмы гиперметаболических состояний. *Вестник РАМН*. 2011; 7: 50–54.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Элбакидзе Георгий Михайлович, доктор биологических наук, академик РАЕН, директор Медико-биологического центра Ассоциации содействия Всемирной лаборатории

Адрес: 129344, Москва, ул. Искры, д. 13, к. 1, кв. 40, тел.: (499) 198-72-28, e-mail: gmelbakidze@hotmail.com

Меденцев Александр Григорьевич, доктор биологических наук, заведующий лабораторией Института физиологии и биохимии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН

Адрес: Московская область, Пушкино, Институтская, д. 4, тел.: (4967) 31-86-43, e-mail: Medentsev-AG@rambler.ru

Элбакидзе Андрей Георгиевич, младший научный сотрудник Медико-биологического центра Ассоциации содействия Всемирной лаборатории

Адрес: 129344, Москва, ул. Искры, д. 13, к. 1, кв. 40, тел.: (499) 198-72-28

А.Н. Куличенко, М.Е. Михайлова, Д.А. Ковалёв, С.В. Писаренко, Ю.В. Сирица, Л.В. Ляпустина

Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт, Ставрополь, Российская Федерация

Сравнительное изучение фармакокинетики офлоксацина в свободной и ниосомальной форме в эксперименте на белых мышах при введении *per os*

Цель исследования: изучить особенности фармакокинетики офлоксацина в составе анионных ПЭГ-содержащих ниосом на основе сорбитана моностеарата (Span 60) при пероральном введении экспериментальным белым мышам. **Материалы и методы:** офлоксацин включали в ниосомы, состоящие из Span 60 холестерина, ПЭГ 4000 и дицетилфосфата. Размеры ниосом оценивали с помощью зондовой микроскопии. Эффективность включения антибиотика в ниосомы определяли после удаления свободного действующего вещества путем центрифугирования. Анализ количественного содержания офлоксацина в образцах осуществляли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. **Результаты:** изучены основные фармакокинетические параметры офлоксацина при введении экспериментальным белым мышам *per os* свободной и ниосомальной формы антибиотика. Показано, что при пероральном введении ниосомальной формы наблюдается снижение максимальной концентрации в сыворотке крови и увеличение времени полувыведения офлоксацина в среднем в 7,4 раза по сравнению со свободной формой. Установлено, что биодоступность офлоксацина в ниосомальной форме составляет 154% относительно свободной формы антибиотика. **Выводы:** ниосомальные микроконтейнеры являются перспективной технологией инкапсулирования и направленного транспорта антибактериальных препаратов через биологические барьеры. Использование ниосомальной формы офлоксацина может позволить значительно повысить эффективность лечения по сравнению со свободной формой, а также способствовать значительному снижению проявления негативных эффектов при антибиотикотерапии.

Ключевые слова: ниосомы, офлоксацин, микрокапсулирование.
(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 80–84)

80

Введение

Офлоксацин (левофлоксацин) — антимикробный препарат из группы фторхинолонов широкого спектра действия. Известно, что офлоксацин эффективен в отношении преимущественно грамотрицательных и некоторых грамположительных бактерий, продуцирующих β-лактамазы и

устойчивых к большинству антибиотиков и сульфаниламидам. Офлоксацин характеризуется хорошим накоплением в клетках и тканях, и его выраженное бактерицидное действие обусловлено подавлением обеих субъединиц ДНК-гиразы и разрушением клеточной стенки бактерий, в связи с чем вероятность возникновения плазмидо- или хромосомно-опосредованной резистентности при антибиотикоте-

A.N. Kulichenko, M.E. Mikhailova, D.A. Kovalev, S.V. Pisarenko, U.V. Siriza, L.V. Lyapustina

The Federal Government Health Institution «Stavropol Plague Control Research Institute» of the Federal Service for Supervision in the Sphere of Consumer Rights Protection and Human Welfare

Comparative Study of Pharmacokinetics of Ofloxacin in a Free and Niosomal Forms in Experiments on White Mice when Administered *Per Os*

Aim: to study features of pharmacokinetics of ofloxacin as a part of anion PEGylated niosomes on a basis of sorbitan monostearate (Span 60) to experimental white mice *per os*. **Materials and methods:** ofloxacin was entrapped in niosomes consisting of Span 60, cholesterol, PEG 4000 and dicetylphosphate. Sizes of niosomes estimated by means of probe microscopy. Efficiency of inclusion of an antibiotic in niosomes defined after removal of free drug by a centrifugation. The analysis of the quantitative contents of ofloxacin in samples carried out a method of a high performance liquid chromatography. **Results:** we studied the main pharmacokinetic parameters of ofloxacin when used free and niosomal forms of antibiotic to experimental white mice *per os*. It is shown that use of oral niosomal forms leads to decrease of maximal concentration in serum and increase of ofloxacin half-life by 7.4 times in average compared to the free form. It is determined that bioavailability of ofloxacin in the niosomal form is 154% relative to the free form of the antibiotic. **Conclusions:** niosomal microcontainers are perspective technology of encapsulation and the directed transport of antibacterial preparations through biological barriers. Using of niosomal formulation of ofloxacin is able to afford to increase considerably efficiency of treatment in comparison with a free form and significantly decrease negative effects of antibiotic therapy.

Key words: niosomes, ofloxacin, microencapsulation.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 80–84)

рапии невысока [2]. Особую актуальность его применение имеет для лечения сепсиса, туберкулеза и других опасных инфекционных болезней, в т.ч. связанных с внутриклеточной персистенцией возбудителей.

Офлоксацин, как и другие препараты группы фторхинолонов, имеет побочные эффекты, такие как полиорганная токсичность, фотосенсибилизация, угнетение функции органов кроветворения и др. [2–4].

В настоящее время одной из перспективных стратегий повышения эффективности действия лекарственных препаратов является создание их новых форм с применением методов микрокапсулирования.

Ниосомы — это стабильные микроскопические везикулы, образованные одной или несколькими бислойнными мембранами различного состава. Широкое применение неионных поверхностно-активных веществ и липидов в конструировании подобных систем обусловлено их биосовместимостью, способностью к биодegradации, а также низкой токсичностью [5, 6].

Разработка ниосомальной формы офлоксацина может позволить снизить токсические эффекты при его применении, уменьшить оптимальную дозу препарата, а также обеспечить пролонгированное действие лекарственной субстанции в составе ниосом [7]. Снижение проявлений системной токсичности при использовании ниосомальных форм связано в первую очередь с уменьшением пиковой концентрации действующего вещества в крови за счет медленного высвобождения инкапсулята из ниосом вследствие диффузии через мембрану микровезикул и их деструкции под воздействием ферментов организма.

Ранее нами сообщалось об оптимизации технологии получения и стабилизации новой анионной полиэтиленгликоль (ПЭГ)-содержащей ниосомальной формы офлоксацина и оценке физико-химических свойств полученного ниосомального препарата [8].

Цель исследования: изучить особенности фармакокинетики офлоксацина в составе анионных ПЭГ-содержащих ниосом на основе сорбитана моностеарата при пероральном введении экспериментальным белым мышам.

Материалы и методы

Материал для исследования

Химические реактивы и фармацевтическая субстанция

При изготовлении ниосом использовали сорбитан моностеарат Span 60 молярной массой (ММ) 430,6 г/моль (Sigma Aldrich, США), холестерин ММ 513,67 г/моль (Sigma Aldrich, США), полиэтиленгликоль PEG 4000 ММ_{ср.} 4000 г/моль (Fluka, США), дицетилфосфат ММ 546,9 г/моль (Sigma Aldrich, США), хлороформ — степень чистоты для ВЭЖХ (Sigma Aldrich, США), калия фосфат однозамещенный (Amresco, США), кислоту трифторуксусную более 99% (Sigma-Aldrich, США), ацетонитрил — степень чистоты для ВЭЖХ (Sigma-Aldrich, США). Для определения эффективности включения антибиотика в ниосомы использовали спирт изопропиловый (Химсервис, Россия), офлоксацин (Sigma, США; Fluka, США, аналитический стандарт). Во всех описанных процедурах использовали воду типа 1, очищенную с помощью системы Simplicity (Millipore, США).

Изготовление ниосом

Ниосомальную форму офлоксацина получали методом обращенно-фазовой отгонки, описанным ранее [8].

Размер ниосомальных микровезикул

Размеры частиц ниосомальной дисперсии изучали с помощью сканирующей зондовой микроскопии в режиме контактной АСМ (универсальная сканирующая зондовая нанолaborатория NTEGRA Prima, NT-MDT, Россия) [8].

Очистка препарата от не включенного в ниосомы офлоксацина

Для определения эффективности включения офлоксацина в ниосомы невключенный антибиотик удаляли при помощи центрифугирования готовой дисперсии [8].

Методы исследования

Определение эффективности включения офлоксацина в ниосомы

Микровезикулы в составе свежечищенной дисперсии разрушали при помощи 50% раствора изопропилового спирта. Смесь фильтровали через фильтр Millex-GV 0,22 мкм/33 мм (Millipore, США) и центрифугировали при 2700 г в течение 10 мин. Супернатант использовали для количественного анализа содержания антибиотика и последующего расчета эффективности включения. Количественный анализ на содержание офлоксацина проводили с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Эффективность включения (ЭВ) офлоксацина определяли относительно исходной концентрации по формуле:

$$\text{ЭВ} = C/C_{\text{исх.}} \times 100,$$

где ЭВ — эффективность включения офлоксацина в ниосомы, %; С — концентрация офлоксацина, инкапсулированного в ниосомы, мг/мл; С_{исх.} — исходная концентрация офлоксацина в растворе, мг/мл.

Определение концентрации офлоксацина в сыворотке крови экспериментальных мышей при введении препаратов *per os*

Эксперименты проведены на модели белых беспородных мышей весом 18–20 г, содержащихся в обычных условиях вивария. Животным однократно перорально вводили раствор офлоксацина (1-я группа, $n = 45$) и ниосомальную форму антибиотика (2-я группа, $n = 45$). Однократная доза составляла 0,16 мг офлоксацина. Контролем служили животные (3-я группа, $n = 27$), получавшие стерильный физиологический раствор в аналогичном объеме. Концентрацию антибиотика в сыворотке крови экспериментальных животных определяли методом ВЭЖХ. Для этого пробы крови отбирали из сердца биопробных мышей через 30 мин, 1; 1,5; 3; 5; 8; 24; 30 и 48 ч после однократного введения соответствующего препарата. Образцы обрабатывали 30% по объему трифторуксусной кислотой и центрифугировали. Супернатант использовали в качестве образца для ВЭЖХ.

ВЭЖХ-анализ количественного содержания офлоксацина

Условия ВЭЖХ: хроматографическая система Konik Q12C (Konik, Испания), колонка Reprosil-Pur 300 ODS-3 250×3 мм, 5 мкм; предколонка Teknokroma Novafix C18 (ODS), 1×0,4 см; подвижные фазы: А — 0,025 М раствор калия фосфорнокислого однозамещенного, В — ацетонитрил. Режим элюирования градиентный: 80% А — 20% В → 20% А — 80% В в течение 10 мин. Скорость подвижной фазы — 1,0 мл/мин.

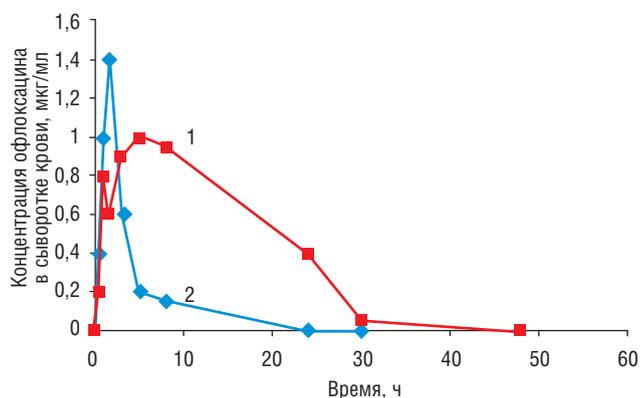


Рис. Усредненные фармакокинетические профили офлоксацина после однократного введения *per os* экспериментальным белым мышам в количестве 0,16 мг в ниосомальной (кривая 1) и в свободной форме (кривая 2).

Объем вводимой пробы составил 20 мкл. Температура термостата колонки — 30 °С; детекция — фотометрический детектор Konik UV-560 (Konik, Испания), определение проводили при аналитической длине волны $\lambda = 291$ нм. Для вычисления времени удерживания, площадей хроматографических пиков при детектировании и графического представления хроматограмм использовали программу Konikrom Plus (Konik, Испания). Время удерживания анализируемого пика офлоксацина составило $2,30 \pm 0,10$ мин.

Калибровочную кривую строили на основании значений площади пика офлоксацина на хроматограммах, полученных при анализе образцов сыворотки крови белых мышей, содержащих офлоксацин в диапазоне концентраций 0,08–40,0 мкг/мл (0,08; 0,8; 8,0; 40,0 мкг/мл). Линеаризацию кривой производили при помощи программы Microsoft Excel (Microsoft Corporation, США). Коэффициент вариации результатов измерений составил 17,2% (при анализе образцов с концентрацией 0,08 мкг/мл) и 5,9% (при анализе образцов с концентрацией 40,0 мкг/мл).

Фармакокинетический анализ

Фармакокинетические параметры рассчитывали на основании кривой зависимости средней концентрации офлоксацина от времени после однократного введения свободной или ниосомальной формы антибиотика. Значения максимальной концентрации в сыворотке крови (C_{max}), времени достижения максимальной концентрации после введения препарата (T_{max}) и времени полувыведения антибиотика ($T_{1/2}$) определяли по индивидуальным графикам зависимости концентрации офлоксацина в сыворотке крови от времени. Площадь под фармакокинетическими кривыми «концентрация – время» ($AUC_{0-\infty}$) рассчитывали методом трапеций. Относительную биодо-

ступность ниосомальной формы антибиотика по отношению к свободной определяли по отношению:

$$AUC_{0-\infty, N} / AUC_{0-\infty}$$

Статистическая обработка данных

Для математико-статистической обработки данных использовали пакет прикладных программ STATISTICA for Windows v. 6 (Statsoft Inc., США). Экспериментальные данные представлены в виде среднего значения (M) \pm стандартное отклонение (SD). В качестве критерия прецизионности количественного определения содержания офлоксацина в ниосомальных препаратах использовали значение коэффициента вариации не более 2%. Анализ групповых различий оценивали по *t*-критерию Стьюдента для несвязанных выборок при 95% уровне значимости. Различия между выборками считали достоверными при $p < 0,05$. В качестве критерия линейности результатов количественного определения содержания офлоксацина использовали значение коэффициента корреляции (r) $\geq 0,999$.

Результаты и обсуждение

В работе была получена анионная ПЭГ-содержащая экспериментальная ниосомальная форма офлоксацина состава Span60 – холестерин – ПЭГ-4000 – дицетилфосфат. На основании данных зондовой микроскопии было установлено, что среднее значение размера ниосом с включенным офлоксацином составляет 400 ± 50 нм (SD 3,13). Эффективность включения офлоксацина в ниосомы в опытных препаратах, согласно результатам проведенного анализа ВЭЖХ, была равна $75,0 \pm 2,0\%$.

Усредненные фармакокинетические профили офлоксацина в образцах сыворотки крови экспериментальных животных после однократного введения свободной или ниосомальной формы антибиотика, соответствующей 0,16 мг действующего вещества, представлены на рис.

Сравнительный анализ фармакокинетических параметров (табл.) офлоксацина показал, что максимальная концентрация антибиотика при введении ниосомальной формы в среднем на 28,4% ниже по сравнению со свободной формой. Уменьшение пиковой нагрузки при использовании новой лекарственной формы офлоксацина с сохранением терапевтической концентрации может в значительной степени способствовать минимизации проявления возможных побочных эффектов при проведении курса антибиотикотерапии.

При использовании раствора офлоксацина максимальная его концентрация в сыворотке крови достигалась в среднем через 1,5 ч после введения препарата, в то время как для препарата ниосомы офлоксацин C_{max} наблюдалась спустя 5 ч после введения. Ранее пролонгированное высвобождение офлоксацина в составе ниосом было отмечено в экспериментах по диализу препаратов

Таблица. Фармакокинетические параметры офлоксацина у экспериментальных белых мышей после однократного введения 0,16 мг антибиотика в свободной и ниосомальной форме, $\pm SD$

Исследуемые параметры	Раствор офлоксацина	Ниосомальная дисперсия с включенным офлоксацином
C_{max} , мкг/мл	$1,401 \pm 0,0502$	$1,002 \pm 0,1963$
T_{max} , ч	$1,5 \pm 0,5$	$5,0 \pm 2,0$
$T_{1/2}$, ч	$2,8 \pm 0,7$	$20,8 \pm 2,1$
$AUC_{0-\infty}$, мкг/мл·ч	$64,850 \pm 11,215$	$99,795 \pm 20,587$

в условиях *in vitro* [8]. Значительное смещение значения T_{max} при использовании ниосом с включенным антибиотиком может быть связано с тем, что ниосомальные микроконтейнеры выполняют функцию депо, медленно высвобождая инкапсулят.

При пероральном введении ниосомальные микровезикулы способны преодолевать кишечный барьер, после чего, вероятно, вступают в прямое взаимодействие с клетками нескольких типов, включая клетки крови, фагоциты в ретикуло-эндотелиальных тканях (в синусах печени и желчного пузыря) и эндотелий сосудов, высокоспециализированные клетки поверхности стенок кровеносных сосудов. Под воздействием специализированных ферментов происходит расщепление ковалентных химических связей отдельных компонентов на поверхности ниосом. Например, под действием эстераз сложноэфирные связи сорбитана моностеарата (Span 60) подвергаются гидролизу с образованием сорбитола и стеариновой кислоты, что приводит к медленному разрушению микрокапсул с высвобождением инкапсулированного вещества.

Следствием проявления эффекта медленного высвобождения действующего вещества в составе ниосом является увеличение площади под кривой «концентрация — время» ($AUC_{0-\infty}$) при использовании ниосомальной дисперсии в среднем в 1,54 раза по сравнению со свободной формой антибиотика, что свидетельствует о повышении эффективности применения офлоксацина в составе микрокапсулированного препарата.

Время полувыведения офлоксацина ($T_{1/2}$) в составе ниосом значительно превышало аналогичный показатель свободной формы (в среднем в 7,4 раза).

Установленные фармакокинетические параметры офлоксацина в составе ниосомальной дисперсии подтверждают сформулированные ранее предположения о стабильности ПЭГ-содержащих ниосомальных микровезикул на основе сорбитана моностеарата в условиях *in vivo* [8].

Наличие двух максимумов ($C_{max1} = 0,8$ мкг/мл, $T_{max1} = 0,5$ ч; $C_{max2} = 1,4$ мкг/мл, $T_{max2} = 5,0$ ч) на усредненной фармакокинетической кривой ниосомальной

формы офлоксацина, вероятно, обусловлено наличием в используемом препарате как действующего вещества в составе микровезикул, так и свободного антибиотика (до $25 \pm 2\%$ общей концентрации офлоксацина).

Основными причинами повышения биодоступности амфифильных соединений, в т.ч. и офлоксацина, включенных в ниосомы, по отношению к соответствующим свободным формам могут быть повышение эффективности абсорбции интактного антибиотика в присутствии неионогенного поверхностно-активного вещества (сорбитана моностеарата), обладающего способностью повышать проницаемость кишечной стенки, а также эффективным транспорт через биологические барьеры с высвобождением инкапсулированных в ниосомы веществ в отдельных органах и тканях организма в зависимости от размеров и состава ниосомальных микровезикул [9].

Заключение

Ниосомальные микроконтейнеры являются перспективной современной технологией инкапсулирования и направленного транспорта биологически активных веществ через биологические барьеры. В связи с этим особую значимость приобретает разработка и стандартизация методов конструирования и изучение новых ниосомальных форм лекарственных препаратов, в т.ч. антибиотиков, позволяющих значительно повысить эффективность лечения по сравнению с их свободными формами.

На основании данных, полученных в ходе исследований, доказано, что при введении анионной ПЭГ-содержащей ниосомальной формы офлоксацина на основе сорбитана моностеарата наблюдается снижение пиковой концентрации антибиотика по сравнению со свободной формой, что может способствовать снижению токсических эффектов при его применении, а также пролонгированию действия препарата вследствие эффекта депо, обеспечивающего постепенное высвобождение антибиотика в организме.

ЛИТЕРАТУРА

1. Солодовник В.Д. Микрокапсулирование. М.: Химия. 1980. 216 с.
2. Падейская Е.Н., Яковлев В.П. Антимикробные препараты группы фторхинолонов в клинической практике. М.: Догмат. 1998. 352 с.
3. Eva C.W., Ryan T., Norma A. A novel technique for localized drug delivery. *BioPhys. J.* 2009; 96: 681–687.
4. Pandey V.P., Deivasigamani K. Preparation and characterization of ofloxacin non-ionic surfactant vesicles for ophthalmic use. *J. Pharm. Res.* 2009; 2 (8): 1330–1334.
5. Mozafari M.R. Nanomaterials and nanosystems for biomedical applications. Berlin: Springer. 2007. 166 p.
6. Uchegbu I.F., Vyas S.P. Nonionic surfactant-based vesicles (niosomes) in drug delivery. *Int. J. Pharm.* 1998; 172: 33–70.
7. Jain C.P., Vyas S.P. Preparation and characterization of niosomes containing rifampicin for lung targeting. *J. Microencap.* 1995; 12: 401–407.
8. Ковалев Д.А., Писаренко С.В., Ашихмина М.А., Куличенко А.Н. Конструирование и характеристика ниосомных микровезикул для инкапсулирования офлоксацина на основе сорбитана моностеарата. *Биотехнология.* 2012; 6: 23–31.
9. Attia I.A., El-Gizawy S.A., Fouda M.A., Donia A.M. Influence of a niosomal formulation on the oral bioavailability of acyclovir in rabbits. *AAPS PharmSciTech.* 2007; 8 (4): Article 106.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Куличенко Александр Николаевич, доктор медицинских наук, директор ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, **тел.:** (8652) 26-11-21, 26-03-49, **e-mail:** snipchi@mail.stv.ru

Михайлова Марина Евгеньевна, младший научный сотрудник лаборатории подготовки специалистов ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, **тел.:** (8652) 26-11-21, 26-03-49, **e-mail:** snipchi@mail.stv.ru

Ковалев Дмитрий Анатольевич, кандидат химических наук, руководитель сектора биохимии лаборатории подготовки специалистов ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, **тел.:** (8652) 26-11-21, 26-03-49, **e-mail:** alcheem@mail.ru

Писаренко Сергей Владимирович, кандидат химических наук, старший научный сотрудник сектора биохимии лаборатории подготовки специалистов ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, **тел.:** (8652) 26-11-21, 26-03-49, **e-mail:** snipchi@mail.stv.ru

Сирица Юлия Владимировна, младший научный сотрудник сектора биохимии лаборатории подготовки специалистов ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, **тел.:** (8652) 26-11-21, 26-03-49, **e-mail:** snipchi@mail.stv.ru

Ляпустина Лариса Вениаминовна, доктор медицинских наук, руководитель лаборатории подготовки специалистов ФКУЗ «Ставропольский научно-исследовательский противочумный институт» Роспотребнадзора

Адрес: 355035, Ставрополь, ул. Советская, д. 13-15, **тел.:** (8652) 26-11-21, 26-03-49, **e-mail:** snipchi@mail.stv.ru

Р.Г. Исмаилов

Азербайджанский медицинский университет, Баку
Городской кожный венерологический диспансер г. Баку, Азербайджанская Республика

Регуляция меланогенеза при дисхромии кожи

Цель исследования: изучить роль иммунных, биохимических и гормональных факторов в регуляции меланогенеза у больных с дисхромией кожи. **Пациенты и методы:** под наблюдением находились 226 больных с различными формами дисхромии кожи, из них 157 женщин и 69 мужчин. Возраст пациентов варьировал 16 до 55 лет. Длительность заболевания колебалась от 5 нед до 18 лет. Для исследования меланогенеза при витилиго, невусах и мелазме были изучены параметры иммунной, эндокринной и системы перекисного окисления липидов — антиоксидантной системы. **Результаты:** меланоциты отвечают на изменение концентрации α -меланинстимулирующего гормона и аденокортикотропного гормона снижением или повышением интенсивности меланогенеза. Активация процесса связана также с ультрафиолетовым облучением. Сопоставление содержания компонентов системы перекисное окисление липидов (ПОЛ) — антиоксидантная система (АОС) с супрессорной (CD8+) активностью лимфоцитов у пациентов с витилиго показало, что наиболее выраженный супрессорный эффект отмечался у больных с высоким уровнем ПОЛ. В то же время у пациентов с гиперпигментацией обнаружена сильная отрицательная связь с CD4+. Также имеет место отрицательная связь CD16+-лимфоцитов с показателями гипофизарно-надпочечниковой системы у пациентов с дисхромией ($r = -0,318$ при витилиго, $r = -0,512$, $r = -0,4578$ — при невусах и мелазме, соответственно). **Выводы:** результаты исследования показали, что витилигинозный процесс, в особенности активно выраженный, протекает с интенсификацией процессов ПОЛ, изменением состояния антиоксидантной системы и иммунитета. При гиперпигментации повышенное содержание CD95+-клеток приводило к ослаблению апоптоза и обуславливало увеличение числа меланоцитов. При гиперпигментации наблюдается недостаточный апоптоз, а при гипопигментации — избыточный. Для поиска механизмов регуляции пигментации кожи необходимо определение α -меланинстимулирующего гормона, аденокортикотропного гормона и неврилизина.

Ключевые слова: дисхромии кожи, витилиго, невус, мелазма, меланогенез, апоптоз.
(Вестник РАМН. 2014; 1–2: 85–92)

85

Введение

Кожа является защитной оболочкой человеческого организма, но только в 80-х гг. XX в. было установлено, что она является местом не только реализации иммунологических процессов, но и активно участвует в них, выполняя роль органа иммуногенеза [1]. Особенности поражения кожи связаны со спецификой ее работы. Цвет кожи определяется наличием меланина в эпидермисе. Образование меланина в меланоцитах — это специфический

механизм защиты кожи от ультрафиолетового облучения. Меланоциты часто вовлекаются в патологические процессы, связанные с нарушением функции и биологии этих клеток [1, 2].

Исследования меланоцитов (пигментных клеток) и всей системы меланогенеза были начаты уже в 50-е гг. XX в. [3]. В последние 20 лет интерес самых разных специалистов к этому направлению исследований значительно возрос [4], что обусловлено резким увеличением числа случаев заболевания меланомой, ра-

R.G. Ismaylov

Azerbaijan Medical University, Baku
Urban Skin Venereal Dispensary, Baku, Republic of Azerbaijan

Regulation of Melanogenesis in the Dyschromia of Skin

Aim: to examine the role of immune, biochemical and hormonal factors in the regulation of melanogenesis in patients with chromatopathy. **Patients and methods:** we observed 226 patients with various forms dyschromia skin. Age of the patients was in the range of 16 to 55 years. The frequency of females ($n = 157$) prevailed over the male sex ($n = 69$) 2,3 times. The disease duration ranged from 3 weeks to 12 years. For the study of melanogenesis in vitiligo, nevi and melasma were studied parameters of the immune, endocrine and lipid peroxidation — antioxidant system. **Results:** melanocytes are responsible for the change in concentration α - chromatophorotropic hormone and adrenocorticotrophic hormone (ACTH) decrease or increase melanogenesis. Activation process is also associated with UFOs. Comparison of the level of system components lipid peroxidation (LPO) — antioxidant system (AOS) suppressor (CD8 +) lymphocyte activity vitiligo patients showed that the most pronounced suppressive effect was observed in patients with high levels of lipid peroxidation. At the same time, patients with hyperpigmentation found a significant negative relationship with CD4+. It should be noted a negative relationship CD16+-lymphocytes with indicators pituitary- adrenal axis in patients Dyschromias ($r = -0,318$ vitiligo, $r = -0,512$, $r = -0,4578$ — in nevi and melasma, respectively). **Conclusions:** the results showed that vitiliginosny process, especially actively expressed, proceeds with the intensification of lipid peroxidation processes, changes in the state of AOS and immunity. With the increased level of hyperpigmentation CD95+-cells led to a weakening of apoptosis and cause increase in the number of melanocytes. When there is insufficient apoptosis hyperpigmentation, hypopigmentation and when — excessive apoptosis. To find mechanisms regulating skin pigmentation necessary to determine α -chromatophorotropic hormone, adrenocorticotrophic hormone and neutral endopeptidase.

Key words: skin dyschromia, vitiligo, nevus, melasma, melanogenesis, apoptosis.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 85–92)

ком кожи и витилиго, обусловленных связанными с нарушениями функций пигментной системы. Витилиго представляет собой идиопатическую лейкодерму, характеризующуюся образованием на коже белых пятен [5]. Установлено, что появление очагов депигментации обусловлено разрушением меланоцитов в пораженной коже [6, 7]. Для идентификации меланоцитов в коже используют различные меланотитарные маркеры, такие как тирозиназа, NKI-beteb, HMB-45, S-100, TRP-1, TRP-2 и другие, но ни один из них не обладает абсолютной специфичностью и чувствительностью. Для диагностики меланотитарных новообразований предложен новый маркер меланоцитов Melan-A (продукт гена *MART-1*). Он кодирует трансмембранный меланосомальный белок, локализующийся в меланосомах, аппарате Гольджи и эндоплазматическом ретикулуме, и распознается аутологичными цитотоксическими Т клетками [8, 9]. Согласно современным представлениям, разрушение меланоцитов в депигментированной коже может быть обусловлено генетическими, иммунными, аутоцитотоксическими или нейрогенными факторами [10, 11]. Ряд авторов ведущую роль в повреждении меланоцитов и нарушении меланогенеза при витилиго отводят иммунным механизмам [12–14]. Известно об участии иммунной системы в механизме меланогенеза. Установлено, что лимфоциты осуществляют свои функции в коже путем постоянной рециркуляции [15].

Меланогенез — высокорегулируемый процесс из-за свойственной ему токсичности. Сложный процесс меланогенеза может нарушаться на различных этапах под влиянием как экзо-, так и эндогенных факторов. Регуляция пигментного обмена в организме обеспечивается многочисленными ферментами, гормонами гипофиза и надпочечников (кортизол), микроэлементами и витаминами. Меланогенез — один из сложных фенотипов адаптации организма к окружающей среде, и, несмотря на то, что нарушение пигментации кожи исследуют уже давно, его механизм остается не до конца выясненным. Не уточнено, какие структуры клетки являются дефектными, что является причиной повреждения клетки. Именно поэтому в патофизиологии пигментации важно изучение различных регулирующих механизмов.

Цель исследования: изучить роль иммунных, биохимических и гормональных факторов в регуляции меланогенеза у больных с дисхромиями кожи.

Пациенты и методы

Участники исследования

Исследование основано на результатах клинко-лабораторного обследования пациентов с расстройствами пигментации. Работа проводилась в период с 2001 по 2008 г. Клиническое обследование выполнено в Республиканском кожно-венерологическом диспансере г. Баку среди больных, состоявших на учете и проходивших лечение.

Под наблюдением находились 226 больных с различными формами дисхромии кожи. Возраст пациентов варьировал от 16 до 55 лет (средний возраст $36,5 \pm 9,8$ лет). Частота женского пола ($n = 157$) преобладала над частотой мужского ($n = 69$) в 2,3 раза. Длительность заболевания колебалась от 3 нед до 12 лет. Пациенты были разделены на 3 группы: I группа — больные витилиго ($n = 91$; 40,3%), II группа — пациенты с пигментным невусом ($n = 78$; 34,5%), III группа — лица с мелазмой ($n = 57$; 25,2%). I группа включала 31 (34,1%) больного с легкой, 48 (52,7%) — с умеренной и 12 (13,2%) — с выраженной

степенью заболевания. Во II группе у 37 (47,4%) человек диагностировали внутридермальный невус (обыкновенное родимое пятно), в 23 (29,5%) случаях — фиброэпителиальный и в 18 (23,1%) — невус Сеттона. Контрольную группу составили 40 человек с нормальной пигментацией кожи.

Методы исследования

В работе использован комплекс современных иммунологических, биохимических и радиоиммунных методов исследования. Иммунологический контроль осуществляли путем определения показателей клеточного и гуморального звена иммунитета. Материалом для исследования служила венозная кровь и сыворотка. Для исследования применяли иммунологические тесты 2-го уровня: фенотипирование лейкоцитов (CD3+, 4+, 8+, 16+, 20+, 25+, 36+, 38+, 68+, 69+, 71+, 95+, *HLA-DR*), определение активности нейтрофилов и моноцитов (НСТ-тест, фагоцитарная активность, фагоцитарное число), исследование концентрации иммуноглобулинов (Ig) классов А, М, G и циркулирующих иммунных комплексов.

Параметры клеточного иммунитета определяли с помощью моноклональных антител фирмы «Сорбент» (Россия), меченных FITC, методом проточной цитофлуориметрии на аппарате Coulter Epicx XL (Beckman Coulter, США).

Циркулирующие иммунные комплексы (ЦИК) определяли путем осаждения их из сыворотки 3,5% полиэтиленгликолем (м.м. 6000) фирмы Serva (Германия).

Для каждого обследованного определяли степень иммунных нарушений по формуле А.М. Земскова (1986):

$$\left(\frac{\text{Показатель конкретного больного}}{\text{Показатель, принятый за норму}} - 1 \right) \times 100.$$

Цитокиновый статус оценивали путем определения многофункциональных неспецифических медиаторов — интерлейкинов (IL) 1 β , 2, 6, 8, которые считаются ранними факторами защиты, синтезируемыми кератиноцитами и лимфоцитами. Уровень продукции IL в периферической крови (сыворотке) устанавливали иммуноферментным анализом (ИФА) с помощью тест-системы «Цитокин» (Россия) и наборов реагентов ProCon II для научных исследований, изготовленных фирмой «Протеиновый контур» (Россия). Применяли твердофазный ИФА. Результаты учитывали с помощью спектрофотометра Multiscan (Финляндия), измеряя оптическую плотность по заданной длине волны. Нормативные показатели для IL 6 — не более 5 пкг/мл. Гормональный спектр оценивали по содержанию α -меланинстимулирующего гормона (α -МСГ), адренкортикотропного гормона (АКТГ) и кортизола.

Концентрацию α -МСГ в крови определяли с помощью стандартных наборов фирмы Immuno Nuclear Corporation (США), АКТГ — CIS (Франция, Италия), кортизол — «СТЕРОН» (Белоруссия).

Активность фермента эндопептидазы или неприлизина (НЭП) определяли по методу В. Мари и соавт. [16].

Статистическая обработка данных

Статистический анализ материала проводили с использованием программы STATISTICA (StatSoft Inc., США). При обработке данных применяли непараметри-

ческий *U*-критерий Манна–Уитни. Корреляционные зависимости исследовали при помощи критерия Пирсона (*r*) и Спирмена (*rs*) [17].

Результаты и обсуждение

При определении клеточного звена иммунитета в I группе зафиксирован рост активности зрелых Т лимфоцитов (CD3+ — 2,5%), цитотоксинов (CD8+ — 28,78%), естественных киллеров (CD16+ — 28,6%), В лимфоцитов (CD20+ — 16,3%), активированных лимфоцитов (CD25+ — 19,2%), апоптозных рецепторов (CD95+ — 13,3%), индикаторов активации Т клеток (*HLA-DR*+ — 16,9%), а также угнетение макрофагов (CD36+ — 4,9%, CD68+ — 17,1%). Гуморальный иммунитет выражался повышением содержания ЦИК (17,6%), угнетением синтеза иммуноглобулинов (IgG — 9,2%; IgA — 27,7%), снижением содержания неспецифических факторов (НСТ — 10,6%).

У больных витилиго (I группа) зарегистрирован достоверно высокий уровень (в 1,2 раза больше) CD8+ по сравнению с контрольной группой, в то время как число CD4+-субпопуляций было незначительно сниженным.

У пациентов с витилиго содержание рецептора к IL 2 — CD25+ — превышало нормальное в 1,2 раза. У больных I группы также наблюдалось повышенное содержание CD95+-клеток. Их концентрация в периферической крови по сравнению с контрольной была выше на 13,3%.

Оценивая результаты исследования гуморального звена иммунитета, следует отметить повышенный уровень ЦИК (на 17,6%) и низкую концентрацию IgA и IgG у больных I группы по сравнению с лицами с нормально пигментированной кожей (на 9,2 и 27,7%, соответственно).

Следовательно, при дисхромии кожи изменяется соотношение компонентов не только клеточной, но и гуморальной системы иммунитета. Результаты иммунологического исследования свидетельствуют о наиболее выраженных изменениях у пациентов с витилиго и пигментными невусами. Эти изменения, на наш взгляд, влияют на деструкцию меланоцитов.

При исследовании показателей неспецифического иммунитета установлено их снижение у больных витилиго. Так, результат НСТ-теста по сравнению с контрольными показателями был снижен на 10,6%, фагоцитарный индекс — на 4,7%, фагоцитарное число — на 2,4%. Индекс апоптоза CD95+/CD3+ имел тенденцию к увеличению за счет роста численности циркулирующих в крови CD95+-клеток в I и уменьшения числа CD3+-субпопуляций во II и III группе. У больных витилиго также было зарегистрировано повышение содержания IL 1β (на 14,1% по сравнению со здоровыми лицами).

У больных с гипопигментацией установлена положительная корреляция содержания цитокинов с субпопуляциями лимфоцитов. Отмечено параллельное, различно выраженное повышенное содержание в крови Т клеток и интерлейкинов IL 1, 2, 6, 8. Следовательно, у больных витилиго имеет место повышение реактивности Т-звена иммунитета, и можно предположить, что при гипопигментации эти клетки в совокупности с цитокинами влияют на деструкцию меланоцитов, способствующую дисхромии.

При витилиго имеет место деструкция меланоцитов с их функциональной деградацией.

Всех обследованных с гипопигментацией в зависимости от степени активности заболевания разделили на 3 подгруппы: подгруппа 1.1 — пациенты с легкой степенью активности болезни (*n* =31; 34,1%); 1.2 — с умеренной степенью (*n* =48; 52,7%); 1.3 — с выраженной степенью (*n* =12; 13,2%).

В подгруппе 1.1 отмечено увеличение численности цитотоксических Т лимфоцитов (CD95+) в периферической крови. Содержание естественных киллеров в среднем у больных подгруппы 1.1 находилось на уровне контрольных величин. По мере повышения степени активности процесса значение их увеличивалось, и разница с контрольными показателями составила в подгруппе 1.2 и 1.3 22,0 и 30,3%, соответственно. Характер изменения содержания CD20+, CD25+ и CD38+-лимфоцитов был иным: с увеличением степени активности заболевания их число увеличивалось. Аналогичным образом повышалась концентрация *HLA-DR*+ по сравнению с контрольными величинами. Концентрация CD95+-лимфоцитов увеличивалась по мере активизации процесса: у пациентов с умеренной степенью активности она превышала контрольные значения на 14,4%, с выраженной — на 20%, и незначительно (на 6,7%) — у лиц с легкой степенью активности болезни.

Результаты исследований указывают, что отсутствие интенсивных иммунореактивных маркеров CD68+ и CD36+ представляет собой особенность эпидермиса кожи при гипопигментации.

Концентрация ЦИК в сыворотке крови повышалась с увеличением степени активности заболевания. В этом случае уровень ЦИК был выше контрольных показателей на 16,6%. Содержание иммуноглобулинов у больных витилиго было сниженным. Концентрация IgG у больных 1.1 и 1.2 подгрупп уменьшилась на 7,2% по сравнению со здоровыми индивидуумами. Во всех подгруппах наблюдали резкое снижение концентрации IgA.

По всей вероятности, иммуноглобулинемия у больных витилиго связана с дисбалансом иммунорегуляторных Т клеток. У этих больных также наблюдали снижение функциональной активности нейтрофилов, которое выражалось в снижении фагоцитарного индекса и результатов НСТ-теста. Отмечено заметное достоверное снижение индекса супрессии (CD4+/CD8+), активации В (CD20+/CD38+) и Т клеток (CD69+/CD3+), помощи В клеткам (CD4+/CD16+ и CD8+/CD16+) за счет увеличения числа CD16+-клеток.

Обнаруженное у больных витилиго увеличение продукции IL 1 и 2 сопровождалось повышенным содержанием CD3+, CD8+, CD16+, CD25+, ЦИК, *HLA-DR*+. Установлена прямая корреляция между содержанием в сыворотке крови IL 1 и CD8+ и обратная — между относительным числом CD4+-клеток, в особенности у больных с выраженной степенью активности заболевания.

У больных витилиго зарегистрирована иммунная недостаточность, выражающаяся в дисбалансе субпопуляций Т клеток, снижении содержания разных классов иммуноглобулинов. Различия в концентрации цитокинов при разных степенях активности заболевания можно объяснить переходной формой активации патологического процесса. Следовательно, согласно полученным результатам, можно предположить, что выявленные изменения могут оказаться причиной разрушения меланоцитов при витилиго.

Иммунная система может оказывать супрессивное воздействие на рост эпителиальных образований кожи. Для разработки критериев диагностики и мониторинга лиц с пигментными невусами и мелазмой на фоне

лечения необходимо детальное изучение особенностей иммунного статуса пациентов с различными формами гиперпигментации кожи.

В зависимости от формы невусов 78 пациентов этой группы были разделены на 3 подгруппы: в подгруппу 2.1 были включены лица с внутридермальным пигментным невусом ($n = 37$), в 2.2 — 23 человека с фиброэпителиальным и в 2.3 — 18 больных с невусом Сеттона. У пациентов 2.1 и 2.2 подгрупп, имеющих сходство в структуре иммунофенотипов, отличительными особенностями являлись уменьшение числа зрелых Т лимфоцитов в среднем на 9,6% и естественных киллеров (CD16+) — на 10,4–13,8%, увеличение числа клеток, экспрессирующих маркеры ранней и поздней стадий активации. Так, отмечено повышение содержания CD25+-клеток в обеих группах в среднем на 6,1–9,9%, CD38+ — на 4,2%, CD69+ на 9,4% и *HLA-DR+* — на 18,4%. Обращали на себя внимание увеличение численности CD4+ и снижение — CD8+-лимфоцитов у пациентов этих подгрупп по сравнению с группой контроля. Практически отсутствовала разница в отношении концентрации маркеров пролиферирующих клеток (CD71+), что подтверждало отсутствие воспалительного процесса. Субпопуляции CD36+ и CD68+ — маркеры фагоцитоза — у обследованных данной подгруппы находились в пределах контрольных величин. Напротив, число CD95+-лимфоцитов, экспрессирующих маркеры апоптоза, было снижено при внутридермальном и фиброэпителиальном невусе (на 4,9 и 6,9%, соответственно). Сходную картину, но со значительно большими отклонениями от нормы, наблюдали в группе пациентов с невусом Сеттона.

Наряду со сдвигом в клеточном звене зарегистрированы изменения и в гуморальном. Во всех подгруппах обследованных у пациентов с пигментным невусом констатировано достоверное увеличение концентрации ЦИК и содержания всех трех классов иммуноглобулинов в сыворотке крови. При этом число зрелых В лимфоцитов было снижено в 2.2 и 2.3 подгруппах в среднем на 5,4 и 10,9%, соответственно, т.е. имело место угнетение В лимфоцитов. Анализируя показатели неспецифической защиты, установили несущественное повышение результата НСТ-теста, характеризующего функциональный резерв нейтрофилов к завершеному фагоцитозу, в сочетании со снижением фагоцитарного числа и фагоцитарного индекса, в особенности у пациентов 2.3 подгруппы. Таким образом, у лиц с пигментным невусом установлены признаки иммунной патологии, выражающиеся снижением CD3+, ассоциированные с заметным увеличением CD25+ (в среднем на 9,9%), CD69+ и *HLA-DR+*-клеток. Соответственно, констатировано формирование внутренних диспропорций в структуре иммунорегуляторных индексов.

Особая роль в патогенезе дисхромии отводится цитокинам — ИЛ 1, 2, 6, 8. Кожа содержит большое разнообразие химических компонентов, которые потенциально могут оказывать влияние на рост и дифференцирование меланоцитов. Производство этих факторов эпидермическими клетками модулируется условиями окружающей среды, включая экзогенные факторы, механические повреждения и ультрафиолетовое облучение. Параллельно с исследованием иммунокомпетентных клеток мы также изучили содержание указанных цитокинов у пациентов с различными формами пигментного невуса.

При оценке цитокинового статуса у пациентов с пигментным невусом регистрировали более высокий уровень продукции сывороточного ИЛ 1 β , 6 и 8 и низкий — ИЛ 2. Следовательно, сдвиг в соотношении популяций им-

мунокомпетентных клеток сопровождался изменением продукции ИЛ.

Сравнение показателей интерлейкинового статуса внутри группы пигментного невуса, т.е. у пациентов с различными формами пигментных невусов, показало, что наибольшие изменения отмечаются у пациентов, у которых число пигментных невусов на коже более одного. Необходимо отметить, что внутридермальное невус чаще локализовался на руках и туловище, и числом более одного встречался в 19,3% случаев. У пациентов с фиброэпителиальной формой невуса они чаще располагались на лице, и числом более одного были зарегистрированы в 17,9% случаев. Невус Сеттона в виде узелка в 61,1% случаев располагался на туловище (более одного — у 9,0% больных).

Таким образом, наибольшее число невусов было отмечено при внутридермальной и фиброэпителиальной форме болезни. При оценке интерлейкинового статуса больных с пигментным невусом зарегистрирована корреляция между содержанием интерлейкинов ИЛ 6, 8 и числом невусов на коже. Корреляционный анализ позволил установить линейные связи между числом невусов и концентрацией цитокинов: чем больше было невусов, тем выраженнее оказалось изменение интенсивности синтеза интерлейкинов.

Изменения интенсивности синтеза интерлейкинов достоверно коррелировали с увеличением числа пигментных невусов на коже. Так, самый высокий коэффициент корреляции ($r = 0,620$) зарегистрирован между содержанием ИЛ 8 и числом пигментных невусов, а самый низкий ($r = -0,362$) — между концентрацией ИЛ 2 и ИЛ 1. Следует отметить, что ИЛ 8 продуцируется иммунными клетками в ответ на антигенную стимуляцию и цитокиновую активность и играет важную роль в инициации и поддержании воспаления. В то же время известно, что ИЛ 2 является одним из ключевых факторов развития иммунного ответа, его синтез осуществляется под влиянием антигенной стимуляции преимущественно Т лимфоцитами-хелперами [18]. Выявленное нами повышенное содержание ИЛ 8, 1 β , 6 и низкий уровень ИЛ 2 в группах с различным видом пигментного невуса свидетельствует о том, что гиперпигментация, протекающая по типу гиперчувствительности замедленного типа, индуцирует синтез интерлейкинов. Возможно, у пациентов с пигментным невусом увеличение концентрации ИЛ 8 обусловлено активацией макрофагов CD36+.

Проведенные исследования и наши наблюдения демонстрируют, что с увеличением числа пигментных невусов риск развития патологического процесса, выражающегося сдвигом синтеза интерлейкинов, увеличивается. В то же время на фоне установленной корреляции картины иммунопатологических сдвигов у пациентов с внутридермальным невусом (подгруппа 2.1) преобладала малосимптомность, не было выраженной клинической картины.

У пациентов II группы с невусом имело место увеличение числа клеток-хелперов (CD4+ — 4,3%), активированных лимфоцитов (CD25+ — 11,2%, CD69+ — 11,8%, *HLA-DR+* — 18,4%); угнетение зрелых лимфоцитов (CD3+ — 10,2%), цитотоксинов (CD8+ — 4,4%), естественных киллеров (CD16+ — 12,4%), макрофагов (CD68+ — 3,6%), рецепторов апоптоза (CD95+ — 5,6%). В гуморальном звене определялся рост концентрации ЦИК (21,0%), иммуноглобулинов (IgG — 18,4%, IgA — 2,2%). Неспецифическая защита характеризовалась увеличением числа нейтрофилов (НСТ — 5,8%), снижением фагоцитарного индекса (6,6%) и фагоцитарного числа (11,9%).

У пациентов с мелазмой (III группа) в клеточном звене установлено увеличение популяции В лимфоцитов (CD20+ — 7,6%), активированных лимфоцитов (CD25+ — 6,5%, *HLA-DR+* — 13,2%); угнетение зрелых Т лимфоцитов (CD3+ — 9,1%), хелперов (CD4+ — 3,3%), цитотоксиков (CD8+ — 3,3%), естественных киллеров (CD16+ — 4,1%), макрофагов (CD69+ — 6,2%), рецепторов апоптоза (CD95+ — 4,7%).

Выраженные изменения отмечены в способности нейтрофилов к фагоцитозу и киллингу. Таким образом, анализ иммунограммы обследованных групп пациентов позволил установить существенные изменения следующих показателей: CD3+, CD4+, CD8+, CD16+, CD25+ клеток, *HLA-DR+*, ЦИК, IgA, IgG. Для каждого пациента был рассчитан индекс, с помощью которого оценивалась степень иммунных расстройств. У 32,3% обследованных выявлена 1-я степень иммунных расстройств (ИР) с супрессией Т-клеточного звена иммунной системы, у 34,9% — 1-я степень ИР со стимуляцией Т-клеточного звена. В 38,9% случаев наблюдалась стимуляция В-клеточного звена, проявляющаяся в 1-й и 2-й степени ИР. Гиперпродукция IgA установлена у 23,9% обследованных с 1-й степенью ИР, у 6,6% — со 2-й и у 2,2% — с 3-й. Отмечена гиперпродукция IgG: в 33,6% случаев — с 1-й степенью ИР, в 8,4% — со 2-й. Гипопродукция констатирована в 9,3 и 9,7% случаев, соответственно.

Оценивая продукцию интерлейкинов периферической крови, зарегистрировали различия в концентрации основных интерлейкинов, отвечающих за рост и дифференцировку Т клеток при дисхромии кожи в различных ее формах.

Сравнение синтеза интерлейкинов между группами свидетельствует об изменении их концентрации при гиперпигментации, больше выраженное у пациентов II группы. Для пациентов с этой формой дисхромии было характерно снижение продукции ИЛ 2 и гиперсинтез ИЛ 1, 6, 8, причем именно в этой группе отмечались наибольшие сдвиги в продукции цитокинов по сравнению с двумя другими группами наблюдения. У больных витилиго увеличение концентрации в периферической крови зарегистрировано только для ИЛ 1 и 8. При оценке цитокинового статуса более высокий уровень ИЛ 1β отмечен у больных II группы по сравнению с контрольной (17,1%) и с III обследуемой группой с мелазмой (20,0%). Продукция ИЛ 1β у больных мелазмой имела тенденцию к снижению, но средние показатели по группе находились в пределах контрольных значений. Таким образом, отмечено отчетливо большее увеличение содержания ИЛ 1 при невусах, меньшее — при витилиго.

У больных невусами регистрировали достоверное снижение концентрации ИЛ 2 на 12,0% ($p < 0,05$) по сравнению с нормальными значениями. У пациентов III группы концентрация ИЛ 2 была незначительно снижена (0,6%) или оставалась нормальной. При анализе содержания ИЛ 6 и 8 установлено их достоверно высокое содержание у больных II группы на 9,5 и 10,6% ($p < 0,05$), соответственно, по сравнению с группой лиц с нормально пигментированной кожей. У больных мелазмой продукция ИЛ 6 в среднем была повышена на 1,3% или находилась на верхней границе нормы (в 26,3% случаев). Нормальная концентрация ИЛ 8 у пациентов III группы, вероятно, указывала на отсутствие острого воспалительного процесса и связанной с ним активации патологического процесса. Обращало внимание, что у больных III группы интерлейкиновый статус в целом не отличался от такового контрольной группы, однако, наблюдалась тенденция к снижению концентрации ИЛ 1 и 2 и повышению со-

держания ИЛ 6. У обследованных (в частности, у пациентов с мелазмой) в анамнезе отмечались частые простудные заболевания и сердечно-сосудистая невралгия, но в период обследования воспалительные явления отсутствовали. Однако имел место психологический компонент: так, обследованные стеснялись своей внешности, старались максимально скрывать имеющиеся дефекты. Исходя из этого, можно предположить, что пациенты данной группы к моменту проведения исследования были подвержены как воздействию экзогенных (ультрафиолетовое облучение), так и эндогенных факторов.

Гиперсинтез ИЛ 1 наблюдали и при гипо-, и при гиперпигментации. Схожие изменения отмечены в содержании ИЛ 8 в I и II группе. Исследования показали, что у пациентов с невусами на фоне гиперпродукции ИЛ 1 регистрируется снижение концентрации ИЛ 2. Возможно, одной из причин этого может быть сдвиг в распределении популяций иммунокомпетентных клеток: низкое содержание CD3+, которые участвуют в секреции ИЛ 2.

При исследовании показателей иммунного статуса выявлялся повышенный уровень CD25+, что может свидетельствовать об активизации иммунного ответа при меланогенезе. Возможно, повышение продукции ИЛ 8 у пациентов пигментными невусами связано с накоплением у них Т хелперов.

Анализ интенсивности синтеза цитокинов продемонстрировал их повышенную экспрессию при дисхромии кожи. Полученные данные указывают на участие цитокинов в патогенезе дисхромий. Следует отметить, что уровни ИЛ 2, 6 и 8 в III группе наблюдения оказались примерно одинаковыми с таковыми в контрольной группе.

На индексах активации В (CD20+/CD38+) и Т клеток (CD69+/CD3+) за счет доли активированных субпопуляций CD20+ и CD69+ в сочетании с заметным ростом индексов помощи В клеткам за счет уровня CD16+-клеток происходит апоптоз. Индекс апоптоза CD95+/CD3+ имел тенденцию к повышению ввиду роста численности циркулирующих в крови CD95+-клеток в I и снижения содержания CD3+-субпопуляций во II и III группах. Таким образом, полученные данные показали причастность иммунной системы к меланогенезу.

При сравнительном анализе показателей системы перекисное окисление липидов — антиоксидантная система (ПОЛ-АОС) у пациентов с разными видами меланозов обнаружены значительные различия. Для всех групп обследования было характерно повышение интенсивности ПОЛ, выражающееся избыточным накоплением диенового конъюгата (ДК) и малонового диальдегида (МДА) в крови. Выявлялись изменения среди ферментов АОС. Установлено снижение активности супероксиддисмутазы (СОД) у пациентов с витилиго и мелазмой и ее повышение у пациентов с пигментным невусом. Аналогично изменению активности СОД изменялась активность каталазы. Показатель антирадикальной защиты (СОД/ДК) в среднем по группам оказался наиболее сниженным у пациентов с витилиго (0,26) и имел тенденцию к повышению при невусе (0,30, контроль — 0,29). Изменения в механизмах антиоксидантной защиты, в частности сдвиг в ферментативной регуляции и активация свободнорадикальных процессов, способствуют накоплению продуктов ПОЛ, нарушающих структурную целостность мембран. С учетом того, что высокореактивные промежуточные звенья меланогенеза цитотоксичны, возможно, что безудержная активация меланогенеза потенциально вредна для меланоцитов. Следовательно, запрещение ускорения образования перекиси водорода (H₂O₂) в меланогенезе могло бы составлять защитный механизм. Поскольку H₂O₂ — побочный

продукт меланогенеза, это может действовать как подводящая обратная связь, как ингибитор первой реакции меланогенеза, таким образом ограничивая накопление ядовитых промежуточных звеньев. Эта возможная обратная связь могла бы быть особенно уместна при состояниях активного меланогенеза после ультрафиолетового облучения, в частности у больных мелазмой.

У больных витилиго с различными степенями активности процесса отмечается снижение содержания АКТГ и α -МСГ в крови. Наиболее выраженные изменения наблюдали при выраженной степени активности заболевания. При этом также было установлено повышение концентрации кортизола и высокая активность НЭП в крови у пациентов с умеренной и выраженной степенью активности заболевания. Следовательно, выявленные нарушения создают необходимые условия для гипопигментации. В общем по группе витилиго содержание α -МСГ составило 42,8 нг/л (контроль — 48,7 нг/л) и значительно превышало норму у пациентов с пигментным невусом (53,3 нг/л) и мелазмой (52,5 нг/л, α -МСГ, при гипопигментации составила 12,2 пмоль/л; при гиперпигментации в группе с пигментным невусом — 18,4 пмоль/л, с мелазмой — 19,0 пмоль/л; контроль — 13,4 пмоль/л. Уровень кортизола — 384,5; 356,4 и 355,1 нмоль/л; контроль — 365,4 нмоль/л, соответственно.

90

О взаимосвязи секреции гормонов с интенсивностью меланогенеза свидетельствуют установленные корреляции. Снижение содержания α -МСГ и АКТГ имело место при гипопигментации, увеличение — при гиперпигментации. Однако степень пигментации не всегда коррелировала с концентрацией гормонов в плазме крови. Так, в 26,4% случаев ($n=24$) секреция α -МСГ не отличалась от показателей контрольной группы при витилиго. Соответственно, уровень АКТГ не изменился в 30,8% ($n=28$), кортизола — в 63,7% ($n=58$) случаев. Уровень α -МСГ, существенно превышающий норму, был зафиксирован в плазме крови пациентов с гиперпигментацией. Вместе с тем в группе с пигментным невусом в 64,1% случаев ($n=50$) установили нормальное содержание α -МСГ; АКТГ — в 37,2% ($n=29$); кортизола — в 59% ($n=46$). У пациентов с мелазмой неизменные концентрации α -МСГ, АКТГ и кортизола наблюдались у 50,9% ($n=29$), 14,0% ($n=8$) и 86,0% ($n=49$) пациентов, соответственно. Установлено сходство нарушений функционального состояния системы гипоталамус–гипофиз–надпочечники у больных пигментным фиброэпителиальным невусом и мелазмой. У наблюдаемых этих групп практически одинаково изменялись уровни гормонов гипофиза, несмотря на то, что пациентов с пигментным невусом в целом и с фиброэпителиальным невусом в частности относят к группе риска заболевания меланомой, а мелазму считают больше косметическим дефектом. Логично предположить, что у этих больных стресс воздействовал на состояние системы гипоталамус–гипофиз–надпочечники. Вместе с тем при мелазме повышение концентрации АКТГ и снижение содержания кортизола в крови менее выражено, чем у больных невусом Сеттона. Нарушение механизма обратной связи в системе гипоталамус–гипофиз–надпочечники, при котором в зависимости от снижения (в условиях гиперпигментации) или повышения (при витилиго) уровня кортизола в плазме крови происходит стимуляция или угнетение выработки α -МСГ и АКТГ, является еще одной из причин изменения гормонального гомеостаза. В условиях хронического стресса, причиной которой является дисхромия, происходят значительные изменения продукции гормонов. Повышенные концентрации кортизола в крови больных витилиго

вследствие длительного стресса приводит к снижению порога чувствительности клеток гипоталамуса и гипофиза к кортизолу.

Сопутствующие факторы окружающей среды, в частности высокая температура и сильный ветер, увеличивают повреждающее действие ультрафиолетового облучения. Меланоциты сами реагируют на ультрафиолетовые лучи, являющиеся для них специфическими раздражителями. Нарушение и усиление меланогенеза под влиянием ультрафиолета является не только местной реакцией кожи, а именно эпидермиса, но и реакцией всего организма. Об этом, помимо прочего, свидетельствует связь между секрецией гормонов гипоталамус–гипофиз–надпочечниковой системы и интенсивностью меланогенеза у пациентов с дисхромиями. Следовательно, в деградации меланоцитов эффективное участие принимает ультрафиолетовое облучение. Установлен двойной эффект ультрафиолетовых лучей на кожу. С одной стороны, они увеличивают производство меланина, который после перемещения к кератиноцитам гарантирует защиту генетического материала через меланосомы, с другой — ультрафиолет способствует фотоповреждению кожи. Наряду с гормонами ультрафиолетовое облучение оказывает регулирующее влияние на НЭП в меланоцитах.

Исследования последних лет указывают, что НЭП, или неприлизин, выраженный в меланоцитах, имеет физиологическую роль в регулировании меланогенеза меланокортиновыми пептидами. В процессе меланогенеза этот фермент участвует в деградации меланокортинов. НЭП относится к классу гидролаз, который «раскалывает» пептиды, расщепляя внутримолекулярные связи путем присоединения молекулы воды. Результаты исследований показали, что активность этого фермента при гипопигментации в среднем равнялась 1,21 нмоль/мин (контроль — 0,99 нмоль/л), при гиперпигментации активность НЭП составила 0,84 и 0,89 нмоль/мин у пациентов с пигментным невусом и мелазмой, соответственно. НЭП стимулирует меланогенетические эффекты α -МСГ и АКТГ. Повышенная активность НЭП при витилиго, возможно, ускоряет расщепление меланокортинов, тем самым содействуя снижению их меланин-синтетической функции. Напротив, при гиперпигментации сниженная активность фермента, возможно, влияла на уровень меланокортинов.

Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что меланоциты отвечают на изменение концентрации α -МСГ и АКТГ снижением или увеличением интенсивности меланогенеза. Активация процесса связана также с ультрафиолетовым облучением. Порядок, организация, структура определяют ход биохимических реакций в организме. Биохимические нарушения, а именно избыток или недостаток гормонов гипофиз–надпочечниковой системы, обусловлены повреждениями клеток. В организме происходит «поломка», через которую начинается утечка или поступление биохимических продуктов. Скопление химических веществ, обладающих агрессивными свойствами или выраженной биологической активностью, ведет к новым поломкам, а последние — к новым биохимическим сдвигам. Все это приводит к структурным дефектам, поврежденная клетка уничтожается, а вместо нее образуется новая.

В ходе исследования мы не наблюдали признаков воспаления при витилиго, обычно сопровождающих некроз ткани, таких как отек, боль, что указывало на другой механизм гибели меланоцитов в этих случаях. Вероятно, гибель клеток была результатом апоптоза. Сопоставление содержания компонентов системы ПОЛ-АОС с супрессорной (CD8+) активностью лимфоцитов у пациентов

с витилиго показало, что наиболее выраженный супрессорный эффект отмечался у больных с высоким уровнем ПОЛ. В то же время у пациентов с гиперпигментацией обнаружена сильная отрицательная связь. Вероятно, усиление ПОЛ воздействовало на состояние мембран, которое приводило к изменению взаимодействия иммунокомпетентных клеток и нарушению иммунного статуса. В связи с этим можно объяснить дисбаланс иммунокомпетентных клеток не только перераспределением в результате стресса, но и их гибелью вследствие токсического действия продуктов ПОЛ. Возможно, высокий уровень ДК и МДА в мембранах иммунокомпетентных клеток является также причиной нарушения синтеза иммуноглобулинов, обнаруженного у больных с дисхромией кожи. Высокая интенсивность ПОЛ свидетельствовала о низкой интенсивности антиокислительной защиты у больных витилиго и мелазмой. Однако в группе пациентов с пигментным невусом отмечалась высокая интенсивность и ПОЛ, АОС. Вероятно, такое противостояние указывало на невозможность пролиферации. Восприимчивость клеток-мишеней к цитотоксическим эффектам гуморальной аутоиммунной атаки модулируется местными клеточными факторами. Одним из таких факторов может быть разная экспрессия меланоцитами мембранных антигенов — рецепторов, опосредующих цитотоксические эффекты продуктов аутореактивных иммунцитов. Одним из явлений, основу которых составляет апоптоз, является селекция Т лимфоцитов. Уничтожение пораженных клеток путем апоптоза обеспечивает минимальное повреждение ткани по сравнению с другим механизмом смерти. Нарушение процессов клеточной гибели может приводить к возникновению патологических состояний и заболеваний, сопровождающихся дегенеративными или пролиферативными изменениями. Расстройства пигментации кожи, на наш взгляд, могут происходить в результате нарушения процесса запрограммированной смерти меланоцитов или их разрушения из-за свойственной чувствительности к оксидативному напряжению, являющемуся токсическим промежуточным звеном при нарушенном меланогенезе. При этом на фоне сдвига в популяциях иммунокомпетентных клеток при пигментных невусах и мелазме, в особенности у пациентов с внутридермальным невусом, отмечалось отсутствие клинической симптоматики. Формирование на этом латентном этапе дисбаланса в процессах физиологического апоптоза может в дальнейшем стать одной из причин развития клинической картины заболевания.

Обращало на себя внимание наличие тесной положительной связи между CD25+ и CD95+-клетками и показателями системы ПОЛ-АОС, а также системы гипофиз-надпочечники. Увеличение числа CD25+-клеток указывало на то, что продолжающаяся активация Т клеток вовлечена в прогрессивный процесс дисхромии. Следует отметить, что направленность связи была неоднородной. Именно эти клетки играют важную роль в регуляции апоптоза, поскольку выполняют функцию передачи сигнала к развитию апоптоза.

На наш взгляд, в разрушение меланоцитов в пигментарных расстройствах вносят свой вклад *HLA-DR*+клетки, являющиеся мишенью для цитотоксических Т клеток: их высокое содержание выявлялось как при гипо-, так и при гиперпигментации. Эти клетки помогают Т лимфоцитам узнавать чужеродные антигены. При этом получена положительная корреляция между этими клетками и содержанием малонового диальдегида (МДА) ($r = +0,316$ при витилиго, $r = +0,410$ и $r = +2,67$ — у пациентов с невусами и мелазмой, соответственно).

Из гуморальных факторов, принимающих участие в регуляции численности клеточных популяций в органах и тканях, важная роль принадлежит гормонам и цитокинам. Апоптоз может стимулироваться избытком гормонов. Это особенно характерно для глюкокортикоидов, в частности кортизола. Иммунологические клетки и сами находятся под влиянием глюкокортикоидов, которые регулируют в т.ч. число иммуноглобулин-секретирующих клеток. Корреляционный анализ показал участие гипофизарно-надпочечниковой системы в регуляции апоптоза при витилиго. IL 1 служит основным эндогенным медиатором иммунного ответа, активирует иммунокомпетентные клетки. В то же время важной составной частью многогранного биологического действия IL 1 являются изменения в нейроэндокринной системе, приводящие, например, к увеличению концентрации кортизола в периферической крови. Так, установлена сильная положительная корреляция между концентрацией IL 1 и кортизола у пациентов с витилиго и мелазмой ($r = +0,428$ и $r = +0,471$; $p < 0,05$) и отрицательная — у больных пигментным невусом ($r = -0,320$). В свою очередь, высокая концентрация кортизола способствует подавлению иммунных реакций. По-видимому, возрастание уровня кортизола под влиянием IL 1 больше необходимо для ограничения дальнейшего синтеза эндогенного IL 1 во избежание токсического действия его высоких концентраций, а не для иммуносупрессивного действия. Под действием глюкокортикоидов снижается продукция IL 2. В ходе исследования измененная (а именно — сниженная) продукция IL 2 была зарегистрирована в группе пациентов с пигментным невусом, и на этом фоне было отмечено снижение содержания кортизола. Следует иметь в виду, что один и тот же цитокин может в разных ситуациях противоположным образом воздействовать на одну и ту же клеточную систему. Так, IL 2 выступает в роли т.н. двойственного регулятора, контролируя как выживаемость, так и программируемую гибель естественных киллеров. В отношении Т и В лимфоцитов IL 2 в основном выступает в качестве биологического стимулятора.

В условиях стресса, особенно хронического (а любое заболевание представляет собой хронический стресс), повышенная секреция АКТГ подавляет секрецию IL 1 в макрофагах, что устраняет стимулирующее влияние IL 1 в гипоталамусе. Следовательно, здесь срабатывают механизмы обратной связи, которые замыкаются между АКТГ и IL 1. Анализ корреляционных взаимодействий показал наличие средней положительной корреляции между IL 1 и АКТГ у пациентов с пигментным невусом и отрицательную связь в группе пациентов с витилиго и мелазмой. Вероятно, ответственность за повышение активности секреции АКТГ могут брать на себя цитокины (в частности, IL 1 и 6), секретируемые фолликулярно-звездчатыми клетками передней доли гипофиза. На это указывала корреляционная связь между IL 6 и АКТГ в группе больных пигментным невусом ($r = +0,363$; $p < 0,05$).

Следует отметить отрицательную связь CD16+-лимфоцитов с показателями гипофиз-надпочечниковой системы у пациентов с дисхромией ($r = -0,318$ при витилиго; $r = -0,512$, $r = -0,4578$ при невусах и мелазме, соответственно).

Заключение

Результаты исследования показали, что витилигинозный процесс, в особенности активно выраженный, про-

текает с интенсификацией процессов ПОЛ, изменением состояния АОС и иммунитета. Филогенетически ПОЛ является более старой системой поддержания гомеостаза, чем АОС и иммунитет, что обуславливает возможность более быстрого истощения АОС с нарушением функций гомеостатических систем организма, в частности иммунной, формирования условий для нарушения деятельности других органов. Именно поэтому окислительное напряжение, сниженная активность ферментов АОС, нарушение взаимодействия иммунокомпетентных клеток могут способствовать гипопигментации. Наряду с этим была выявлена положительная корреляция между содержанием IL 1 и кортизола.

При гиперпигментации увеличенное число CD95+ клеток приводило к ослаблению апоптоза и обуславливало увеличение числа меланоцитов. Следовательно, при гиперпигментации наблюдается недостаточный апоптоз, а при гипопигментации — избыточный.

НЭП, синтезируемая в меланоцитах, играет физиологическую роль в регулировании меланогенеза меланокортиновыми пептидами: стимулирует меланогениче-

ские эффекты α -МСГ и АКТГ. Активность фермента при гипопигментации в среднем составила 1,21 нмоль/мин (в контроле — 0,99 нмоль/мин). При гиперпигментации активность НЭП составила 0,84 и 0,89 нмоль/мин у пациентов с пигментным невусом и мелазмой, соответственно.

Целесообразно исследование иммунного и цитокинового статуса, поскольку только на основе знания механизмов, приводящих к тем или иным иммунным нарушениям, возможны совершенствование дифференциальной диагностики, уточнение характера протекания процесса и разработка адекватных методов коррекции.

Для оценки ранних обратимых изменений в организме рекомендуется исследование системы, контролирующей процессы ПОЛ, факторов антиоксидантной защиты. Для поиска механизмов регуляции пигментации кожи необходимо определение α -МСГ, АКТГ и НЭП. В связи со значимостью психологических проблем, возникающих у лиц с депигментацией кожи, целесообразно проведение консультации психолога. Данную потребность следует учесть при разработке терапевтического подхода к этому контингенту больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кошевенко Ю.Н. Витилиго. Клиника, этиология, патогенез, лечение, реабилитация, профилактика. М.: Медицина. 2002. 644 с.
2. Барабой В.А. Структура, биосинтез меланоцитов, их биологическая роль, перспективы применения. *Усп. совр. биол.* 2000; 117: 86–92.
3. Mishima Y. New era of cell re-discovery led to the control of melanogenesis/melanoma: A scientific journey into terra incognita. *Pigment Cell Res.* 2001; 14: 47–70.
4. Prota G. Melanins, melanogenesis and melanocytes: looking at their functional significance from the chemist's viewpoint. *Pigment Cell Res.* 2000; 13: 283–293.
5. Клиническая дерматовенерология. Т. II. Под ред. Ю.К. Скрипкина, Ю.С. Бутова. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2009. 928 с.
6. Kovacs S.O. Vitiligo. *J. Am. Acad. Dermatol.* 1998; 38 (5): 647–668.
7. Moretti S., Spallanzani A., Amato L., Hautmann G., Gallerani I., Fabbri P. Vitiligo and epidermal microenvironment: possible involvement of keratinocyte-derived cytokines. *Arch. Dermatol.* 2002; 138 (2): 273–274.
8. Rimoldi D., Muehlethaler K., Salvi S., Valmori D., Romero P., Cerottini J.C., Levy F. Subcellular localization of the melanoma-associated protein Melan-AMART1 influences the processing of its HLA-A2-restricted epitope. *J. Biol. Chem.* 2001; 276 (46): 43189–43196.
9. Gleason B.C., Nascimento A.F. HMB-45 and Melan-A are useful in the differential diagnosis between granular cell tumor and malignant melanoma. *Am. J. Dermatopathol.* 2007; 29 (1): 22–27.
10. Westerhof W., d'Iscia M. Vitiligo puzzle: the pieces fall in place. *Pigment. Cell. Res.* 2007; 20 (5): 345–359.
11. Dell Anna M.L., Picardo M. A review and a new hypothesis for non-immunological pathogenetic mechanisms in vitiligo. *Pigment. Cell. Res.* 2006; 19: 406–411.
12. Gopal K.V., Rama Rao G.R., Kumar Y.H. Vitiligo: a part of a systemic autoimmune process. *Indian J. Dermatol. Venerol. Leprol.* 2007; 73: 162–165.
13. Le Poole I.C., Luiten R.M. Autoimmune etiology of generalized vitiligo. *Curr. Dir. Autoimmune.* 2008; 10: 227–243.
14. Rashtak S., Pittelkow M.R. Skin involvement in systemic autoimmune diseases. *Curr. Dir. Autoimmun.* 2008; 10 (3): 44–58.
15. Скрипкин Ю.К., Лезвинская Е.М. Кожа — орган иммунной системы. *Вестн. дерматол. и венерол.* 1989; 10: 14–18.
16. Mari B., Checler F., Ponzio G., Peyron J.F., Manie S., Farahifar D., Rossi B., Auberger P. Jurkat T cells express a functional neutral endopeptidase activity (CALLA) involved in T cell activation. *EMBO J.* 1992; 11 (11): 3875–3885.
17. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Пер. с англ. Под ред. Н.Е. Бузикашвили, Д.В. Самойлова. М.: Практика. 1999. 200 с.
18. Ветров Я.Я., Иванова Л.В., Крейле И.Э. Цитокины. *Гематология и трансфузиология.* 2000; 4: 46–49.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Исмаилов Рашид Гидаят оглы, кандидат медицинских наук, главный врач Городского кожного венерологического диспансера г. Баку Минздрава Азербайджанской Республики
Адрес: AZE-1005, Баку, ул. Толстого, д. 135, **тел.:** (99412) 594-35-34, **e-mail:** tengiz2005.60@mail.ru

И.М. Мадаева¹, Л.И. Колесникова¹, Н.В. Протопопова^{1,2}, Н.Л. Сахьянова², О.Н. Бердина¹

¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск, Российская Федерация

² Областной перинатальный центр, Иркутск, Российская Федерация

Особенности паттерна сна при беременности

Цель исследования: оценить качественные и количественные характеристики сна у беременных в III триместре физиологической беременности посредством полисомнографического мониторинга. **Материалы и методы:** проведено анкетирование 400 женщин (средний возраст $27,5 \pm 8,2$ года), находившихся в III триместре беременности. Анкетирование выполнено с помощью нескольких опросников: шкалы PSQI (Pittsburgh Sleep Quality Index — Питтсбургский опросник оценки качества сна), опросника EDS (Epworth Sleepiness Scale — опросник сонливости Эпворта) и скринингового анкетирования по разработанной А.М. Вейном и Т.С. Елигулашвили в 1998 г. анкете, основанной на частоте встречаемости основных проявлений синдрома обструктивного апноэ во сне. **Результаты:** установлено, что 78% женщин предъявили жалобы на нарушения сна, а именно: обструктивные нарушения дыхания во сне, инсомнию, синдром «беспокойных ног», а также их сочетания. Частота нарушений сна увеличивается по мере развития беременности. Частота обструктивных нарушений дыхания во сне увеличивается с 10,1% в I триместре до 31,7% в III, инсомнические расстройства — с 14,3 до 37,6%, соответственно. При нарушениях сна у беременных резко возрастает период засыпания (с 14,3 до 44,9 мин) и уменьшается продолжительность ночного сна (с 8,7 до 7,8 ч). **Выводы:** высокая частота встречаемости нарушений сна во время беременности требует проведения на ранних этапах патогенетической профилактики патологических состояний не только у матери, но и у плода.

Ключевые слова: беременность, нарушения сна, анкетирование, обструктивные нарушения дыхания во время сна, инсомнии. (Вестник РАМН. 2014; 1–2: 93–97)

93

Введение

Беременность «предъявляет» организму женщины большие требования [1–7]. У практически здоровых женщин при нормально протекающей беременности увеличивается число психастенических, неврастенических и вегетососудистых изменений [8]. Физиологические и биохимические особенности, возникающие при беременности, не могут не отражаться и не затрагивать столь важную жизненную составляющую, как сон. В литературе встречается достаточное количество данных, касающихся исследований сна во время беременности [9–17]. Однако описанные изменения во время сна являются неполными и в некотором роде противоречивыми. В российской акушерско-гинекологической практике до настоящего времени проблема сна у беременных не изучалась.

Цель исследования: оценить качественные и количественные характеристики сна у беременных в III триместре физиологической беременности посредством поли-

сомнографического (ПСГ) мониторинга.

Материалы и методы

Участники исследования

Проведено анкетирование 400 женщин (средний возраст $27,5 \pm 8,2$ года), находившихся в III триместре беременности.

Методы исследования

Анкетирование проведено с помощью нескольких опросников.

- Шкала PSQI — Pittsburgh Sleep Quality Index (Питтсбургский опросник оценки качества сна) [12, 18]. Градация шкалы — от 0 до 3 с максимальным баллом 21, который позволяет трактовать данные изменения как выраженные. Чувствительность данного

I.M. Madaeva¹, L.I. Kolesnikova¹, N.V. Protopopova^{1,2}, N.L. Sahianova², O.N. Berdina¹

¹ Scientific Centre of Family Health Problems and Human Reproduction, Irkutsk, Russian Federation

² Irkutsk Perinatal Centre, Russian Federation

Features of the Sleep Pattern During Pregnancy

Aim: to evaluate the qualitative characteristics of a sleep in pregnant women in the 3rd term of the physiological pregnancy by a questionnaire survey. **Materials and methods:** we have demonstrated questionnaire survey data of 400 pregnant women (mean age $27,5 \pm 8,2$ years) in the 3rd term of pregnancy. Questioning conducted using the scale PSQI (PITTSBURGH SLEEP QUALITY INDEX — Pittsburgh Sleep Quality Assessment Questionnaire), EPWORTH SLEEPINESS SCALE (sleepiness questionnaire Epworth's) and screening questionnaire to identify obstructive sleep apnea. **Results:** we have determined that 78% of pregnant women to complain about sleep disorders, namely obstructive sleep disordered breathing, insomnia, «restless legs» syndrome, and combinations thereof. The frequency of sleep disorders increases as pregnancy progresses. Obstructive sleep disordered breathing increases with 10,12% in the 1st term to 31,7% in the 3rd term, insomnia — from 14,3% in the 1st term to 37,6% in the 3rd term. In pregnancy increases of sleep latency (from 14,3 to 44,9 minutes), and reduced the duration of a sleep (from 8,7 to 7,8 hours). **Conclusions:** high frequency of sleep disorders in pregnancy requires early pathogenetic prevention of pathological conditions, both in the mother and in the fetus. **Key words:** pregnancy, sleep disorders, questionnaire, obstructive sleep disordered breathing, insomnia.

(Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk — Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2014; 1–2: 93–97)

Таблица 1. Основные нарушения сна у беременных и их сочетание

Нарушения сна	Беременные с нарушениями сна	
	Абс.	%
Инсомния	68	21,79
ОНДС	36	11,54
СБН	6	1,92
ОНДС + инсомния	58	18,59
Инсомния + СБН	74	23,72
ОНДС + СБН	6	1,92
ОНДС + инсомния + СБН	64	20,51
Всего:	312	100

Примечание. ОНДС — обструктивные нарушения дыхания во сне, СБН — синдром «беспокойных ног».

метода составляет 89,6%, специфичность — 86,5%. В литературе встречается описание данной методики при ее использовании для оценки качества сна у беременных.

- Опросник EDS — Epworth Sleepiness Scale (опросник сонливости Эпворта). Возможный ранг оценки варьирует от 0 до 24 баллов. Норма — 0–3 балла, инсомния — 3–9 баллов, синдром обструктивного апноэ сна (СОАС) — 9–16 баллов, нарколепсия — 16–24 балла.
- Скрининговое анкетирование по разработанной А.М. Вейном и Т.С. Елигулашвили в 1998 г. анкете, основанной на частоте встречаемости основных проявлений синдрома комплекса СОАС. При суммировании баллов от 4 и более имеются клинические проявления апноэ сна (вероятность 96%).
- Индивидуальная карта беременной, в которой оцениваются клинические и социальные данные ведения беременности.

Полисомнографический мониторинг проводили в специально оборудованной комнате, максимально приближенной к домашним условиям, с использованием системы GRASS-TELEFACTOR Twin PSG (Comet) с усилителем As 40 с интегрированным модулем для сна SPM-1 (США). Обязательным условием исследования было подписание участницами информированного согласия (в соответствии с Хельсинкской Декларацией, 2000, 2002).

Статистическая обработка данных

Статистическую обработку полученных результатов производили на персональном компьютере серии IBM с использованием программ Microsoft Office Excel 7.0 и пакета программ STATISTICA for Windows v. 6.1 (Statsoft Inc., США).

Для оценки достоверности различий количественных нормально распределенных показателей применяли параметрические t-критерий Стьюдента и F-критерий Фишера. Для ненормально распределенных показателей использовали непараметрический U-критерий Манна–Уитни. Для качественных показателей — критерии χ^2 Пирсона, максимум правдоподобия, критерий Макнемара с поправкой Йетса, двойной точный метод Фишера. Количественные показатели представлены средними, дисперсиями, медианами с указанием 95% доверительного интервала. Различия сравниваемых результатов считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Также проводили специальный углубленный анализ с применением методов многомерной математической статистики, осуществляя выбор наиболее значимых и информативных показателей.

Результаты

По нашим данным, распространенность нарушений сна среди беременных была достаточно велика и составила 78% ($n = 312$); соответственно, лишь 22% ($n = 88$) опрошенных отметили отсутствие проблем со сном. Нарушения сна были представлены в виде клинических проявлений трех патологических состояний: обструктивные нарушения дыхания во сне (ОНДС), инсомния, синдром «беспокойных ног» (СБН) и их сочетания (табл. 1).

По результатам анкетирования было выяснено, что инсомнией страдали 66,5% ($n = 266$) обследуемых беременных, до беременности инсомния отмечалась у 20,3% ($n = 54$) женщин. По мере течения беременности увеличилось число женщин с инсомническими расстройствами: в I триместре их регистрировали у 14,3% ($n = 38$) беременных, во II — у 27,8% ($n = 74$), в III — у 37,6% ($n = 100$). Следует отметить, что у 20,3% ($n = 54$) обследуемых женщин инсомнические расстройства имели место до беременности и впоследствии сохранялись на всем протяжении беременности до момента родоразрешения.

Вне зависимости от того, с какого срока беременности присоединялись клинические проявления ОНДС, они сохранялись на протяжении всего ее периода до момента родоразрешения. Нами проведено ПСГ-исследование беременных с клиническими проявлениями ОНДС. Результаты представлены в табл. 2.

При анализе полученных данных особое внимание обращали на наиболее информативные показатели: продолжительность поверхностного (I–II стадии) и медленного, или глубокого сна (III–IV стадии), продолжительность фазы быстрого сна, оценивали электроэнцефалографическую (индекс реакций ЭЭГ-активаций) и респираторную активность, наличие храпа и его интенсивность (индекс храпа), а также процентное насыщение крови кислородом (SaO_2) во время ночного сна.

При сравнительном анализе структуры сна были установлены значительные изменения по сравнению с группой контроля, представленные на гипнограмме (рис. 1).

Паттерн дыхания характеризовался высоким индексом апноэ / гипопноэ, что сопровождалось снижением насыщения крови кислородом (SaO_2). Таким образом, проведенное ПСГ-исследование подтвердило наличие ОНДС, клинические проявления которых были оценены при анкетировании. Фрагменты ПСГ-записи представлены на рис. 2.

Обсуждение

По данным некоторых авторов, на нарушения дыхания во время сна жалуются от 11,5 до 85% беременных [19, 20], однако имеющиеся в литературе данные достаточно противоречивы. Так, при ПСГ-исследовании беременных рядом исследователей показано, что при нормально протекающей беременности синдром апноэ во сне практически не регистрируется [20]. Повидимому, это связано с тем, что во время беременности продукция прогестерона значительно повышается. Как известно, прогестерон улучшает альвеолярную вентиляцию, не увеличивая частоту дыхания. Его уровень на 36-й нед беременности в 10 раз превышает таковой на пике менструального цикла [21]. Проведенное нами ранее полисомнографическое исследование у беременных

Таблица 2. Структура и основные характеристики ночного сна по данным полисомнографического мониторинга, Ме (25; 75), min-max

Показатель	Основная группа — беременные с клиническими проявлениями обструктивных нарушений дыхания во сне (n =23)	Контрольная группа беременные без нарушений сна (n =19)
I–II стадии, мин	227,5 (205; 267)* 180–306	145,4 (141; 153) 138–156
III–IV стадии, мин	73,5 (68,5; 82)* 59,5–97	114 (105; 121) 99–130
ФБС (фаза быстрого сна), мин	15,9 (14; 18,5) 13,2–20,5	57 (55; 60)* 50,5–80,5
Латенция ко сну, мин	8,5 (5,9; 10,2)* 5,0–14,5	15,9 (14; 18,5) 13,2–20,5
WASO, мин (время бодрствования в течение ночи после пробуждений)	13,7 (11; 15,2)* 7,2–20,4	5,2 (1,9; 8,5) 0,5–10,5
Реакции ЭЭГ-активаций, событий/ч	45 (37,2; 51)* 30–72	21,1 (19,3; 23) 18–25,2
ИАГ (индекс апноэ / гипопноэ), событий/ч	18 (12,8; 24)* 9,9–30	1,8 (1,2; 2,3) 0,9–2,7
Индекс храпа, событий/ч	65 (41; 87,9) 38–112	–
Average SaO ₂ , %	90 (89; 91)* 86–93	96,4 (95,4; 97,3) 94–98,2

Примечание. * — $p < 0,05$ относительно контроля.

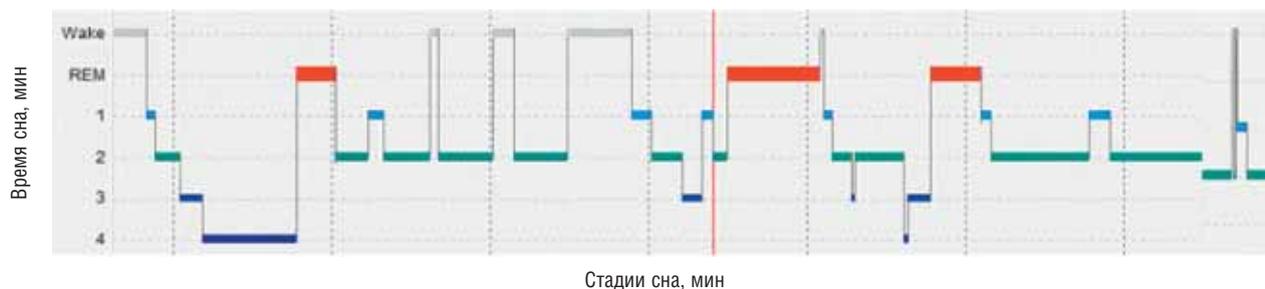


Рис. 1. Пример гипнограммы сна беременной с обструктивными нарушениями дыхания во время сна в III триместре с избыточной фрагментацией и грубым нарушением структуры сна.

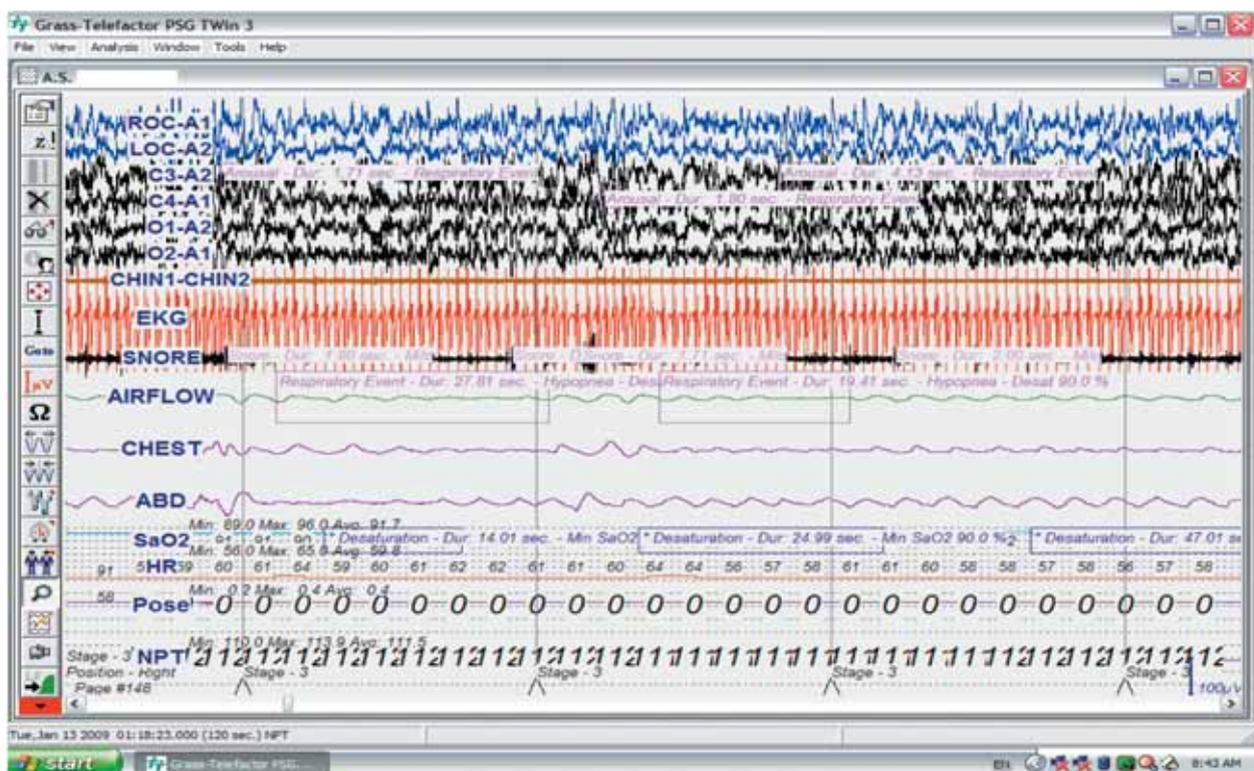


Рис. 2. Фрагмент двухминутной записи полисомнографического мониторинга беременной А.С. в возрасте 27 лет с клиническими проявлениями обструктивных нарушений дыхания во время сна.

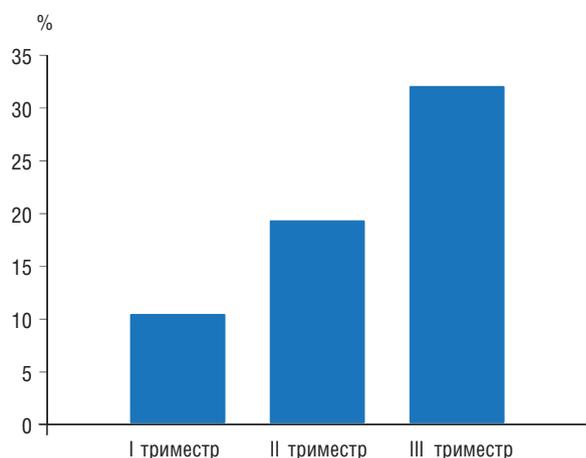


Рис. 3. Распределение беременных по сроку возникновения обструктивных нарушений дыхания во время сна по результатам анкетирования.

96

с артериальной гипертензией и ожирением продемонстрировало выраженную фрагментацию сна и нарушения паттерна дыхания [22]. По данным К.А. Franclin и соавт. [23], синдром апноэ во сне обнаруживают у 23% беременных, имеющих в анамнезе хронические обструктивные заболевания легких, что также подтверждено данными V. Chakradhar [24]. Несколько ранее С. Guilleminault и соавт. изучали взаимосвязь между факторами риска развития преэклампсии и СОАС [25]. Полученные нами данные не противоречат результатам ранее проведенных работ: клинические проявления ОНДС в нашем исследовании имели место у каждой третьей беременной. Так, с I триместра они были диагностированы у 10,12% ($n = 16$) беременных, со II — у 18,98% ($n = 30$), с III — у 31,7% ($n = 50$) (рис. 3).

Исследование взаимосвязи СОАС и преэклампсии не теряет своей актуальности, а возможность применения СИПАП-терапии (режим искусственной вентиляции легких постоянным положительным давлением) широко обсуждается и дискутируется [26].

У данной когорты беременных отмечены нарушения цикличности и грубая фрагментация сна. Следует отметить, что, по мнению Г.В. Коврова и соавт. [27], фрагментированный сон, продолжающийся в течение длительного времени, вызывает патологию регуляционных механизмов, что, в свою очередь, существенно снижает адаптивные возможности организма

и приводит к развитию различных патологических состояний.

Изменения длительности сна с тенденцией к уменьшению к III триместру беременности были отмечены в работах К.А. Lee и соавт. [28]. Этот факт физиологического снижения длительности сна вполне объясним определенными изменениями, происходящими в центральной нервной системе. Так, в начальные сроки беременности отмечены повышение возбудимости коры больших полушарий и активация ретикулярных структур среднего мозга. По мере течения беременности возбудимость коры мозга снижается, повышается активность синхронизирующих подкорковых структур [29]. Таким образом, нами установлена грубая фрагментация сна с характерной частотой переходов из одной стадии в другую, при сохранной длительности общего времени сна и достаточной продолжительности фазы быстрого сна у беременных с клиническими проявлениями ОНДС.

Заключение

Установленные у беременных посредством анкетирования нарушения сна представлены тремя патологическими состояниями: ОНДС во время сна, инсомнией и СБН, а также их сочетаниями, и встречаются у 78% женщин.

Частота встречаемости нарушений сна повышается по мере развития беременности. Частота ОНДС увеличивается с 10,12% в I триместре до 31,7% в III, инсомнические расстройства — с 14,3 до 37,6%, соответственно. При нарушениях сна у беременных резко возрастает период засыпания (с 14,3 до 44,9 мин), и уменьшается продолжительность ночного сна (с 8,7 до 7,8 ч).

Высокая частота нарушений сна во время беременности, главным образом ОНДС, приводящих к гипоксии матери и плода, которая оказывает неблагоприятное влияние на течение беременности и исходы родов, требует поиска новых путей ранней диагностики и профилактики акушерских осложнений. Мультидисциплинарность подхода новой дисциплины в медицине — медицины сна — дает возможность по-иному взглянуть на некоторые патогенетические звенья формирования патологических состояний у беременных, что позволит на ранних этапах проводить патогенетическую профилактику данных состояний не только у матери, но и у плода.

ЛИТЕРАТУРА

- Milner C.E., Cote A. Benefits of napping in healthy adults: impact of nap length, time of day, age, and experience with napping. *J. Sleep Res.* 2009; 18: 272–281.
- Айламазян Э.К. Акушерство: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа. 2007. 521 с.
- Chang J.J., Pien G.W., Duntley S.P., Macones G.A. Sleep deprivation during pregnancy and maternal and fetal outcomes: Is there a relationship? *Sleep Med. Rev.* 2010; 14 (2): 107–114.
- Williams M.A., Miller R.S., Qiu C., Cripe S.M., Gelaye B., Enquobahrie D. Associations of early pregnancy sleep duration with trimester-specific blood pressures and hypertensive disorders in pregnancy. *SLEEP.* 2010; 33 (10): 1363–1371.
- Протопопова Н.В., Колесникова Л.И., Ильин В.П. Метаболизм и гемодинамика у беременных с артериальной гипертензией. *Новосибирск: Наука.* 2000. 260 с.
- Tsai S.Y., Lin J.W., Kuo L.T., Thomas K.A. Daily sleep and fatigue characteristics in nulliparous women during the third trimester of pregnancy. *SLEEP.* 2012; 35 (2): 257–262.
- Колесников С.И., Иванов В.В., Семенюк В.В., Колесникова Л.И. Беременность и токсиканты. *Новосибирск: Наука.* 1986. 159 с.
- Сидельникова В.М. Привычная потеря беременности. М.: Триада X. 2005. 304 с.
- Naud K., Ouellet A., Brown C., Pasquier J.C., Moutquin J.M. Is sleep disturbed in pregnancy? *J. Obstet. Gynaecol. Can.* 2010; 32: 28–34.
- Facco F.L., Grobman W.A., Kramer J., Ho K.H., Zee P.C. Self-reported short sleep duration and frequent snoring in pregnancy: impact on glucose metabolism. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 2010; 203 (142): 1–5.

11. Jomeen J., Martin C.R. Assessment and relationship of sleep quality to depression in early pregnancy. *J. Reprod. Infant. Psychol.* 2007; 25: 97–99.
12. Skouteris H., Wërtheim E.H., Germano C., Paxton S.J., Milgrom J. Assessing sleep during pregnancy: a study across two time points examining the Pittsburgh Sleep Quality Index and associations with depressive symptoms. *Women's Health Iss.* 2009; 19: 45–51.
13. Hall W.A., Hauck Y.L., Carty E.M., Hutton E.K., Fenwick J., Stoll K. Childbirth fear, anxiety, fatigue, and sleep deprivation in pregnant women. *J. Obstet. Gynecol. Neonat. Nurs.* 2009; 38: 567–576.
14. Chang J.J., Pien G.W., Duntley S.P., Macones G.A. Sleep deprivation during pregnancy and maternal and fetal outcomes: is there a relationship? *Sleep Med. Rev.* 2010; 14: 107–114.
15. Larson L. Pulmonary disease in pregnancy. Chapter I. In: Medical disorders in obstetrics practices. 5th edn. R.O. Powrie, Michael F., Gamman G. and W.P. (eds.). *Chichester: Blackwell Publishing Ltd.* 2010. P. 1–47.
16. Calaora-Tournadre D., Ragot S., Meurice J.C. Obstructive sleep apnea syndrome during pregnancy: prevalence of main symptoms and relationship with pregnancy induced-hypertension and intra-uterine growth retardation. *Rev. Med. Interne.* 2006; 27 (4): 291–295.
17. Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Нарушения сна в клинике внутренних болезней. *Бюлл. Вост.-Сиб. Научного Центра СО РАМН.* 2003; 2: 14–17.
18. Buysse D.J., Reynolds C.F., Monk T.H., Berman S.R., Kupfer D.J. The Pittsburgh Sleep Quality Index: A new instrument for psychiatric practice and research. *Psychiatry Res.* 1989; 28: 193–213.
19. Jomeen J., Martin C.R. Assessment and relationship of sleep quality to depression in early pregnancy. *J. Reprod. Infant. Psychol.* 2007; 25: 97–99.
20. Skouteris H., Wërtheim E.H., Germano C., Paxton S.J., Milgrom J. Assessing sleep during pregnancy: a study across two time points examining the Pittsburgh Sleep Quality Index and associations with depressive symptoms. *Women's Health Iss.* 2009; 19: 45–51.
21. Рензо Ж.-К. Современные аспекты невынашивания беременности. *Эффективн. тер. в акушерстве и гинекол.* 2009; 7: 67–69.
22. Колесникова Л.И., Мадаева И.М., Протопопова Н.В., Сахьянова Н.Л. Влияние нарушения сна на состояние плода у беременных женщин с артериальной гипертензией. *Акушерство и гинекология.* 2012; 5: 17–22.
23. Karl A. Franklin, MD, PhD, FCCP; Per Ake Holmgren, MD, PhD; Fredrik Jonsson, MD; Nils Poromaa, MD; Hans Stenlund, PhD; Eva Svanborg, MD, PhD. Snoring, pregnancy-induced hypertension, and growth retardation of the fetus. *Chest.* 2000; 117: 137–141.
24. Chakradhar V., Saiprakash B.V. Sleep-disordered breathing during pregnancy. *J. Am. Board. Fam. Med.* 2009; 22 (2): 158–168.
25. Christian Guilleminault, Luciana Palombini, Dalva Poyares, Shannon Takaoka, Nelly T.-L. Huynh, Yasser El-Sayed. Pre-eclampsia and nasal CPAP: part 1. Early intervention with nasal CPAP in pregnant women with risk-factors for pre-eclampsia: preliminary findings. *Sleep Med.* 2007; 9: 9–14.
26. Blyton D.M., Skilton M.R., Edwards N., Hennessy A., Celermajer D.S., Sullivan C.E. Treatment of sleep disordered breathing reverses low fetal activity levels in preeclampsia. *SLEEP.* 2013; 36 (1): 15–21.
27. Ковров Г.В., Посохов С.И. Сегментарная организация сна. *Журн. высш. нервн. деятельности.* 2002; 52 (5): 570–574.
28. Lee K.A., Zaffke M.E., Baratte-Beebe K.J. Restless legs syndrome and sleep disturbance during pregnancy: the role of folate and iron. *Women's Health Gen. Based Med.* 2001; 10 (4): 335–341.
29. Pien G.W. Schwab R.J. Sleep disorders during pregnancy. *SLEEP.* 2004; 27: 1405–1417.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Мадаева Ирина Михайловна, доктор медицинских наук, руководитель сомнологического центра Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: (3952) 20-76-36, e-mail: nightchild@mail.ru

Протопопова Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая лабораторией вспомогательных репродуктивных технологий Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, главный врач Иркутского областного перинатального центра

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: (3952) 20-76-36, e-mail: nightchild@mail.ru

Колесникова Любовь Ильинична, член-корреспондент РАМН, директор Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: (3952) 20-76-36, e-mail: nightchild@mail.ru

Сахьянова Наталья Лазаревна, кандидат медицинских наук, врач Иркутского областного перинатального центра

Адрес: 664003, Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16, тел.: (3952) 20-76-36, e-mail: nightchild@mail.ru



Сергей Минович Клименко

98

17 февраля 2014 г. исполнилось 85 лет со дня рождения и 58 лет научной и общественной деятельности заведующего лабораторией структуры и морфогенеза вирусов ФГБУ «Научно-исследовательский институт вирусологии им. Д.И. Ивановского» Минздрава России, академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Сергея Миновича Клименко.

Научная деятельность С.М. Клименко началась еще в стенах 2-го Московского медицинского института, куда он поступил в 1947 г., окончив московскую школу № 170. Будучи студентом на кафедре патологической физиологии, он выполнил исследование по изучению влияния длительного применения пенициллина на секреторную деятельность желудка. Это стало первой научной работой ученого. Доклад о повышении кислотности желудочного сока стал и его первым научным докладом на 2-й Всесоюзной конференции студенческих обществ (Москва, 1952). В 1953–1956 гг. С.М. Клименко — аспирант кафедры микробиологии 2-го МГМИ. Руководителем его кандидатской диссертации был академик В.Д. Тимаков.

После окончания аспирантуры в 1956 г. Сергей Минович поступил на работу в Институт вирусологии им. Д.И. Ивановского, в котором он работает по настоящее время. В 1970 г. успешно защитил докторскую диссертацию, а с 1987 по 2010 г., помимо заведывания лабораторией, руководил отделом молекулярной вирусологии и занимал должность заместителя директора Института по научной работе. В 1999 г. Сергею Миновичу с группой ученых Института была присуждена Государственная премия по науке и технике за исследования, посвященные арбовирусам.

Научные исследования С.М. Клименко посвящены ультраструктурным исследованиям различных патогенных для человека вирусов и анализу их репродукции в инфицированных клетках и тканях. Проведенные им исследования по проблемам структурной организации вирионов ряда арбовирусов, вирусов гриппа, парагриппа и иммунодефицита человека, а также бактериофагов и нуклеиновых кислот легли в основу нового направле-

ния, которое можно обозначить как «молекулярно-структурная характеристика вирионов».

Результаты этих исследований опубликованы в монографии «Арбовирусы и арбовирусные инфекции» (Д.К. Львов, С.М. Клименко, С.Я. Гайдамович, 1989) и в Атласе по вирусологии (Atlas de Virologia; Klimenko, Manykin, Raugoza), изданном в Мексике в 1999 г. Его работы публиковали такие журналы, как «Вопросы вирусологии», «Бюллетень экспериментальной биологии и медицины», а также престижные зарубежные журналы Virology и American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology.

С.М. Клименко является организатором лаборатории структуры и морфогенеза вирусов (1960–1970) и основоположником научной школы, которая более 50 лет активно работает в Российской Федерации, а некоторые ее представители — и за рубежом. Под руководством Сергея Миновича защищено 12 кандидатских и 3 докторские диссертации.

С.М. Клименко в 70–80-х гг. прошлого столетия работал в зарубежных лабораториях США и Франции, активно контактировал с ведущими иностранными специалистами — лауреатами Нобелевских премий У. Стенли, Д. Гайдушеком, Дж. Палладе, а также профессором В. Бернардом.

Сергей Минович — автор более 170 работ, нескольких патентов и монографий, он член редколлегии двух научных журналов (Вопросы вирусологии, Бюллетень экспериментальной биологии и медицины); долгое время являлся членом совета ВАК по эпидемиологии, микробиологии и вирусологии.

Сергей Минович Клименко — доброжелательный, внимательный и заботливый человек, пользующийся заслуженным авторитетом в научном мире и у сотрудников Института.

Многочисленные ученики, друзья и коллеги сердечно поздравляют глубокоуважаемого Сергея Миновича с юбилеем, желают ему крепкого здоровья, счастья, долгих лет активной жизни и новых творческих успехов на благо российской науки и здравоохранения.



Рахим Мусаевич Хаитов

Исполнилось 70 лет со дня рождения Рахима Мусаевича Хаитова — академика РАН и РАМН, члена-корреспондента РАМН, доктора медицинских наук, профессора, заслуженного деятеля науки Российской Федерации, директора ФГБУ «ГНЦ Институт иммунологии» ФМБА России, главного аллерголога-иммунолога Минздрава России, руководителя Секции фундаментальной медицины Отделения физиологии и фундаментальной медицины РАН.

Рахим Мусаевич родился в 1944 г. в Самарканде. В 1967 г. с отличием окончил Самаркандский медицинский институт, в стенах которого начал научную деятельность, еще будучи студентом 3-го курса. В 1968 г. защитил кандидатскую диссертацию, в 1972 г. — докторскую, которую подготовил в Москве в Институте биофизики МЗ СССР. В 1974 г. в отделе иммунологии Института биофизики организовал и возглавил лабораторию генетического контроля иммунного ответа.

Р.М. Хаитов стоял у истоков создания первого в нашей стране Института иммунологии Минздрава СССР, куда он перешел вместе с коллективом руководимой им лаборатории. С этого дня жизнь Рахима Мусаевича неразрывно связана с Институтом: в 1983 г. он был назначен заместителем директора по научной работе, а с 1988 г. по настоящее время занимает должность директора учреждения.

Р.М. Хаитов — известный иммунолог, внес значительный вклад в развитие фундаментальных и прикладных аспектов иммунологии, иммуногенетики и биотехнологии. Он является автором и соавтором более 600 научных работ, в т.ч. 20 монографий, руководств и учебников по иммунологии, 27 патентов и авторских свидетельств РФ, 3 международных патентов.

Областью профессиональных интересов Р.М. Хаитова являются биомедицинские проблемы фундаментальной и прикладной иммунологии, аллергологии и вакцинологии; иммуногенетика; вакцины и лекарства нового поколения, в т.ч. молекулярные; создание и разработка новых методов диагностики, профилактики и лечения аллергий, опухолевых и инфекционных заболеваний, включая ВИЧ/СПИД, гепатиты, грипп и др.

Р.М. Хаитов с соавторами сформулировал, экспериментально обосновал и внедрил в практику принцип создания высокоэффективных иммуногенов путем конъюгирования антигенов с иммуномодулирующими

полионами, которые оказывают прямое активирующее влияние на лимфоциты и фагоциты вследствие взаимодействия с клеточной мембраной. Разработанная противогриппозная вакцина Гриппол является одной из лучших в мире, ею успешно вакцинированы миллионы людей. Впервые разработана кандидатная вакцина против ВИЧ/СПИД со «встроенным» в ее молекулу иммуномодулятором, которая в настоящее время проходит клинические испытания.

Р.М. Хаитов ведет серьезную научно-организационную работу. Он председатель Ученого совета Института иммунологии и Диссертационного совета по защите докторских и кандидатских диссертаций по специальностям «Иммунология» и «Клиническая иммунология и аллергология», член секции Экспертного совета ВАК. С 1988 г. по настоящее время — главный редактор журналов «Иммунология», «Физиология и патология иммунной системы» и «Имунофармакогеномика». С 1995 г. он возглавляет Российскую ассоциацию аллергологов и иммунологов.

Р.М. Хаитов активно готовит научные и медицинские кадры. Им создана большая научная школа, под его руководством выполнены и защищены 69 кандидатских диссертаций, 38 его учеников стали докторами наук. Он заведует кафедрами клинической аллергологии и иммунологии Института повышения квалификации ФМБА России и факультета последипломного образования МГМСУ.

Выполняя обязанности главного аллерголога-иммунолога Минздрава России, Р.М. Хаитов значительное внимание уделяет совершенствованию аллергологической и иммунологической службы. По его инициативе специальность «Аллергология и иммунология» введена в номенклатуру врачебных и провизорских специальностей РФ, в различных регионах страны были созданы лаборатории и центры клинической иммунологии по оценке иммунного статуса населения, профилактике и борьбе со СПИДом. Важной частью организационной работы Р.М. Хаитова является постоянная забота об улучшении условий труда врачей аллергологов-иммунологов, а также повышении качества специализированной медицинской помощи населению.

Научные достижения и активная научно-организационная деятельность Р.М. Хаитова были отмечены премиями Ленинского комсомола в области науки и техники (1973), им. А.А. Богомольца (1979), премией РАН

им. И.И. Мечникова (1995), Государственной премией РФ в области науки и техники за работу «Конъюгированные полимер-субъединичные иммуногены и вакцины» (2001), премиями Правительства РФ в области науки и техники «За разработку, внедрение в промышленное производство и клиническую практику нового типа иммунокорригирующих лекарственных препаратов пептидной природы: тактивина и миелопида» (1996) и учебник «Иммунология» (2004), Государственной премией в области науки и технологий «За выдающиеся достижения в научном и практическом развитии отечественной иммунологии» (2012).

Академик РАН и РАМН Р.М. Хаитов награжден орденом Трудового Красного Знамени, орденом Почета, орденом «За заслуги перед Отечеством» III и IV степени, а также рядом отраслевых наград.

Редакционная коллегия и редакционный совет журнала «Вестник РАМН», коллеги и друзья желают Рахиму Мусавичу Хаитову здоровья, бодрости, благополучия, творческих успехов и новых достижений в его фундаментальных и прикладных исследованиях, в научно-организационной деятельности.