



№1 (32) апрель 2010

КЛИНИКО - ЛАБОРАТОРНЫЙ КОНСИЛИУМ

НАУЧНО - ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

Главный редактор:

Эмануэль В. Л., д. м. н., проф.

Заместители главного редактора:

Зыбина Н. Н., д. б. н., проф.

Сухоруков В. С., д. м. н., проф.

Директор редакции:

Чередниченко Д. В., к. м. н.

Зав. редакцией:

Эмануэль Ю. В., к. м. н.

Редактор перевода:

Филиппова Н. А., к. м. н.

Адрес редакции:

**197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8**

Телефон редакции:

(812) 233 97 26

Эл. почта:

ejvcons@mail.ru

Журнал зарегистрирован

в Федеральной службе
по надзору в сфере связи,
информационных технологий
и массовых коммуникаций
(Роскомнадзор)

Свидетельство о регистрации:

ПИ №ФС77-38698 от 22.01.2010

Учредитель:

**ГОУ ВПО «СПб Государственный
медицинский университет
им. акад. И. П. Павлова
Федерального агентства
по здравоохранению
и социальному развитию»
(197022, Санкт-Петербург,
ул. Льва Толстого, д. 6/8)**

Оригинал-макет и верстка:

ООО «Издательско-
полиграфическая
компания «КОСТА»»,
тел. **(812) 445 10 02**

Отпечатано в типографии

ООО «ИПК БИОНТ»
199026, Санкт-Петербург,
Средний пр., д. 86

Тираж 1500 экз.

Заказ №

Современный этап развития системы здравоохранения характеризуется подчас разнонаправленными процессами. С одной стороны, становится доступным принципиально новый уровень медицинских технологий, позволяющих в практической плоскости реализовывать профилактическое направление. С другой стороны, возрастающая доля социально-значимых заболеваний, все еще выявляемых в стадии малой эффективности их лечения при высоких финансовых затратах, существенно снижает рентабельность системы здравоохранения в целом. Но еще большей проблемой становится кадровое обеспечение отрасли. Известно, что «качество медицинской помощи не может быть выше качества полученного образования» (ВОЗ). В данном контексте особенно актуальным является совершенствование системы непрерывного образования.

Последовательные усилия в области «интегративной медицины» во многом опираются на возможности информационно-ёмкого и высокотехнологического направления, именуемого в международном сообществе лабораторной медициной. Своевременная и качественная, основанная на междисциплинарном взаимодействии лабораторная диагностика формирует персонализированную медицину.

Редакция журнала продолжает поиск форм общения в формате «клинико-лабораторного консилиума». Представленные в этом номере материалы предназначены для широкого круга клинических специальностей. Информативность лабораторных исследований при ведении пациентов с различными формами поражения сердечно-сосудистой системы (статьи профессора В.И. Немцова, В.В. Велькова). Для знакомства с современными тенденциями развития биомедицинской информатики, позволяющей получать «новое знание» из подчас традиционных «баз данных», приводится материал члена редколлегии профессора В.А. Дюка и Д.А. Толстоногова. В материалах из авторитетного центра, каким является Российский государственный медицинский университет (кафедра профессора Р.Т. Тогузова), представлены данные по метаболитам, исследование которых информативно при актуальной, увы, проблеме наркомании. На этого «зверя» нужно идти не с «рогаткой», а с современным и, главное, доступным диагностическим «вооружением». Содружественной социальной проблемой является предикция суицидального поведения, аспекты которой освещены в материалах В.А. Розанова из Украины. Серию материалов, отражающих влияние на организм реалий экологии и распространённого образа жизни, дополняет работа группы авторов (профессоров В.Н. Марченко, В.И. Трофимова и др.), выполненная в СПбГМУ им. И. П. Павлова. Наконец, самостоятельный блок в материалах этого номера журнала традиционно посвящён разнообразным проблемам взаимодействия макро- и микроорганизмов.

Мы желаем успехов нашим читателям на поприще непрерывного образования.

Редакция

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

- | | |
|---|--|
| Антонова Ирина Николаевна,
СПб., Россия
заведующая кафедрой пропедевтики
стоматологических заболеваний,
директор
Научно-практического центра стоматологии | Сапрыгин Дмитрий Борисович,
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика |
| Афанасьев Борис Владимирович,
СПб., Россия
Гематология, трансфузиология, трансплантация | Сельков Сергей Алексеевич,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика |
| Вавилова Татьяна Владимировна,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика | Смирнов Алексей Владимирович,
СПб., Россия
Нефрология |
| Дюк Вячеслав Анатольевич,
СПб., Россия
Биомедицинская информатика | Соколовский Евгений Владиславович,
СПб., Россия
Дерматовенерология |
| Зыбина Наталия Николаевна,
СПб., Россия
(заместитель главного редактора)
Клиническая лабораторная диагностика | Стивен Хау Ян Вонг (Steven How Yan Wong)
ААСС, США
Клиническая лабораторная диагностика |
| Каллнер Андерс,
Швеция
Клиническая лабораторная диагностика | Сухоруков Владимир Сергеевич,
Москва, Россия
(заместитель главного редактора)
Клиническая лабораторная диагностика |
| Карпищенко Анатолий Иванович,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика | Тец Виктор Вениаминович,
СПб., Россия
Микробиология |
| Козлов Антон Владимирович,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика | Тогuzов Руслан Тимофеевич,
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика |
| Корячкин Виктор Анатольевич,
СПб., Россия
Анестезиология, реаниматология
и интенсивная терапия | Thomas BRINKMANN, Ass. Prof. Dr., EurClinChem
Corporate Representative at Executive Board
of International Federation of Clinical Chemistry
(IFCC), Milan, Italy |
| Мазуров Вадим Иванович,
СПб., Россия
Ревматология | Томас Бринкманн, доцент, доктор, EurClinChem
Корпоративный представитель исполнительного
комитета Международной федерации
клинической химии (IFCC),
Милан, Италия |
| Меньшиков Вадим Владимирович,
Москва, Россия
Клиническая лабораторная диагностика | Хоровская Лина Анатольевна,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика |
| Новик Виктор Иванович,
СПб., Россия
Клиническая лабораторная диагностика | Шляхто Евгений Владимирович,
СПб., Россия
Кардиология |
| Петришев Николай Николаевич,
СПб., Россия
Патологическая физиология | Эмануэль Владимир Леонидович,
СПб., Россия
(главный редактор)
Клиническая лабораторная диагностика |

ВСТУПИТЕЛЬНОЕ СЛОВО.....	1
РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ	2
ЛАБОРАТОРНЫЕ АСПЕКТЫ ИНТЕГРАТИВНОЙ МЕДИЦИНЫ	
<i>В.И. Немцов</i> НАРУШЕНИЯ СОСТАВА КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ	4
<i>В.В. Вельков</i> С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК И ЛИПОПРОТЕИН-АССОЦИИРОВАННАЯ ФОСФОЛИПАЗА А2: НОВЫЕ ФАКТЫ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И СТРАТИФИКАЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ РИСКОВ	13
<i>В.А. Дюк, Д.А. Толстоногов</i> ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ИНФОРМАЦИОННОГО СТРУКТУРНОГО РЕЗОНАНСА В ЗАДАЧАХ АНАЛИЗА ДАННЫХ ДНК-МИКРОЧИПОВ	19
<i>П.Б. Глазовский, И.С. Мамедов, Р.Т. Тогузов</i> ОСНОВНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ АДРЕНАЛИНА, НОРАДРЕНАЛИНА, ДОФАМИНА И СЕРОТОНИНА В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ НАРКОМАНИЙ	27
<i>В.А. Розанов</i> ПЕРСПЕКТИВЫ ПРЕДИКЦИИ СУИЦИДАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ ПОДРОСТКОВ	35
<i>В.Н. Марченко, В.И. Трофимов, В.А. Александрин, М.В. Максимов, И.Л. Можаяев, О.А. Франчук</i> ВЛИЯНИЕ КУРЕНИЯ НА НЕЙРОВЕГЕТАТИВНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ У ЗДОРОВЫХ ЛИЦ	41
ЛАБОРАТОРНАЯ ДИАГНОСТИКА В МИКРОБИОЛОГИИ	
<i>М.К. Бехтерева, И.Ю. Суворова, Н.В. Петрова, В.В. Иванова, Р.А. Насыров</i> СЛУЧАЙ ЛЕТАЛЬНОГО ИСХОДА ОТ ИЕРСИНИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ	46
<i>Е.А. Оришак, Л.Ю. Нилова, Е.Б. Авалуева, А.Г. Бойцов, С.Л. Ильинская</i> ИЗУЧЕНИЕ АДГЕЗИВНОСТИ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ДИСБИОЗОВ	49
<i>В.В. Базарный, В.А. Терских, Н.В. Гаренских, Н.С. Береснева</i> АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ У ДОНОРОВ	58
<i>А.В. Червинская, А.С. Кветная, Т.Б. Корженевская (литература)</i> ВЛИЯНИЕ СУХОГО ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО АЭРОЗОЛЯ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE, ПЕРСИСТИРУЮЩЕГО НА СЛИЗИСТОЙ ЛАРИНГОФАРИНГЕАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ, В ЭКСПЕРИМЕНТЕ	61
ИНФОРМАЦИЯ	63

НАРУШЕНИЯ СОСТАВА КИШЕЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ И МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ СИНДРОМ

В.И. НЕМЦОВ

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова» Росздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Проблема кишечного дисбиоза актуальна для всех возрастных групп. Многочисленные исследования показали роль этого состояния в прогрессировании сахарного диабета, атеросклероза, артериальной гипертензии, неалкогольного стеатогепатита и других состояний, ассоциированных с метаболическим синдромом. В статье обсуждаются патогенетические механизмы, лежащие в основе влияния дисбиоза на развитие перечисленных заболеваний, и рекомендации по лечению дисбиоза.

Ключевые слова: кишечный дисбиоз, сахарный диабет, метаболический синдром, лечение.

INTESTINAL MICROFLORA AND METABOLIC SYNDROME

V.I. NEMTSOV

State Educational Institution for Higher Professional Education "Saint-Petersburg State Pavlov
Medical University, Federal Agency for Health Care and Social Development"

Summary. The problem of intestinal disbiosis is important for all age groups. Numerous investigations proved its role in development and progression of diabetes mellitus, atherosclerosis, arterial hypertension, non-alcoholic steatohepatitis and some other diseases, associated with metabolic syndrome. Pathogenetic mechanisms underlying the influence of disbiosis on development of these diseases and the recommendation for treatment of patients with disbiosis are discussed.

Key words: intestinal disbiosis, diabetes mellitus, metabolic syndrome, treatment.

Проблема кишечного дисбиоза (дисбактериоза), а также функционального питания с получением организмом всех необходимых нутриентов в надлежащей форме в наше время актуальна во всех возрастных группах. В конце прошлого века выдающийся российский физиолог А.М. Уголев разработал основные положения новой междисциплинарной науки — трофологии (1980). Эта наука изучает процессы ассимиляции пищи и трофические взаимоотношения на всех уровнях организации биологических систем — от клетки до биосферы. Эту организацию можно представить в виде комбинации различных универсальных функциональных блоков, взаимодействующих с помощью регулирующих систем. Вследствие наличия сходного рецепторного аппарата во многих клетках различных органов одни и те же молекулы-лиганды, воздействуя на сходные рецепторы различных органов, вызывают разные реакции. Таким же универсальным действием на различные органы обладают и лекарства из-за идентичности рецепторно-функциональных ансамблей. В эту единую многоуровневую систему включаются и трофические связи. Исходя из представлений трофологии, нормальное питание обусловлено несколькими потоками не только нутритивных, но и регулирующих веществ, имеющих жизненно важное значение. К ним относятся, в частности, гормоны и пептиды пищеварительной системы, нутриенты и различные биологически активные вещества, синтезируемые кишечной микрофлорой, а также токсины, как содержащиеся в пище, так и образующиеся

в процессе жизнедеятельности кишечной микрофлоры. Надо также иметь в виду, что пищеварительная трубка является важным эндокринным органом, синтезируя и выделяя более 30 гормонов, причем кишечная микрофлора оказывает существенное влияние на функцию гормонообразующих клеток кишечника. Таким образом, исходя из концепции А.М. Уголева, процесс ассимиляции пищи из желудочно-кишечного тракта необходимо рассматривать не только как источник энергии и питательных веществ, но также как источник биологически активных и балластных веществ, поступающих и образующихся в кишечнике, — вторичных нутриентов, в частности, образуемых аутохтонной (индигенной) микрофлорой. Из этого становится понятно, что кишечная микрофлора является неотъемлемой составляющей пищеварительной цепи, и основной задачей лечения больных с дисбиозом является нормализация ее состава. На это должно быть направлено функциональное и при необходимости лечебное питание больных как с уже имеющимся дисбиозом кишечника, так и для профилактики его развития. В свете теории А.М. Уголева нельзя рассматривать проблемы оптимального питания только с позиции краткосрочного балансного подхода к суточному рациону, как равенства поступления и расхода питательных веществ. В соответствии с концепцией функционального питания процессы поступления необходимых разнообразных нутриентов в организм (а их в идеале должно быть около или даже более 20 000) и их распада, как явление сбалансированное, оцениваются

только при рассмотрении длительных временных интервалов, что позволяет учитывать особенности механизмов поддержания системного гомеостаза.

Термин «функциональное питание» был впервые предложен японскими авторами в 1989 году. Он предусматривает употребление продуктов естественного происхождения, оказывающих регулирующее воздействие на организм человека. По Б.А. Шендерову (1997; 1998; 2001) функциональное питание должно выполнять три основные функции: питательную функцию (то есть оказывать влияние на нутритивный статус человека), сенсорную функцию (то есть положительно влиять на различные рецепторы — обонятельные, вкусовые, зрительные и др.), регулирующую функцию (имеется в виду участие в регуляции процессов пищеварения функций иммунной, нервной, эндокринной и других систем организма). Сейчас следует считать, что понятие «функциональное питание» также включает рациональное использование пре- и пробиотиков, тесно связанное с проблемой кишечного дисбиоза.

Пищеварительная система человека — открытая экологическая система, находящаяся в состоянии динамического неустойчивого равновесия с окружающей средой. Взаимоотношения всех позвоночных животных с микроорганизмами, которые в норме существуют в некоторых органах (микробиота), — древнейший способ сосуществования макроорганизмов с микроорганизмами. Количество микроорганизмов в различных органах и тканях (биотопах) человека превышает 10^{15} , что в 100 раз больше общего количества клеток человеческого организма, а по весу составляет до 5 кг и некоторыми специалистами рассматривается как *самостоятельный орган*. 60% этого количества микроорганизмов населяет желудочно-кишечный тракт, 23–28% — ротоглотку и урогенитальный отдел (мочеполовую систему), остальная часть (12%) приходится на кожные покровы. В желудочно-кишечном тракте микроорганизмы живут на всем его протяжении. Их количество оценивается в колониеобразующих единицах (КОЕ), то есть коли-

чеством колоний, выросших на соответствующих питательных средах из единицы объема (или единицы веса) посеянного материала. Некоторые представители микрофлоры разных участков желудочно-кишечного тракта указаны в таблице 1.

Микрофлора желудочно-кишечного тракта содержит представителей по крайней мере 17 различных семейств бактерий, причем, как видно из таблицы 1, максимальное их количество обитает в толстой кишке. 90% микрофлоры толстой кишки — анаэробы (то есть такие микроорганизмы, которые наиболее комфортно себя чувствуют в отсутствии кислорода), общее число видов бактерий в кишечнике превышает, по данным разных специалистов, вероятно, 7000. В кишечнике содержится также не менее 1500 видов вирусов.

В настоящее время в клинической практике для диагностики дисбиоза кишечника наиболее распространен метод культивирования микрофлоры каловых масс с помощью традиционных микробиологических методик. Однако при этом определяется не более 5–10% микрофлоры, причем — просветной, а не наиболее важной пристеночной, которая находится в иммобилизованном состоянии, прикрепляясь к колоноцитам. Таким образом, истинный состав кишечной микрофлоры при использовании этих методик остается для клиницистов «черным ящиком». Хотя, конечно, ориентировочное представление о тех или иных изменениях состава микрофлоры, о появлении условно-патогенных микроорганизмов или о приобретении некоторыми видами индигенной микрофлоры нежелательных свойств эти методики дают.

Необходимым методом обследования также является копрограмма. Для дисбиоза с бродильной диспепсией типичен пенистый кашицеобразный кал с резко кислой реакцией, в кале при этом обычно обнаруживаются мышечные волокна и жирные кислоты, крахмал, переваренная и непереваренная клетчатка, иодофильная флора, а также большое количество органических кислот. Для дисбиоза с гнилостной диспепсией характерно

Таблица 1. Состав микрофлоры желудочно-кишечного тракта

ОТДЕЛ	КОЛИЧЕСТВО	ОСНОВНЫЕ ВИДЫ
Ротовая полость	10^9 КОЕ/мл слюны	Стрепто- и стафилококки, эубактерии, лактобациллы, фузобактерии, актиномцеты
Желудок	10^{2-5} КОЕ/мл желудочного сока	Лактобациллы, кокки, пилорический геликобактер, грибы
Верхние отделы тонкой кишки	10^{5-7} КОЕ/мл кишечного содержимого	Лактобациллы, кокки
Нижние отделы тонкой кишки	10^{8-9} КОЕ/мл кишечного содержимого	Лактобациллы, кокки, бифидобактерии, бактероиды
Толстая кишка	10^{11-12} КОЕ/г фекалий	Лактобациллы, энтерококки, бифидобактерии, бактероиды, эубактерии, кишечные палочки, клостридии, протей, грибы, фузобактерии

увеличение количества кала, часто — жидкого, с гнилостным запахом и щелочной реакцией. В кале много непереваренной клетчатки, крахмала, слизи, иодофильной флоры, а также резко увеличено количество аммиака. При биохимическом исследовании кала у больных с дисбиозом кишечника выявляется активность некоторых ферментов (щелочной фосфатазы, энтерокиназы), увеличивается количество фруктозы и лактозы (при развитии вторичной лактазной недостаточности — неспособности усваивать лактозу).

В последние годы для исследования кишечной микрофлоры используют также более сложные и дорогие методы: хромато-масс-спектроскопию микроорганизмов, определение метаболитов кишечной микрофлоры в кале (например, спектр короткоцепочечных жирных кислот) и в выдыхаемом воздухе (дыхательные тесты), типирование микрофлоры методом ПЦР. Применение метода газовой хроматографии выявляет изменения количества ароматических соединений в кале: фенола, крезола, скатола, индола, а также летучих жирных кислот (Ардатская М.Д. и соавт., 2001). В научных исследованиях основные данные о составе кишечной микрофлоры и ее свойствах сейчас получают с помощью различных молекулярных методик, в частности, секвенированием последовательностей 16s рРНК после амплификации нуклеиновых кислот, полученных из кала или биоптатов, методом ПЦР; применением молекулярных зондов для анализа ДНК с использованием ДНК-чипов, а также

флюоресцентной гибридизацией *in situ* и использованием генных чипов.

В кишечнике преобладает анаэробная микрофлора. Это связано с тем, что ее наибольшее количество, исходя из функциональной необходимости, сосредоточено вблизи кишечного эпителия. Микроорганизмы находятся, как уже отмечалось, в так называемом иммобилизационном состоянии, то есть в контакте с колоноцитами. При этом следует учесть, что в зоне, прилегающей к эпителию, создается отрицательный потенциал (от -50 до -220 милливольт) за счет работы натриевых насосов плазматической мембраны эпителиальных клеток, необходимых для нормального ионного обмена, и поэтому в этой зоне отсутствует кислород. Ближе к центру просвета кишки кислорода становится больше, и там существуют аэробные микроорганизмы, но общее их количество значительно меньше, чем анаэробной микрофлоры, поскольку основные обменные процессы происходят вблизи кишечной стенки, где кислорода почти нет.

Ориентировочные нормативные показатели микрофлоры кишечника, основанные на результатах исследований различных микробиологических лабораторий, представлены в таблице 2 (Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника..., 2003).

Эти цифры являются ориентировочными, их не следует абсолютизировать, и нужно иметь в виду, что состав определяемой этим анализом микрофлоры зависит от особенностей питания и может изменяться в опреде-

Таблица 2. Показатели нормальной микрофлоры кишечника

МИКРОФЛОРА	НОРМАЛЬНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ
Бифидобактерии	Не менее 10^{8-10}
Лактобациллы	Не менее 10^{7-10}
Бактероиды	Не менее 10^{9-11}
Кишечные палочки (эшерихии) с нормальными ферментативными свойствами	Не менее 10^7
Кишечные палочки со слабо выраженными ферментативными свойствами	Не более 10^{5-6}
Кишечные палочки лактозонегативные	Не более 10^4
Энтеробактерии условно-патогенные	Не более 10^4
Протей	Не более 10^3
Клебсиелла	Не более 10^3
Кишечные палочки с гемолизирующими свойствами	Не должны быть
Энтерококки	Не менее 10^{6-8}
Клостридии	Не более 10^{5-6}
Стафилококки (сапрофитные)	Не более 10^4
Стафилококки золотистые	Не должны быть, или не более 10^2
Грибы рода <i>Candida</i>	Менее 10^5
Коринебактерии	Не более 10^5
Бациллы	Не более 10^5

ленных границах, колеблясь на несколько логарифмов.

По характеру метаболизма кишечная микрофлора делится на две группы. Первая представлена протеолитическими видами — бактероиды, протей, кишечные палочки, клостридии и др. Многие виды протеолитической микрофлоры относятся к условно-патогенным, и в результате их метаболизма образуются токсические соединения (сульфиды, ароматические углеводороды и др.). Эти вещества могут вызвать воспаление, понос, а также являются канцерогенными. Вторая группа кишечной микрофлоры — сахаролитическая — бифидо- и лактофлора, некоторые кокки, пропионобактерии. Эти микроорганизмы используют в своем питании углеводные субстраты, и именно сахаролитическая флора, присутствующая в наибольшем количестве (бифидо- и лактобактерии), и продукты ее обмена полезны макроорганизму. Она влияет на различные функции организма и защищает от неблагоприятных воздействий условно-патогенной протеолитической микрофлоры (небольшое присутствие которой в организме также необходимо для реализации некоторых обменных процессов, а также для нормального роста сахаролитической флоры и «тренировки» иммунной системы).

Микрофлора кишечника играет очень важную роль в нормальном функционировании организма, и можно утверждать, что гнотобионты (то есть безмикробные биосистемы) полностью не жизнеспособны. Это было показано в соответствующих экспериментах на новорожденных мышках, у которых добивались полной стерильности в кишечнике.

К основным функциям нормальной кишечной микрофлоры относятся, в частности, защита от патогенных микроорганизмов благодаря формированию так называемой колонизационной резистентности — препятствия размножению патогенных микроорганизмов, участие в иммуногенезе и регуляции местного и общего иммунитета (Forchielli M., Walker W., 2005), в продукции короткоцепочечных (летучих) жирных кислот (уксусной, масляной, пропионовой, молочной и др.), необходимых для энергообеспечения, нормального роста и функционирования эпителия кишечника, в продукции и регуляции выделения биологически активных соединений — витаминов (К, В₁₂, В₂, фолиевой кислоты, биотина, пантотеновой кислоты), гормонов (норадреналина, стероидов), антибиотиков, нейротрансмиттеров и других сигнальных молекул (гистамина, серотонина, пиперидина, гамма-аминомасляной кислоты), антиоксидантов (глутатиона, витамина Е). Кишечная микрофлора также участвует в регуляции водно-солевого и ионного обмена, детоксикации экзо- и эндогенных метаболитов, в ферментации углеводов, а также в регуляции перистальтики кишечника и газового состава кишки (Azpiroz F., 2006; Bernalier-Donadille A., 2007). Кишечная микробиота принимает участие в энтерогепатической циркуляции желчных кислот и в тесно свя-

занных с этим процессах обмена жиров и углеводов (Суворов А.Н., Успенский Ю.П., 2007).

Уже одних перечисленных функций кишечной микробиоты, список которых далеко не полон, достаточно, чтобы доказать ее важность для нормального функционирования организма.

Нарушение нормального состава микробиоты приводит к дисбиозу.

При этом возможно сочетание следующих изменений нормального состава кишечной микрофлоры:

1) *изменяется нормальное соотношение анаэробы/аэробы и начинают преобладать аэробные микроорганизмы;*

2) *изменяются численность и состав микробных видов, и при этом обычно снижается количество «полезных» видов микроорганизмов (в частности, определенных видов бифидо- и лактобактерий) и появляются условно патогенные и даже патогенные виды микрофлоры;*

3) *изменяется метаболическая активность микробных видов.*

Все эти изменения могут стать причиной различных патологических состояний. Таким образом, дисбиоз (дисбактериоз) кишечника является бактериологическим понятием и его в настоящее время не считают отдельной самостоятельной нозологической формой, но определяют как состояние, которое может возникнуть по многим причинам и обладает системным действием на организм.

В наше время существует много причин развития дисбиоза:

1) *прием антибиотиков и других лекарств, влияющих на микробиоту;*

2) *нарушения питания (прежде всего, дефицит растительной клетчатки (пищевых волокон));*

3) *острые кишечные инфекции и хронические заболевания органов желудочно-кишечного тракта;*

4) *хронические заболевания других органов и систем в состоянии декомпенсации;*

5) *хронический стресс (важная и частая причина в наши дни!);*

6) *профессиональные вредности и интоксикации;*

7) *воздействие физических, химических и других вредных факторов окружающей среды (нарушенная экология — также частая ситуация в наше время!);*

8) *непривычные климатические факторы.*

Как видно из этого перечня, в процессе жизни многие из перечисленных причин, если не большинство, могут оказать вредное воздействие на кишечную микробиоту и явиться причиной развития дисбиоза у лиц разного возраста. Однако основы возникновения дисбиоза кишечника могут закладываться еще в период внутриутробного развития плода из-за различных болезней беременной, приема ею антибиотиков и ряда других моментов, способствующих формированию у нее дисбиоза. Это связано с тем, что первичная колонизация

кишечника у младенца начинается в родах и зависит от состава микрофлоры толстой кишки и влагалища матери. Дисбаланс микроэкологии у беременных женщин приводит к формированию контингентов лиц с врожденной сниженной резистентностью к колонизации кишечника потенциально патогенными микроорганизмами. Недостаток грудного молока и раннее прекращение грудного вскармливания также нарушают нормальное становление кишечной микрофлоры младенца. В материнском молоке содержатся так называемые «бифидогенные факторы», к которым относятся гликопротеины, входящие в состав казеина женского молока. Росту нормальной бифидофлоры в кишечнике младенца также способствует благоприятное соотношение в материнском молоке белка, фосфора и лактозы: низкое содержание первых двух компонентов и высокое — последнего. Такое соотношение обеспечивает сниженную буферность молока, что способствует росту бифидобактерий. При этом нормальная бифидофлора поддерживает оптимальную кислотность в кишечном просвете, выделяя уксусную и молочную кислоты, что препятствует размножению условно-патогенной и патогенной флоры (Булатова Е.М., Богданова Н.М., 2007). В течение последующих месяцев жизни и в связи с включением прикорма микрофлора кишечника ребенка постепенно полностью формируется и становится такой же, как и у взрослых (вероятно, к концу 1–2-го года жизни), хотя в процессе жизни возможны некоторые отклонения от ее первоначального состава, что связано с характером питания (и его изменениями со временем), сезонными факторами, профессиональной деятельностью и особенностями гигиены, а также с изменениями различных метаболических процессов в организме в разные возрастные периоды.

Формирование неполноценной кишечной микробиоты в раннем детстве обуславливает повышенный риск заболеваемости различными заболеваниями в последующей жизни. В целом же можно утверждать, что в нормальных условиях состав кишечной микрофлоры, хотя она и является динамичной функциональной системой, отличается определенной стабильностью на протяжении жизни макроорганизма. Любые влияния, отрицательно воздействующие на микрофлору кишечника в период ее становления, приводят к нарушению состава кишечной микробиоты. Дисбиоз кишечника может привести к развитию дисбиоза в других биотопах человека благодаря феномену транслокации — проникновению живых кишечных микроорганизмов (а также их фрагментов) в различные среды организма. Бактерии попадают в кровь через участки физиологической десквамации (то есть слущивания) эпителия, а также через межклеточные щели нормальной слизистой оболочки желудка и верхних отделов кишечника. Феномен проникновения бактерий и других высокомолекулярных структур сквозь кишечный барьер через межклеточные пространства впервые был описан Г. Гербстом еще

в 1843 году и назван персорпцией. Оба эти пути проникновения бактерий и биологически активных веществ не имеют нутритивного значения, но важны для макроорганизма с информационной точки зрения.

Бактерии попадают в кровь через 2–10 минут после попадания их в желудок. Количество микроорганизмов в циркулирующей крови незначительно, и это затрудняет их обнаружение. Процессы транслокации регулируются макроорганизмом и важны для бытовой иммунизации. При этом происходит контакт иммунокомпетентных клеток лимфоидной системы с антигенами различных бактерий, что в итоге играет защитную роль. Из нижних отделов толстого кишечника проникновения живых микроорганизмов в кровь или лимфу в норме, вероятно, не происходит. Нормальная кишечная микрофлора благодаря транслокации способна проникать во внутренние среды организма и кожу, в очаги инфекции и оказывать там лечебное действие из-за своих антагонистических свойств по отношению к условно-патогенной и патогенной микрофлоре. У больного с выраженным дисбиозом кишечника во внутренние среды организма может проникнуть уже условно-патогенная или патогенная флора и вызвать ухудшение течения хронических заболеваний вплоть до развития сепсиса при тяжелом дисбиозе (Никитенко В.И. и соавт., 2004). Феномен бактериальной транслокации впервые описан сравнительно недавно (R. Berg в США в 1985 году) и является, скорее всего, полезным физиологическим явлением, а не явлением патологическим, каким многие его считали до недавнего времени. Этот феномен присутствует не только у всех животных, но даже имеет определенные аналогии в растительном мире. У людей с выраженным дисбиозом, особенно в сочетании с повреждением защитного барьера на уровне кишечной стенки и лимфоидной ткани кишечника, проникновение кишечной микрофлоры (уже не только из желудка и тонкого кишечника, но также и из толстого кишечника!) во внутренние среды организма является, конечно, патологическим процессом.

Существуют различные классификации дисбиоза кишечника. По мере его прогрессирования изменяется нормальное соотношение анаэробов и аэробов в сторону увеличения количества аэробных бактерий. Существуют различные классификации кишечного дисбиоза, в частности, может быть предложено его деление на 4 стадии (Хавкин А.И., 2004):

1 стадия (латентная, компенсированная) — увеличение или уменьшение эшерихий (полезных для человека штаммов кишечной палочки), бифидо- и лактофлора не изменена, кишечной дисфункции нет.

2 стадия (субкомпенсированная) — незначительное снижение бифидобактерий, количественное и качественное изменение эшерихий, увеличение условно-патогенной флоры, могут быть признаки кишечной дисфункции.

3 стадия — значительное снижение бифидо- и лактофлоры, резкое изменение количества эшерихий, услов-

но-патогенная флора начинает проявлять агрессивные свойства, типична дисфункция кишечника.

4 стадия — бифидофлора отсутствует, лактофлора значительно снижена, возрастает количество не свойственных здоровому человеку видов условно-патогенной микрофлоры и усиливаются их патогенные свойства, помимо дисфункции кишечника, возникают деструктивные изменения кишечной стенки, бактеремия и сепсис.

В последние годы растет число больных с грибковыми дисбиозами, прежде всего — кандидозным, который часто встречается, в частности, у пожилых больных. Грибы рода *Candida* имеют повсеместное распространение и приспособились к существованию на коже и слизистых оболочках человека (Шевяков М.А., Авалуева Е.Б., 2007). Дрожжеподобные грибы относятся к непостоянной, или так называемой транзитной микрофлоре кишечника, но при этом частота обнаружения грибов рода *Candida* достигает 80% из-за того, что они: 1) устойчивы во внешней среде; 2) широко распространены в самых разных природных условиях; 3) часто встречаются в нормальных продуктах питания (например, в мороженом и творожных сырках — в 78%, в твороге — в 66%, в молоке — в 20% проб) (Реброва Р.Н., 1989). У здоровых людей общее количество дрожжеподобных грибов в кишечнике не должно превышать 10^{3-4} КОЕ/г. Важно подчеркнуть, что кандиды находятся в антагонистических взаимоотношениях с нормальной симбионтной микрофлорой (бифидо- и лактобактерии, полезные штаммы кишечной палочки), поэтому их избыточный рост угнетает рост нормальной микрофлоры, а также способствует возникновению непереносимости антибиотиков, развитию аллергических заболеваний и ухудшает течение различных хронических и острых болезней. При кандидозном дисбиозе количество кандид увеличено (превышает 10^4). При этом кандиды не образуют псевдомицелия, но могут активно размножаться и выделять токсины. Если кандиды образуют псевдомицелий и проникают в слизистую оболочку кишки, то тогда следует уже говорить о кандидозе, а не о грибковом дисбиозе. Кандидоз встречается при различных иммунодефицитных состояниях, как генетически детерминированных, так и приобретенных (СПИД, тяжелые истощающие хронические заболевания и инфекции, длительная терапия препаратами, подавляющими иммунную систему и др.). Грибковый кишечный дисбиоз развивается чаще и обычно бывает связан с различными заболеваниями внутренних органов, прежде всего, желудочно-кишечного тракта, а также возникает при длительном лечении антибиотиками.

Дисбиоз кишечника опасен не только тем, что снижается количество полезной кишечной микрофлоры и изменяются ее функциональные особенности, но также тем, что ее место занимает условно-патогенная флора, а при неблагоприятных обстоятельствах — даже патогенная. Негативное действие условно-патогенной микрофлоры заключается в следующем:

- 1) выступает в качестве источника инфекции (не только в кишечнике) — возможность развития гнойно-септических процессов разной локализации;
- 2) стимулирует образование медиаторов воспаления (в основном, благодаря синтезу протеолитических ферментов) — за счет увеличения проницаемости клеточных мембран, нарушения микроциркуляции, что ведет к снижению защитной барьерной функции слизистых оболочек различных органов;
- 3) участвует в обмене генетическим материалом, который часто интегрирован в так называемые «острова» патогенности, с маркерами лекарственной устойчивости, что вызывает формирование нечувствительных к антибиотикам микроорганизмов;
- 4) обладает мутагенным и канцерогенным действием (не только в кишечнике), что способствует развитию опухолей;
- 5) обладает сенсибилизирующим действием, то есть способствует развитию различных аллергических и аутоиммунных болезней и реакций.

Следует иметь в виду, что основной чертой кишечного дисбиоза является изменение количественных соотношений между нормальной резидентной микрофлорой и условно-патогенной флорой, а не появление принципиально иных видов бактерий. Когда концентрация условно-патогенной микрофлоры достигает критической, ее активность качественно изменяется, и она оказывает перечисленные выше патогенные действия.

Дисбиоз кишечника, даже на самой начальной своей стадии, ухудшает качество жизни и может иметь целый ряд симптомов. Следует иметь в виду, что дисфункция кишечника при дисбиозе далеко не всегда проявляется поносами. В первые стадии дисбиоза часто бывают запоры или чередование запоров с поносами. У пожилых больных дисбиоз вообще чаще проявляется запорами (68% больных), в отличие от молодых больных, у которых преобладает понос (до 80% больных). Для пожилых больных с дисбиозом типичны проявления кишечной диспепсии, такие как вздутие, чувство распирания в животе, повышенное газообразование. Аллергические проявления, связанные с дисбиозом, у пожилых больных встречаются реже, чем у молодых, — у 12% и 28% больных соответственно (Желнова Т.И., 1995). Если аллергические проявления возникают, они чаще бывают связаны с кандидозным дисбактериозом и проявляются кожным зудом. Часто он бывает локальным — волосистая часть головы, наружные слуховые проходы, анальная область, влажные места. У пожилых больных с дисбиозом чаще бывает плохая переносимость молока, что может быть связано с появлением в кишечнике большого количества лактозонегативных эшерихий, у них также чаще возникают симптомы полигиповитаминоза,

анемия (железодефицитная и/или V_{12} -дефицитная). Типично развитие гипокальциемии, которая вначале проявляется онемением губ, кистей рук и стоп, а позже приводит к более быстрому развитию остеопороза. Чаше, чем у молодых больных, возникают психоневрологические нарушения, вплоть до выраженных ипохондрического и депрессивного состояний.

Даже первая (латентная или субклиническая) стадии дисбиоза кишечника без всяких «кишечных» симптомов оказывает влияние на состояние макроорганизма, оказывая неблагоприятное действие на течение многих заболеваний или даже вызывая некоторые из них.

Определенную роль, как сейчас становится ясным, кишечный дисбиоз играет в патогенезе нарушений углеводного и липидного обмена, в основе которых лежит формирование метаболического синдрома. Нормальный обмен холестерина поддерживается энтерогепатической циркуляцией желчных кислот. При этом первичные желчные кислоты, которые синтезируются в печени из холестерина, секретируются в желчь в составе конъюгатов с глицином и таурином. В тонкой кишке под воздействием пищеварительных ферментов первичные желчные кислоты подвергаются деконъюгации, и образующиеся при этом соли желчных кислот участвуют в образовании мицелл, необходимых для всасывания жиров. После всасывания жиров желчные кислоты остаются в полости кишки и затем абсорбируются в кровь (до 90% выделившихся с желчью кислот) и вновь попадают в печень через воротную вену и потом включаются в состав желчи. Остальные 10% желчных кислот выводятся из организма. Эта потеря компенсируется синтезом новых первичных желчных кислот в гепатоцитах из холестерина. При кишечном дисбиозе с избыточным ростом микрофлоры в тонкой кишке происходит повышенная деконъюгация связанных желчных кислот и образуются токсичные их соли, которые нарушают микроциркуляцию в стенке кишки и увеличивают всасывание желчных кислот практически до 100% (Петухов В.А., 2007). При этом снижается синтез желчных кислот в гепатоцитах (поскольку обратно всасывается почти 100% желчных кислот!) и увеличивается концентрация холестерина в крови, так как он меньше используется для синтеза желчных кислот печенью — возникает дислипидемия. Помимо этого, у больных с дисбиозом в кровь поступает повышенное количество эндотоксина грамотрицательной микрофлоры, для связывания которого используются антиатерогенные липопротеиды высокой плотности. Высокий уровень эндотоксинемии приводит к депрессии ретикулоэндотелиальной системы печени и гепатоцитов, активации перекисного окисления липидов и к окислительному стрессу. Развивается состояние, которое В.С. Савельев назвал «липидным дистресс-синдромом». При этом из-за почти 100% всасывания желчных кислот в тонкой кишке резко уменьшается их поступление в толстый кишечник, что приво-

дит к различным дисметаболическим нарушениям, в частности, к снижению микробной трансформации холестерина в стероидные гормоны. Бактериальный эндотоксин также вызывает депрессию ретикуло-эндотелиальной системы (РЭС) печени, которая с помощью scavenger-рецепторов своих клеток удаляет из кровотока гликозилированные продукты метаболизма у больных сахарным диабетом, в том числе — гликозилированные формы липопротеинов низкой плотности. Нарушение этой функции при депрессии РЭС, таким образом, способствует прогрессированию нарушений липидного обмена. Помимо этих нарушений, в результате дисбиоза в толстой кишке снижается синтез сахаролитической микрофлорой летучих жирных кислот, несущих многообразные функции в регуляции не только электролитного, водно-солевого и кислотно-щелочного обмена и необходимых для нормального функционирования кишечного эпителия, но также участвующих в углеводном обмене макроорганизма. Так, например, пропионовая кислота является индуктором синтеза инсулина, а также субстратом глюконеогенеза. Изовалериановая и изокaproновая кислоты также индуцируют секрецию инсулина (Успенский Ю.П., 2007). Некоторые виды лактобацилл и кишечной палочки синтезируют инсулиноподобные субстанции, попадающие в кровоток. При снижении нормальной индигенной микрофлоры этот процесс также нарушается. Помимо этого, кишечные эндотоксины способны влиять на состояние рецепторного аппарата клеток, в частности, жировой ткани, способствуя развитию инсулинорезистентности, что приводит к гиперинсулинизму, стоящему в начале развития метаболического синдрома. Бактериальный эндотоксин стимулирует также синтез провоспалительных цитокинов, в частности — фактора некроза опухоли (ФНО-альфа), который изменяет чувствительность клеточных рецепторов инсулина (в жировой ткани, печени, мышцах, надпочечниках), что потенцирует инсулинорезистентность (Белоусова Л.Н., Лынявина В.М., 2007). Сам по себе окислительный стресс также влияет на функцию рецепторного аппарата и в свою очередь потенцирует инсулинорезистентность. Хроническая гиперинсулинемия вызывает активацию симпатно-адреналовой системы и системы «ренин-ангиотензин-альдостерон», что может способствовать задержке натрия и жидкости в организме и возникновению артериальной гипертензии и ремоделированию сердечно-сосудистой системы из-за стимуляции инсулином выделения различных факторов роста. Ремоделирование сосудов само по себе нарушает трансэпителиальный транспорт инсулина и еще больше усиливает инсулинорезистентность — происходит замыкание «порочного круга» в развитии и прогрессировании метаболического синдрома и всей группы заболеваний и состояний, входящих в понятие «сердечно-сосудистого континуума» (Успенский Ю.П., 2004). Кишечный дисбактериоз играет определенную роль на всех этих этапах.

Таким образом, кишечный дисбиоз (дисбактериоз) неблагоприятно влияет на течение сахарного диабета, а также на прогрессирование атеросклеротического процесса, ожирения, артериальной гипертензии. В тесной связи с этими заболеваниями находятся также стеатоз печени и так называемый неалкогольный стеатогепатит (НАСТГ), в генезе которого играет роль не только сахарный диабет как таковой, но также дисбиоз кишечника. У больных сахарным диабетом и дисбиозом кишечника НАСТГ имеет двойное происхождение — метаболический синдром вызывает стеатоз печени и первичный НАСТГ. Это связано прежде всего с тем, что обычно имеющееся у больных сахарным диабетом 2 типа висцеральное ожирение сопровождается избыточным поступлением в печень свободных жирных кислот с формированием стеатоза печени. Свободные жирные кислоты и кетоны индуцируют активность некоторых компонентов системы цитохрома P 450, в частности, CYP2E1 и CYP4A, которые окисляют избыток жирных кислот с образованием свободных радикалов, что в итоге приводит к окислительному стрессу, активации воспаления и развитию фиброза за счет стимуляции звездчатых клеток. Одним из наиболее важных провоспалительных цитокинов, которые выделяются активированными клетками Купфера, является ФНО-альфа, который, как уже было указано, потенцирует инсулинорезистентность. В свою очередь, дисбиоз кишечника способствует появлению условно называемого «вторичным» НАСТГ, в развитии которого основную роль играет окислительный стресс, вызванный, в частности, бактериальным эндотоксином, который также стимулирует выделение ФНО-альфа. Обнаружена корреляция между избыточным ростом бактерий в тонкой кишке, как одной из составных частей кишечного дисбиоза, и степенью выраженности морфологических изменений в печени (Федосьина Е.А. и соавт., 2009).

В связи с тем, что кишечный дисбиоз той или иной степени выраженности встречается у большинства больных сахарным диабетом, следует учитывать это при назначении лечения и обязательно использовать в комплексной терапии пре-, про-, син- и симбиотики. При значительном избыточном росте какого-либо условно-патогенного или патогенного возбудителя может возникнуть необходимость в проведении так называемой селективной деконтаминации, то есть избирательного уничтожения данного патогенного вида. С этой целью некоторые авторы рекомендуют различные бактериофаги — своеобразные вирусы бактерий, способные избирательно уничтожить патогенный вид бактерий (Иванов А.В., 2000). Все бактериофаги — это разнообразные вирусы размером от 4 до 90 мкм, которые способны либо вызвать лизис соответствующего вида бактерий, либо интегрироваться в генетический аппарат бактерий, размножаться вместе с ними в качестве внутрибактериальных паразитов и лишь при определенных дополнительных условиях вызывать их гибель. Бактериофаги

выгодно отличаются тем, что почти никогда не вызывают побочных токсических или аллергических реакций (практически только у детей первых месяцев жизни некоторые бактериофаги следует использовать с определенной осторожностью). Препараты бактериофага обычно назначают внутрь сроком от 7 до 30–40 дней в зависимости от вида фага и клинической ситуации. При необходимости фаг может использоваться местно (орошение ран, например), а также ингаляционно. Следует иметь в виду, что препараты бактериофагов чувствительны к температурным условиям, поэтому хранить и транспортировать их нужно с соблюдением этих условий во избежание их инактивации, что может не проявляться изменениями внешнего вида препарата.

В лечении дисбиоза используются иногда кишечные антисептики, действующие преимущественно местно — в кишечнике. Их выбор зависит от состава доминирующей условно-патогенной флоры. Если имеет место избыточный рост условно-патогенных энтеробактерий (протей, патогенных штаммов кишечной палочки), обычно используют производные 5-нитрофурана (эрсесфурил) или 8-оксихинолина (интетрикс). Интетрикс и энтеро-сидив применяют курсами от 7 до 10 дней. При повышенном размножении условно-патогенных клостридий могут быть эффективны производные имидазола (тинидазол). Используется также не всасывающийся антибиотик рифаксимин. При повышенном размножении грибов рода *Candida* иногда необходимо использовать препарат «Пимафуцин». Риск развития кандидоза повышается у пожилых больных, длительно получавших антибиотики, а также у онкологических больных, больных аутоиммунными заболеваниями с проявлениями иммунодефицита и при длительном лечении глюкокортикоидными гормонами. Действующим веществом в «Пимафуцине» является вещество полиеновой группы — натамицин, который влияет на целостность мембран грибковой клетки и нарушает ее функциональную активность, что приводит в итоге к ее гибели. Препарат, как и все полиены, не всасывается в кишечнике и действует только в его просвете, поэтому является безопасным.

К симптоматическим средствам, адсорбирующим болезнетворные бактерии и их токсины, относятся энтеросорбенты (Урсова Н.И. и соавт., 2002). Сорбенты также извлекают из желудочно-кишечного тракта различные вещества, например, азотистые шлаки, продукты метаболизма углеводов, ароматические и свободные жирные кислоты и др. Среди энтеросорбентов может быть назван, в частности, биосорб-бифидум. Он представляет собой живые клетки определенного штамма бифидобактерий, которые иммобилизованы на поверхности энтеросорбента в порошкообразной и гранулированной форме. Таким образом, этот препарат не только выполняет функции детоксикации за счет своих сорбционных свойств, но также доставляет полезные бифидобактерии в кишечник. Эффективным энтеро-

сорбентом является смекта. Адсорбирующие свойства смекты связаны с большой адсорбирующей поверхностью препарата — 100 кв. м/гр, а также с особенностью его ионной структуры, имеющей ячеисто-чешуйчатое строение. Адсорбция происходит в трех разных местах: внутри ячеек адсорбента, между чешуйками и внутри чешуек. Смекта успешно связывает и нейтрализует, в частности, бактериальные токсины. Еще один энтеросорбент — полифепан. Это средство получают путем переработки лигнина — продукта гидролиза углеводных компонентов древесины. Полифепан имеет высокую дисперсионную способность и при приеме внутрь активно адсорбирует бактерии, находящиеся в пищеварительной трубке. Интересным энтеросорбентом является препарат «Энтерогель». Это кремнийорганический пористый сорбент, применяемый в виде гидрогеля. Помимо сорбции токсинов, препарат обладает уникальным свойством выборочного воздействия на микрофлору кишечника. Он активно подавляет рост только представителей патогенной и условно-патогенной флоры, не угнетая нормальную микрофлору. Кроме этого, «Энтерогель» способствует регенерации слизистой оболочки кишечника.

Следует помнить, что использовать для лечения дисбиоза кишечника антибиотики, за исключением не всасывающегося и исключительно местно действующего на условно-патогенную и патогенную флору рифаксимина, следует очень осторожно, и их применяют только при наличии явной патогенной микрофлоры или симптомах системного инфекционного поражения.

Основными средствами профилактики и лечения кишечного дисбактериоза должны быть пребиотики (содержат в своем составе вещества, способствующие росту индигенной микрофлоры), пробиотики (содержат живые микроорганизмы в виде монокультуры), синбиотики (содержат сочетание пре- и пробиотика) и симбиотики (содержат комбинацию нескольких живых культур микроорганизмов разных видов).

В заключение следует еще раз подчеркнуть, что достаточно часто использование различных антисептиков вовсе не обязательно, и можно применить сорбенты или же сразу начать лечение с диеты в сочетании с пре- и пробиотиками, многие из которых относятся к биологически активным пищевым добавкам (БАД), и их следует шире использовать у больных с сахарным диабетом.

Литература

1. Ардаская М.Д., Дубинин Н.В., Мишушкин О.Н. Дисбактериоз кишечника: современные аспекты изучения проблемы, принципы диагностики и лечения // Терапевтический архив, 2001. — № 2. — С. 67–72.
2. Белоусова Л.Н., Лынявина В.М. Дисбиоз кишечника и сердечно-сосудистые заболевания // Дисбиоз кишечника / Под ред. Е.И. Ткаченко, А.Н. Суворова. — СПб., 2007. — С. 134–147.
3. Бондаренко В.М., Боев Б.В., Лыкова Е.А., Воробьев А.А. Дисбактериоз желудочно-кишечного тракта // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, 1998. — № 1. — С. 66–70.

4. Булатова Е.М., Богданова Н.М. Становление и роль микрофлоры у детей. Современные подходы к диагностике и лечению дисбиоза кишечника в педиатрической практике // Дисбиоз кишечника / Под ред. Е.И. Ткаченко, А.Н. Суворова. — СПб., 2007. — С. 157–200.
5. Иванов А.В. Клиническое применение бактериофагов. Практическое руководство. — СПб., 2000. — 42 с.
6. Никитенко В.И., Копылов В.А., Никитенко М.В. Транслокация бактерий из желудочно-кишечного тракта — естественный защитный механизм // Гастроэнтерология Санкт-Петербурга, 2004. — № 2/3. — С. 16–18.
7. Петухов В.А. Липидный дистресс-синдром. — М., 2007. — 266 с.
8. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника. ОСТ 91500.11.0004-2003, утв. Приказом Минздрава РФ от 9 июля 2003 г. № 231.
9. Реброва Р.Н. Грибы рода *Candida* при заболеваниях негрибковой этиологии. — М.: Медицина, 1989.
10. Савельев В.С. Липидный дистресс-синдром в хирургии. Материалы 8-й сессии РАМН, 1999. — С. 56–57.
11. Суворов А.Н., Успенский Ю.П. Общебиологическое значение нормальной микрофлоры. Микрофлора пищеварительного тракта // Дисбиоз кишечника / Под ред. Е.И. Ткаченко, А.Н. Суворова. — СПб., 2007. — С. 9–18.
12. Ткаченко Е.Н. Питание как функция взаимодействия человека и природы в процессе эволюции от биосферы к ноосфере // Клиническое питание, 2005. — № 1. — С. 2–3.
13. Уголев А.М. Трофология — новая междисциплинарная наука // Вестник АН СССР, 1980. — № 1. — С. 50–61.
14. Урсова Н.И., Римарчук Г.В., Щеплягина Л.А. Дисбактериоз толстой кишки у детей: современные аспекты изучения проблемы, принципы коррекции. — М., 2002. — 56 с.
15. Успенский Ю.П. Метаболический синдром у больных с заболеваниями органов пищеварения. Место лечебного питания в комплексной терапии заболеваний органов пищеварения, ассоциированных с метаболическим синдромом // Клиническая диетология, 2004. — № 1. — С. 14–21.
16. Успенский Ю.П. Функция микрофлоры пищеварительного тракта // Дисбиоз кишечника / Под ред. Е.И. Ткаченко, А.Н. Суворова. — СПб., 2007. — С. 19–24.
17. Федосына Е.А., Жаркова М.С., Маевская М.В. Бактериальная кишечная микрофлора и заболевания печени // РЖГГК, 2009. — № 6. — С. 73–81.
18. Хавкин А.И. Нарушения микроэкологии кишечника. Принципы коррекции. Методические рекомендации. — М., 2004. — 40 с.
19. Шевяков М.А., Авалуева Е.Б. Кандидозный дисбиоз как особая форма дисбиоза кишечника // Дисбиоз кишечника / Под ред. Е.И. Ткаченко, А.Н. Суворова. — СПб., 2007. — С. 63–76.
20. Шендеров Б.А. Нормальная микрофлора и ее роль в поддержании здоровья человека // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, 1998. — № 1. — С. 61–65.
21. Шендеров Б.А., Манвелова М.А. Функциональное питание: микробиологические аспекты. — М., 1997.
22. Шендеров Б.А. Пробиотики и функциональное питание. — М., 2001.
23. Azpiroz F. Intestinal Microflora and Intraluminal Gas // Gut Microflora. — Paris, 2006. — P. 81–96.
24. Bernalier-Donadille A. Main Metabolic Functions of Human Intestinal Microflora // Gut Microflora. — Paris, 2006. — P. 61–80.
25. Forchielli M., Walker W. The role of gut-associated lymphoid tissues and mucosal defence // Br. J. Nutr. 2005, 93: 41–48.

С-РЕАКТИВНЫЙ БЕЛОК И ЛИПОПРОТЕИН-АССОЦИИРОВАННАЯ ФОСФОЛИПАЗА A2: НОВЫЕ ФАКТЫ И НОВЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ДЛЯ ДИАГНОСТИКИ И СТРАТИФИКАЦИИ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ РИСКОВ

В.В. ВЕЛЬКОВ

ЗАО «ДИАКОН»

Резюме. В обзоре представлены современные взгляды на роль высокочувствительного СРБ (hsСРБ) и липопротеин-ассоциированной фосфолипазы A2 (ЛП-ФЛА2). Повышение hsСРБ представляет собой ключевое патологическое событие, тот самый «перекресток», от которого ведут к эндотелиальной дисфункции, к тромбообразованию, к инсулинорезистентности, к нарушению функций лептина, адонектина и цитокинов.

Повышение в сыворотке уровня A2 (ЛП-ФЛА2) специфично только для васкулярного воспаления. При разных типах системных воспалений ЛП-ФЛА2 (в отличие от СРБ) не продуцируется. Показано, что повышение ЛП-ФЛА2 является предиктором ишемического инсульта, независимым от уровня ЛПНП.

Совместное определение ЛП-ФЛА2 и hsСРБ может весьма эффективно применяться для оценки сердечно-сосудистых рисков в общей популяции и у лиц с установленными ССЗ и для диагностики и оценки степени тяжести атеросклероза.

Ключевые слова: атеросклероз, предикты, высокочувствительный СРБ (hsСРБ), липопротеин-ассоциированная фосфолипаза A2 (ЛП-ФЛА2), сердечно-сосудистые риски, дисфункция эндотелия.

C-REACTIVE PROTEIN AND LIPOPROTEIN-ASSOCIATED PHOSPHOLIPASE A2: NEW FACTS AND POSSIBILITIES FOR DIAGNOSTICS AND STRATIFICATION OF CARDIOVASCULAR RISKS

V.V. VELKOV

DIAGON, Ltd

Summary. The review discusses the modern views on high sensitive CRP (hsCRP) and lipoprotein-associated phospholipase A2. hsCRP elevation is a key pathogenetic event, the crossroad, which leads to endothelial disfunction, thrombi formation, insulin resistance, disorders in leptin, adiponectin and cytokines metabolism. Increase of lipoprotein-associated phospholipase A2 in serum is typical only for vascular inflammation. In contrast to hsCRP, it is not produced in different types of systemic inflammations. Lipoprotein-associated phospholipase A2 elevation was shown to be a predictor of ischemic stroke, this predictor is independent from low density lipoproteins. Evaluation of both lipoprotein-associated phospholipase A2 and hsCRP in serum may be very effective for evaluation of cardiovascular risk in general population and in persons with diagnosed cardiovascular diseases, as well as for evaluation of severity of atherosclerosis.

Key words: atherosclerosis, predictors, high sensitivity CRP (hsCRP), lipoprotein-associated phospholipase A2, cardiovascular risks, endothelial disfunction.

СРБ: в интерфазе между врожденным иммунитетом и воспалением

Согласно современным представлениям, основной механизм атерогенеза и атеротромбоза — это 1) оксидативный стресс, инициируемый активацией неспецифического иммунитета, что вызывает 2) воспалительный процесс в стенках сосудов, и как результат 3) прогрессирующую эндотелиальную дисфункцию, которая кульминирует 4) развитием ишемии и/или 5) тромбообразованием. СРБ находится как бы на перекрестке между врожденным иммунитетом и воспалительным процессом. Именно СРБ, будучи ключевым компонентом врожденного иммунитета, после его инициации включает воспалительный процесс. Не удивительно, что примерно половина всех случаев сердечных приступов,

ишемических инсультов (ИИ) и кардиальных смертей происходят у практически здоровых лиц с уровнями Х-ЛПНП, находящимися ниже пограничных. Это связано с тем, что накопление холестерина — это уже поздние стадии атерогенеза.

Факт, что СРБ играет ключевую роль как в атерогенезе, так и в атеротромбозе и является эффективным предиктором сердечно-сосудистых событий, является твердо и окончательно установленным. Полагается, что повышение hsСРБ представляет собой ключевое патологическое событие, тот самый «перекресток», от которого ведут к эндотелиальной дисфункции, тромбообразованию, инсулинорезистентности, нарушению функций лептина, адонектина и цитокинов. СРБ синтезируется в печени как положительный реактант

острой фазы (ОФ) воспаления, а также в адипоцитах и, как недавно было обнаружено, в бляшках после того, как в результате оксидативного стресса происходит окисление Х-ЛПНП, СРБ: 1) «опознает» окисленный Х-ЛПНП как уже «чужеродное» соединение и 2) связывается с ним (но не с нативным Х-ЛПНП), 3) стимулирует поглощение окси-Х-ЛПНП макрофагами, что ведет к образованию и накоплению пенных клеток, более того, 4) СРБ повышает синтез молекул адгезии (ICAM, VCAM, E-selectin, хемокин MCP-1), 5) активирует дифференцировку моноцитов в макрофаги, 6) индуцирует секрецию моноцитарного тканевого фактора (monocyte tissue factor — TF), 7) индуцирует выход провоспалительных цитокинов из моноцитов, 8) снижает циркуляцию предшественников эндотелиальных клеток, 9) активирует гладкомышечные клетки, что повышает нестабильность бляшки, 10) блокирует образование NO и нарушает вазореактивность эндотелия, 11) повышает синтез активных форм кислорода, 12) стимулирует синтез матриксных металлопротеиназ в бляшке, 13) повышает активность колагеназы в моноцитах-макрофагах, что ведет к нестабильности бляшки, 14) стимулирует тромбоз за счет подавления ингибитора активатора плазминогена I (PAI-I) и тканевого активатора плазминогена (tPA).

В итоге синтез и секреция СРБ в местах атеросклеротических повреждений, происходящие за счет образования «паракринных / аутокринных» петель, повышают локальные концентрации СРБ гораздо выше тех его уровней, которые обнаруживаются в плазме. А это ведет к: 1) проатерогенным, 2) провоспалительным и 3) прокоагуляционным эффектам. В целом, чем выше СРБ (в высокочувствительном диапазоне) — тем глубже дисфункция эндотелия [1, 2].

Особо подчеркнем, что СРБ — это центральный компонент двух типов воспалительных процессов.

А. *Острого воспалительного процесса*, связанного с системными инфекциями или с некрозом тканей (например, при ожогах, некрозах злокачественных опухолей, при инфарктах миокарда). В этих случаях концентрация СРБ в сыворотке возрастает в острофазном воспалительном диапазоне: от 10 мг/л и выше (иногда до 1000 мг/л) и является показателем тяжести системного воспаления. Динамика уровней СРБ в этом диапазоне отражает динамику воспалительного процесса.

Б. *Вялотекущего воспалительного процесса*, происходящего в эндотелии, связанного с атерогенезом и, как правило, не связанного с инфекциями. В этих случаях концентрация СРБ возрастает в высокочувствительном диапазоне (от 0,05 до 10,0 мг/л). Высокочувствительное измерение СРБ обозначается как hsСРБ (hs — high sensitive — высокочувствительный, англ.).

Важная информация. Перед высокочувствительным определением hsСРБ необходимо провести измерение СРБ в островоспалительном диапазоне (уровни < 10 мг/л), чтобы выяснить, нет ли у пациента острых

воспалительных процессов. Если уровень СРБ выше 10 мг/л, проводят обследование пациента для выявления инфекционных и воспалительных заболеваний. Если не обнаружено ни тех ни других — больного обследуют на онкологические заболевания. Если уровни СРБ ниже 10 мг/л — проводят высокочувствительное измерение. Кровь может быть взята как натощак, так и после еды у метаболически стабильных пациентов. Определение hsСРБ проводят в дублях, желательно повторное измерение через две недели [3].

С-реактивный белок «высокочувствительный» — предиктор атеросклероза и острых коронарных событий

Согласно многочисленным проспективным исследованиям, повышение hsСРБ указывает: 1) на начальные стадии развития эндотелиальной дисфункции и 2) оценивает риск острых коронарных событий и инсультов в последующие 5–7 лет [3–5] (табл. 1).

Как показано, повышенные уровни hsСРБ связаны с повышенным количеством стенозов в коронарных сосудах и с повышенным количеством разрывов в бляшках [6].

Таблица 1

Уровни hsСРБ и кардиориски у практически здоровых лиц

hsСРБ (мг/л)	Риск
1,8 ± 1,9	Непрогрессирующий атеросклероз
4,1 ± 3,3	Прогрессирующий атеросклероз
ОИМ, ишемический инсульт	Риск
<1	Минимальный
1,1–1,9	Низкий
2,0–2,9	Умеренный
> 3,0	Высокий

В 2003 г. Американской кардиологической ассоциацией (American Heart Association) были рекомендованы Правила применения hsСРБ для оценки риска ССЗ и были предложены алгоритмы (формулы) подсчета кардиориска, включающие 6 показателей: возраст, текущий статус курения, систолическое артериальное давление, общий холестерин, Х-ЛПВП, hsСРБ, случаи ИМ в семейном анамнезе [7]. Более того, уровни hsСРБ не только предсказывают будущий риск ИМ, ишемического инсульта и кардиальной смерти, но тесно связаны с метаболическим синдромом и сахарным диабетом [8]. В целом включение измерения hsСРБ в липидную панель считается весьма актуальным.

Что на практике дает включение измерения hsСРБ в липидную панель и проведение терапии на основе его регулярного мониторинга?

Для ответа на этот вопрос в США было проведено 30 проспективных исследований, в которых одним груп-

пам больных проводилось лечение с учетом измерения липидной панели и уровней hsCRP, а другим группам — только с учетом измерения липидной панели и без измерения hsCRP (контрольная группа). Показано, что присоединение hsCRP к традиционному тестированию липидов у асимптомных индивидов, относящихся к группе с высоким сердечно-сосудистым риском, снижает: 1) на 44% сердечно-сосудистые события, 2) на 20% смертность от всех причин и 3) увеличивает длительность терапии статинами при первичной профилактике ССЗ.

В целом, по мнению американских кардиологов, «правила для практикующих врачей могут включать тестирование hsCRP у асимптомных индивидов (мужчины 50 лет, женщины — 60) в случаях, когда Х-ЛПНП не повышен и когда показания к назначению статинов неопределенны» [9]. Но следует ли принимать во внимание повышение hsCRP у лиц, не имеющих традиционных факторов сердечно-сосудистых рисков?

Полагается, что следует. Действительно, hsCRP широко применяется в клинической практике как независимый показатель кардиоваскулярного риска у практически здоровых лиц и даже тогда, когда уровень Х-ЛПНП низкий. Более того, неожиданно было обнаружено, что терапия статинами снижает уровни hsCRP и при этом, независимо от снижения уровней Х-ЛПНП, как у практически здоровых лиц, так и у пациентов со стабильными коронарными заболеваниями [10].

Повышенный hsCRP — показание для назначения статинов при низком Х-ЛПНП

Как уже говорилось, статины не только ингибируют 3-гидрокси-3-метил-глутарил коэнзим А редуктазу и снижают Х-ЛПНП, но и оказывают противовоспалительное действие, которое можно оценивать по снижению уровней hsCRP [10]. При этом повышенные уровни hsCRP, как показали исследования, проведенные в рамках программы JUPITER, могут использоваться для принятия решения о начале терапии статинами с целью первичной профилактики сосудистых заболеваний. Вот что показало четырехлетнее наблюдение 17 802 практически здоровых мужчин и женщин, у которых были повышенные уровни hsCRP (> 2 мг/л) и низкие уровни Х-ЛПНП (104 мг/дл, 2,72 ммоль/л) и которые с целью первичной профилактики ССЗ получали розувастатин (20 мг/день) или плацебо.

В когорте, получавшей розувастатин, снижались: 1) на 54% количество ИМ, 2) на 48% количество инсультов, 3) на 46% необходимость реваскуляризации артерий, 4) на 43% тромбозмобилия вен, 5) на 20% смертность от всех причин.

Но насколько эффективной окажется терапия статинами, если уровни Х-ЛПНП будут еще ниже, а hsCRP ниже 2 мг/л? В дальнейших исследованиях (наблюдались 15 548 исходно практически здоровых мужчин и женщин) показано, что розувастатин действительно

улучшает клинические исходы у пациентов, у которых уровни hsCRP были ниже 2 мг/л, а уровни Х-ЛПНП ниже 1,8 ммоль/л (< 70 мг/дл).

При уровнях Х-ЛПНП $\geq 1,8$ ммоль/л или $< 1,8$ ммоль/л и hsCRB ≥ 2 мг/л или < 2 мг/л количество сосудистых событий уменьшалось на 55% и на 62% соответственно. У лиц, имевших уровни Х-ЛПНП менее 1,8 ммоль/л и hsCRB менее 1,5 мг/л, количество сосудистых событий уменьшалось на 79%. Сделан вывод, что «для лиц, выбравших фармакологическую профилактику, снижение уровней Х-ЛПНП и hsCRB является показателем удачной терапии розувастатином».

В целом реализация проекта JUPITER четко продемонстрировала: у лиц, имевших после терапии розувастатином уровни Х-ЛПНП менее 70 мг/дл (1,83 ммоль/л) и hsCRB менее 2 мг/л, кардиальные риски снижались на 70%. Для первичной профилактики практически здоровых лиц с низким Х-ЛПНП, но с повышенным hsCRB снижение hsCRB является критическим и таким же важным, как и снижение уровней Х-ЛПНП [11].

Следует ли оценивать эффективность терапии статинами с помощью мониторинга hsCRP?

Для ответа на вопрос наблюдалась когорта из 8901 пациента, у которых был проведен скрининг согласно уровням Х-ЛПНП < 130 мг/дл ($< 3,37$ ммоль/л) и hsCRB ≥ 2 мг/л и которые принимали розувастатин или плацебо. Исходно медианный уровень hsCRB в группе «плацебо» был 4,3 мг/л, а в группе, получавшей статин, — 4,2 мг/л. Для сравнения измерялись систолическое и диастолическое кровяное давление, общий холестерин, Х-ЛПНП, Х-ЛПВП, триглицериды натошак. Вот результаты. У лиц, получавших плацебо, через 4 года наблюдалось незначительное снижение hsCRB, до 3,8–3,4 мг/л. У лиц, получавших статин, уровни hsCRB через 4 года составляли 2,1–2,3 мг/л [12].

hsCRP — предиктор исходов при остром коронарном синдроме

Показано, что у пациентов, поступивших с ОКС при hsCRB $> 7,44$ мг/л, повышенный риск летальности через 5 лет. В целом при ОКС уровни hsCRB ниже 3,0 мг/л указывают на низкий риск неблагоприятных исходов, уровни 3,0–7,44 — на средний риск, уровни выше 7,44 — на высокий риск. При этом наиболее предиктивное значение имеет измерение hsCRB в первые сутки после поступления [13, 14].

hsCRP — предиктор кардиорисков при гемодиализе

При гемодиализе у 35–65% пациентов наблюдается хроническое воспаление, которое характеризуется повышением hsCRB и провоспалительных цитокинов. Причина такого воспаления не вполне ясна, возможно его причиной является: а) образование комплемента при контакте белков плазмы с мембраной, б) обратная филь-

трация контаминированного диализата в кровотоке, в) непосредственный контакт клеток крови с диализной мембраной. Повышение hsCRP во время гемодиализа на 1 мг/л повышает риск летальности на 9%, а повышение hsCRP на 3 мг/л повышает риск летальности на 30%. Если после диализа hsCRP не снижается — это плохой прогноз [15].

«Островоспалительный» CRP — предиктор исходов после ИМ

Некроз тканей при ОИМ вызывает сильный острофазный ответ, при котором повышение CRP происходит в островоспалительном диапазоне. При этом уровень CRP прямо связан с обширностью ИМ и тяжестью его последствий. Уровни CRP выше 12 мг/л связаны с повышенной летальностью в течение первых 2–3 месяцев. Мониторинг CRP после ОИМ свидетельствует о направлении динамики состояния пациентов [16, 17].

При динамическом обследовании 220 больных с ОИМ показано, что пиковый уровень CRP был выше у тех пациентов, у которых в дальнейшем развились недостаточность левого желудочка и разрыв миокарда, чем у пациентов без этих осложнений. Повышение CRP более 20 мг/л — независимый фактор риска аневризмы ЛЖ, сердечной недостаточности и кардиальной смерти в течение 1-го года после перенесенного ИМ [18].

У пациентов с первым ОИМ, подвергшихся коронарной ангиопластике, уровень CRP достигал максимума на 2-й день после ИМ, составлял $86,8 \pm 40,57$ мг/л и коррелировал с уровнями мозгового натрийуретического пептида. Пациенты с более высокими уровнями CRP имели более высокий риск ремоделирования левого желудочка [19].

В целом повышенный уровень hsCRP:

- указывает на развитие атеросклероза даже у лиц, не имеющих традиционных факторов сердечно-сосудистых рисков и имеющих низкие уровни X-ЛПНП,
- может быть показанием для назначения соответствующих профилактических мероприятий.

Представляется весьма целесообразным: 1) включение измерения hsCRP в программы скрининга для выявления лиц с повышенным риском ССЗ (например, при диспансеризации), 2) проведение мониторинга hsCRP при мероприятиях, направленных на терапию ССЗ.

Измерение и мониторинг уровней CRP в островоспалительном диапазоне при острых коронарных событиях: 1) оценивает их тяжесть, 2) свидетельствует о динамике состояния пациента, 3) оценивает риск неблагоприятных исходов.

ЛП-ФЛА2: друг и/или враг?!

Друг: понижает воспаление и снижает предрасположенность к тромбообразованию за счет гидролиза

фактора активации тромбоцитов (прежнее название этого фермента — ацетилгидролаза фактора активации тромбоцитов).

Враг: при гидролизе окисленных фосфолипидов приводит к образованию медиаторов воспаления — лизофосфатидилхолина и окисленных жирных кислот.

Исходно ЛП-ФЛА2 связана с циркулирующими в плазме атерогенными частицами X-ЛПНП (особенно с малыми плотными частицами X-ЛПНП), а также и с ЛП(а). Такие циркулирующие комплексы ЛП-ФЛА2-X-ЛПНП проникают в интиму. Под действием оксидативного стресса происходит окисление всех компонентов X-ЛПНП, в частности — фосфолипидов. ЛП-ФЛА2 гидролизует окси-фосфолипиды, и при этом образуются лизофосфатидилхолин (лизо-ФХ) и окисленные жирные кислоты (окси-ЖК). Лизо-ФХ и окси-ЖК — это медиаторы воспаления, которые инициируют его за счет рекрутирования и активации моноцитов/макрофагов с дальнейшим прогрессированием атеромы. Более того, лизо-ФХ и окси-ЖК участвуют в дестабилизации бляшки и индуцируют апоптоз макрофагов, что ведет: 1) к разрастанию некротического ядра бляшки, 2) к утоньшению фиброзной шляпки, 3) к увеличению воспалительной инфильтрации в область фиброзной шляпки и, в итоге, 4) к формированию уязвимой бляшки. Самое принципиальное: **в атероме ЛП-ФЛА2 синтезируется макрофагами de novo.** (Напомним, что и CRP синтезируется в бляшках.) Через повреждения атеромы новосинтезированная ЛП-ФЛА2 выходит в циркуляцию. Многократно показано, что *повышение в сыворотке уровней ЛП-ФЛА2 специфично только для васкулярного воспаления! При разных типах системных воспалений ЛП-ФЛА2 (в отличие от CRP) не продуцируется.* Таким образом, **ЛП-ФЛА2 — высокоспецифический маркер васкулярного воспаления** [20–24]. Более того, неожиданно было обнаружено, что синтез ЛП-ФЛА2 особенно интенсивно происходит в бляшках каротиды и, что до сих пор остается необъясненным, ЛП-ФЛА2 накапливается не только в липидном ядре, но и весьма сильно в плечах фиброзной шляпки. Это ведет к высокой нестабильности бляшек каротиды [23].

В чем же клиническая ценность определения уровней ЛП-ФЛА2?

В том, что более 25 проспективных исследований показали положительную связь между повышенными уровнями ЛП-ФЛА2 и будущими коронарными событиями и ишемическим инсультом. 11 из 12 проспективных исследований продемонстрировали связь между ЛП-ФЛА2 и первичными сердечно-сосудистыми событиями, 12 из 13 — связь с повторными сердечно-сосудистыми событиями, 6 исследований показали связь с ишемическими инсультами [23–26]. Более того, инкремент повышенных уровней ЛП-ФЛА2, измеренных сразу после ОИМ, — сильный и независимый предиктор летальности (поправки на пол, АГ, СД, курение, ИМТ, X-ЛПНП, hs-CRP, реперфузию и реваскуляризацию) [26].

Согласно многочисленным исследованиям, повышение концентраций ЛП-ФЛА2 имеет клинический пограничный уровень — 200 нг/мл, выше которого риски резко возрастают. В данный момент рекомендуются следующие референсные уровни ЛП-ФЛА2 (нг/мл): < 200 — низкий риск, 200–235 — пограничный диапазон, > 235 — высокий риск [23].

В целом ЛП-ФЛА2 сегодня рассматривается как важный сердечно-сосудистый маркер, независимый от традиционных факторов риска (и от hsCRP) и дополняющий оценку риска, получаемую с помощью традиционных факторов риска. Низкая биологическая вариабельность уровней ЛП-ФЛА2 в популяции позволяет использовать значения уровней ЛП-ФЛА2 для принятия клинических решений и для мониторинга эффективности терапии [23].

ЛП-ФЛА2 — предиктор ишемического инсульта, независимый от ЛПНП

В 2005 г. после многолетних проспективных исследований тест на ЛП-ФЛА2 был официально одобрен US Food and Drug Administration (FDA) для оценки риска ишемического инсульта и заболеваний коронарных артерий. Повышенный уровень ЛП-ФЛА2 повышает риск ишемического инсульта в 2 раза (поправки на возраст, пол, курение, систолическое давление, СД, Х-ЛПНП, Х-ЛПВП) [23, 28].

ЛП-ФЛА2 и систолическое давление

Специальное исследование показало, что одновременное повышение систолического давления (тертили систолического давления < 113 mm Hg, 113–130 mm Hg и > 130 mm Hg) и уровней ЛП-ФЛА2 свидетельствует о резком повышении риска ишемического инсульта. Так, при 130–139 mm Hg и повышенной ЛП-ФЛА2 риск инсульта в 3,5 раза выше, чем в нижней тертили показателя систолического давления. При каждом повышенном уровне систолического давления значения концентраций ЛП-ФЛА2 выше медианных удваивают риск инсульта. В верхней тертили систолического давления (включая лиц с гипертензией) у пациентов с высокой ЛП-ФЛА2 риск инсульта возрастает в 3,5–7 раз [29].

Сочетанное измерение ЛП-ФЛА и hsCRP в оценке сердечно-сосудистых рисков

Как известно, повышенные показатели традиционных факторов риска связаны только с половиной всех происходящих заболеваний коронарных артерий [30]. Поэтому измерения уровней маркеров, дополняющих показатели традиционных факторов риска, — задача весьма актуальная. Особенно эффективно решение этой задачи с помощью сочетанного измерения наиболее прогностически информативных маркеров.

Как и повышенные уровни hsCRP, высокие уровни ЛП-ФЛА2 (верхняя квартиль по сравнению с нижней) удваивают риск первичных и повторных сердечно-сосу-

дистых событий. А когда hsCRP и ЛП-ФЛА2 используются вместе, их суммарная прогностическая эффективность значительно превышает таковую для каждого из них по отдельности. Согласно проспективным исследованиям ARIC и MONICA-Augsburg, лица, у которых одновременно повышены и ЛП-ФЛА2 и hsCRP, имели в 3 раза повышенный риск коронарных событий по сравнению с лицами, у которых уровни обоих маркеров находились в нижней тертили [23, 31].

Особенно эффективно сочетанное измерение hsCRP и ЛП-ФЛА2 для оценки рисков ишемического инсульта. Если повышена только ЛП-ФЛА2, риск инсульта (как уже говорилось) повышается в 2 раза [28]. Если же ЛП-ФЛА2 и hsCRP повышены одновременно (верхние тертили) — риск инсульта возрастает в **11 раз** (по сравнению с нижней тертилью значений обоих маркеров) [29]. Существенно, что есть сильная связь между высокими уровнями ЛП-ФЛА2 и риском повторного инсульта. Однако повторный инсульт предсказывает только повышенная после первого инсульта ЛП-ФЛА2, риск повторного инсульта при этом возрастает в 2,1 раза. Повышенный после первого инсульта hsCRP предсказывает только летальность [32]. Таким образом, наиболее эффективный диагностический набор для определения риска ишемического инсульта может состоять из hsCRP, ЛП-ФЛА2 и тонометра.

Итак, изучение молекулярных механизмов атерогенеза и, в особенности, обнаружение того, что CRP и ЛП-ФЛА2 активно синтезируются в местах атеросклеротических повреждений и оказывают множественные проатерогенные и протромботические эффекты, привело к тому, что сочетание этих двух маркеров может весьма эффективно применяться для диагностики и оценки степени тяжести атеросклероза и, в особенности, для оценки риска ишемического инсульта.

Литература

1. Peisajovich A. et al. C-reactive Protein at the Interface Between Innate Immunity and Inflammation // *Expert Rev. Clin. Immunol.* 2008; 4(3): 379–390.
2. Devaraj S. et al. The evolving role of C-reactive protein in atherothrombosis // *Clin. Chem.*, 2009 Feb; 55(2): 229–238.
3. Шевченко О.П. Высокочувствительный анализ С-реактивного белка и его применение в кардиологии // *Лабораторная медицина*, 2003. — № 6. — С. 35–41.
4. Verma S. et al. C-reactive protein comes of age *Nature Clinical Practice Cardiovascular Medicine* (2005) 2, 29–36.
5. Tsimikas S., Willerson J.T., Ridker P.M. C-reactive protein and other emerging blood biomarkers to optimize risk stratification of vulnerable patients // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2006; 47(8 Suppl.): C19–31.
6. Tanaka A. et al. Multiple Plaque Rupture and C-Reactive Protein in Acute Myocardial Infarction // *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2005; 45: 1594–1599.
7. Pearson T.A. et al. Markers of inflammation and cardiovascular disease: Application to clinical and public health practice. A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and

Prevention and the American Heart Association // *Circulation*. 2003; 107: 499–511.

8. Laaksonen D.E. et al. C-reactive protein and the development of the metabolic syndrome and diabetes in middle-aged men // *Diabetologia*, 2004; 47: 1403–1410.

9. Mora S. et al. The Clinical Utility of High-Sensitivity C-Reactive Protein in Cardiovascular Disease and the Potential Implication of JUPITER on Current Practice Guidelines // *Clinical Chemistry*, 55: 2219–228 (2009).

10. Albert M.A. et al. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: The Pravastatin Inflammation/CRP Evaluation (PRINCE), a randomized trial and cohort study // *JAMA* 2001, 286: 64–70.

11. Ridker P.M. Moving toward new statin guidelines in a post-JUPITER world: principles to consider // *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2009; 11(4): 249–256.

12. Ridker P.M. et al. Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events // *N. Engl. J. Med.*, 2001, 344: 1959–1965.

13. Scirica M. et al. Clinical Application of C-Reactive Protein Across the Spectrum of Acute Coronary Syndromes // *Clinical Chemistry*, 2007, 53: 10: 1800–1807.

14. Kavsak P.A. et al. Elevated C-reactive protein in acute coronary syndrome presentation is an independent predictor of long-term mortality and heart failure // *Clin. Biochem.*, 2007; 40 (5–6): 326–332.

15. Korevaar J.C. et al. Effect of an increase in C-reactive protein level during a hemodialysis session on mortality // *Am. Soc. Nephrol.*, 2004; 15 (11): 2916–2922.

16. Anzai T. et al. C-reactive protein as a predictor of infarct expansion and cardiac rupture after a first Q-wave acute myocardial infarction // *Circulation*, 1997; 96: 778–784.

17. Anzai T. et al. Association between serum C-reactive protein elevation and left ventricular thrombus formation after first anterior myocardial infarction // *Chest.*, 2004; 125 (2): 384–389.

18. Tataru M.C. et al. C-reactive protein and the severity of atherosclerosis in myocardial infarction patients with stable angina pectoris // *Eur. Heart J.*, 2000; 21 (12): 958–960.

19. Morishima I. et al. Plasma C-reactive protein predicts left ventricular remodeling and function after a first acute anterior wall myocardial infarction treated with coronary angioplasty: comparison with brain natriuretic peptide // *Clin. Cardiol.*, 2002; 25 (3): 112–116.

20. Suckling K.E. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a target directed at the atherosclerotic plaque // *Expert Opin. Ther. Targets.*, 2002; 6(3): 309–314.

21. Zalewski A. et al. Lp-PLA2: a new kid on the block // *Clin. Chem.*, 2006; 52(9): 1645–1650.

22. Virani S.S. et al. The role of lipoprotein-associated phospholipase A2 as a marker for atherosclerosis // *Curr. Atheroscler. Rep.*, 2007; 9 (2): 97–103.

23. Corson M.A. et al. Review of the evidence for the clinical utility of lipoprotein-associated phospholipase A2 as a cardiovascular risk marker // *Am. J. Cardiol.*, 2008; 101 (12A): 41F–50F.

24. Lerman A. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a risk marker or a risk factor? // *Am. Cardiol.*, 2008; 101(12A): 11F–22F.

25. Anderson J.L. Lipoprotein-associated phospholipase A2: an independent predictor of coronary artery disease events in primary and secondary prevention // *Am. J. Cardiol.*, 2008, Jun 16; 101(12A): 23F–33F.

26. Gerber Y. et al. Lipoprotein-Associated Phospholipase A2 and Prognosis After Myocardial Infarction in the Community // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2006; 26: 2517–2522.

27. MacPhee C.H. Lipoprotein-associated phospholipase A2: a potential new risk factor for coronary artery disease and a therapeutic target // *Curr. Opin. Pharmacol.*, 2001; 1: 121–125.

28. Gorelick P.B. Lipoprotein-associated phospholipase A2 and risk of stroke // *Am. J. Cardiol.*, 2008; 101(12A): 34F–40F.

29. Ballantyne C.M. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2, high sensitivity C-reactive protein, and risk for incident ischemic stroke in middle-aged men and women in the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study // *Arch. Intern. Med.*, 2005; 165: 2479–2484.

30. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP), Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report // *Circulation*, 2002; 106: 3143–3421.

31. Koenig W. et al. Lipoprotein-associated phospholipase A2 adds to risk prediction of incident coronary events by C-reactive protein in apparently healthy middle-aged men from the general population: results from the 14-year follow-up of a large cohort from southern Germany (MONICA-Augsburg) // *Circulation*, 2004; 110: 1903–1908.

32. Ikind M.S. et al. High-sensitivity C-reactive protein, lipoprotein-associated phospholipase A2, and outcome after ischemic stroke // *Arch. Intern. Med.*, 2006; 166: 2073–2080.

ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДА ИНФОРМАЦИОННОГО СТРУКТУРНОГО РЕЗОНАНСА В ЗАДАЧАХ АНАЛИЗА ДАННЫХ ДНК-МИКРОЧИПОВ

В.А. ДЮК, Д.А. ТОЛСТОНОГОВ

Учреждение Российской академии наук Санкт-Петербургский институт информатики и автоматизации РАН (СПИИРАН)

Резюме. Рассматривается специфика биомедицинских данных, описываются современные подходы интеллектуального анализа данных (Data Mining). Дается характеристика технологии поиска логических закономерностей данных на основе эффекта информационного структурного резонанса. Анализируются результаты и оцениваются перспективы применения этого метода в задаче медицинской диагностики на основе данных ДНК-микрочипов.

Ключевые слова: биоинформатика, ДНК-микрочипы, интеллектуальный анализ данных, информационный структурный резонанс.

INFORMATION STRUCTURAL RESONANCE METHOD USE IN DNA-MICROCHIPS DATA ANALYSIS

V.A. DUK, D.A. TOLSTONOGOV

Institution of Russian Academy of Sciences Saint-Petersburg Institute of informatics and informatisation
Russian Academy of Medical Sciences

Summary. The article deals with specificity of biomedical information, modern approaches to intellectual data mining. Some features of technologies of searching logical relationships among the databases are provided, as based on the information structural resonance. The results and perspectives of using this method for medical diagnosis basing on DNA-microarrays data are analyzed and discussed.

Key words: bioinformatics, DNA-microarrays, intellectual data analysis, information structural resonance.

1. Введение

В модернизации современного общества важная роль принадлежит биомедицинской информатике — науке, изучающей структуру и свойства информации в «живых системах», а также вопросы, связанные с ее сбором, хранением, переработкой, преобразованием и использованием в различных целях на разных уровнях организации живых систем.

Фундаментальный интерес в биомедицинской информатике сегодня представляют две цели:

- создание новых биологически активных веществ;
- разработка новых способов медицинской диагностики.

Как подчеркивают авторитетные специалисты, только в связи с изысканиями в указанных областях можно ожидать результатов, позволяющих осуществить перевод российской науки на инновационный путь развития [1].

Успешная реализация актуальных целей обеспечивается комплексом качественно новых научно-технических решений в областях молекулярной биологии, физики, биохимии, нанотехнологий, высокопроизводительных информационно-компьютерных технологий и др. [2].

Важным компонентом в этом комплексе является разработка и совершенствование новых математических инструментов для анализа нетривиальной биомедицинской информации. Этому вопросу посвящена настоящая статья.

Материал излагается в следующей последовательности. Рассматривается специфика биомедицинских данных, описываются современные подходы так называемого «интеллектуального анализа данных» (Data Mining), дается характеристика технологии поиска логических закономерностей в данных на основе эффекта информационного структурного резонанса, анализируются результаты и оцениваются перспективы применения этого метода в задаче медицинской диагностики на основе данных ДНК-микрочипов.

2. Специфика биомедицинских данных

Биология и медицина издавна опирались в своем развитии на эмпирические данные, их анализ и обобщение. Однако информационный прорыв в этих областях начался только с середины двадцатого века, когда технические средства стали предоставлять исследователям все возрастающие потоки данных о биологических объектах. В конце прошлого века в связи со стремительным совершенствованием микроэлектроники и компьютерной техники этот поток стал напоминать лавину.



Рис. 1. Специфика биомедицинских данных

Вместе с тем, формальное возрастание потока информации ставит больше вопросов о методах ее обработки, чем дает ответов. Эти вопросы отражают общие проблемы информационных технологий в части, касающейся анализа данных в предметных областях со сложной системологией.

С позиций специалистов по прикладной статистике в задачах исследования живых систем, как в фокусе, сконцентрированы многие проблемы анализа данных. При решении задачи поиска взаимосвязи комплекса измерений с целевыми переменными (например, диагностическими или прогностическими) в первую очередь обращает на себя внимание ряд особенностей анализируемых данных, приведенных на рисунке 1.

Особо следует остановиться на современной концепции «русел и джокеров», которая зародилась в среде специалистов по синергетике и определяет особенности построения моделей для объектов со сложной системной организацией [3]. «Русла» представляют собой подпространства общего пространства описания объектов, в которых можно построить модели, с высокой точностью отражающие устойчивые взаимосвязи между эмпирическими данными. «Джокеры» — области пространства описания, где следует ждать неожиданностей и полагаться на случай. Поиск «русел» и «джокеров» связан с огромным перебором в исходном пространстве описания возможных подпространств и моделей.

Описанная специфика биомедицинских данных определила отнесение задачи разработки и развития

методов анализа таких данных к разряду необходимого условия решения фундаментальных проблем биомедицинской информатики.

«Будущее анализа данных может привести к большому прогрессу, к преодолению реальных трудностей, к оказанию большой помощи всем областям науки и техники. Будет ли это так? Это зависит от нас, от нашего желания встать на каменистый путь реальных проблем, вместо гладкой дороги нереальных предпосылок, произвольных критериев и абстрактных результатов, не имеющих реалистической направленности...» — эти слова Дж. Тьюки, сказанные еще в 1962 году, становятся все более актуальными в наши дни.

Поиск, описание и структурирование закономерностей в предметных областях с нечеткой системологией требуют особых математических и алгоритмических подходов. Наиболее активно такие подходы в настоящее время развиваются в рамках направления, получившего название «Data Mining».

3. Интеллектуальный анализ данных (Data Mining)

К настоящему времени по теме Data Mining написаны десятки книг. Количество статей тоже весьма велико — в поисковике Google в период написания данной статьи на это словосочетание выдавалось примерно 2 500 000 ссылок. Кратко охарактеризуем основные аспекты этого обширного направления в анализе данных.

В связи с совершенствованием технических средств для получения, записи и хранения информации на спе-

специалистов обрушились колоссальные потоки разнородных данных. Вместе с тем, традиционная математическая статистика оказалась неспособной обеспечить продуктивное решение ряда актуальных задач из различных предметных областей (поиск закономерностей в многомерных данных, построение диагностических и прогностических моделей, выявление сложных непериодических паттернов в динамических рядах и др.). Одна из причин — концепция усреднения по выборке, приводящая к операциям над фиктивными величинами. Кроме того, практически отсутствуют аналитические критерии для оценки достоверности взаимосвязей и регулярностей в многомерных данных и др.

Направление Data Mining родилось как ответ на сложившуюся проблемную ситуацию. В настоящее время термин «Data Mining» (раскопка данных) является синонимом появившегося позже (1989) термина «обнаружение знаний в базах данных» (Knowledge Discovery in Databases — KDD). В русском языке область, очерченная вышеупомянутыми терминами, нередко обозначается словосочетанием «Интеллектуальный анализ данных» (ИАД).

Исходное определение дал наш бывший соотечественник Григорий Пятецкий-Шапиро:

«Data mining — это процесс обнаружения в сырых данных ранее неизвестных нетривиальных практически полезных и доступных интерпретации знаний, необходимых для принятия решений в различных сферах человеческой деятельности» (G. Piatetsky-Shapiro).

В настоящее время Data Mining существует в двух ипостасях. Ряд специалистов делает акцент на обработке сверхбольших объемов данных. Здесь предъявляются повышенные требования к быстродействию алгоритмов, естественно, в ущерб оптимальности результатов. Другая группа специалистов, к которой принадлежат авторы статьи, в контексте задач биомедицинской информатики концентрирует внимание на глубине раскопки данных. В понимании второй группы основные отличия технологий Data Mining следующие:

- Data Mining — это всегда сугубо многомерные задачи — поиск связи между значением целевого показателя и набором значений группы других показателей базы данных.
- Технология Data Mining способна обрабатывать разнородную информацию. То есть, поля могут быть представлены количественными, качественными и текстовыми переменными.
- Технология Data Mining в отличие от традиционных статистических методов не претендует на поиск взаимосвязей, характерных для полного объема данных (всей выборки). Ищутся правила, связывающие значения показателей, для подвыборок данных (см. выше «Русла» и «Джокеры»). При этом правила всегда высокоточные, а не «размытые» по всей выборке, общие и неточные статистические тенденции.

- Алгоритмы Data Mining производят поиск указанных выше подвыборок данных и точных взаимосвязей для этих подвыборок в автоматическом режиме.

Таким образом, ключевые слова Data Mining — точность, многомерность, разнотипность данных, автоматический поиск. Здесь, конечно, еще нужно добавить важное требование интерпретируемости получаемого результата, особенно актуальное для медико-биологических исследований.

Дополнительную информацию можно найти на многочисленных сайтах Интернета, из которых один из самых информативных — портал упомянутого выше Г. Пятецкого-Шапиро — www.kdnuggets.com. Также весьма полезным является популярный ресурс — репозиторий данных UCI университета г. Ирвин (Калифорния, США), история которого началась в 1987 году. Адрес — <http://archive.ics.uci.edu/ml/>. Здесь можно найти массу данных и ссылок на примеры решения задач из самых разных областей, в том числе относящихся к теме исследования живых систем.

Методы ИАД имеют много общего с методами решения задач классификации, диагностики и распознавания образов. Но их одной из главных отличительных черт, как отмечалось выше, является функция интерпретации закономерностей, кладущихся в основу правил вхождения объектов в классы эквивалентности. Поэтому здесь большое распространение получили логические методы. Есть еще одна важная причина, обусловившая приоритет логических методов. Она заключается в сложной системной организации областей, составляющих предмет приложения современных информационных технологий. Эти области относятся, как правило, к надкибернетическому уровню организации систем, закономерности которого не могут быть достаточно точно описаны на языке статистических или иных аналитических математических моделей. Гибкость и многообразие логических конструкций индуктивного вывода позволяют нередко добиваться успешных результатов при описании таких сложных систем.

Другие методы ИАД для построения диагностических и прогностических моделей имеют менее прозрачную интерпретацию. Сюда относятся байесовские классификаторы, дискриминантный анализ, нейросетевой подход, метод ближайших соседей, метод опорных векторов, генетические алгоритмы и др. Как показала практика последнего десятилетия, в ряде задач (особенно в бизнес-приложениях, где требуется анализировать огромные базы данных) требование интерпретируемости результатов стало отступать на задний план. Акцент здесь стал делаться на стабильности получаемых решений. Более того, на передний план начали выходить методы работы с комитетами, содержащими сотни и тысячи методов и алгоритмов. Как выяснилось, подобные комитеты, состоящие даже из «слабых» алгоритмов, способны превосходить по точности изолированные

«сильные» алгоритмы, нацеленные на поиск глубоких закономерностей в массивах данных. Эта тенденция современного ИАД нуждается в самостоятельном рассмотрении. Здесь наблюдается явное отступление от изначальных идеалов ИАД, связанных с попытками извлечения знаний из данных, а не построением моделей в виде «черных ящиков».

При работе с комитетами алгоритмов сегодня широко используются 2 общих технологических приема или метода, имеющих чрезвычайную важность для ИАД. Это «бустинг» (boosting) и «бэггинг» (bagging — сокращение от «bootstrap aggregation»). Эти приемы предназначены для повышения «обобщающей способности» получаемых моделей — способности выдавать правильные результаты не только для примеров, участвовавших в процессе обучения, но и для любых новых, не участвовавших в процессе обучения данных. Кратко охарактеризуем эти два приема.

Идея бустинга предложена в конце 80-х годов в контексте вопроса об эквивалентности слабого и сильного обучения. Бустинг реализует процедуру последовательного построения композиции алгоритмов машинного обучения, когда каждый следующий алгоритм стремится компенсировать недостатки композиции всех предыдущих алгоритмов. В течение последних 10 лет бустинг остается одним из наиболее популярных методов ИАД. Основные причины — простота, универсальность, гибкость (возможность построения различных модификаций) и, главное, высокая обобщающая способность.

Бустинг деревьев решений считается одним из наиболее эффективных методов решения задач классификации. В ряде экспериментов наблюдалось практически неограниченное уменьшение частоты ошибок на независимой тестовой выборке по мере наращивания композиции. Более того, качество на тестовой выборке часто продолжало улучшаться даже после достижения безошибочного распознавания всей обучающей выборки. Это изменило существовавшие долгое время представления о том, что для повышения обобщающей способности необходимо ограничивать сложность алгоритмов. На примере бустинга стало понятно, что хорошим качеством могут обладать сколь угодно сложные композиции, если их правильно настраивать.

Теоретическое обоснование эффективности бустинга связано с тем, что взвешенное голосование сглаживает ответы алгоритмов, входящих в комитет. Эффективность бустинга объясняется тем, что по мере добавления базовых алгоритмов увеличиваются отступы обучающих объектов. Причем бустинг продолжает раздвигать классы даже после достижения безошибочной классификации обучающей выборки.

Бэггинг — это метод формирования ансамблей классификаторов с использованием случайной выборки с возвратом, или бутстрепа. Он был предложен в 1994 году [4].

При формировании бутстрепа-выборок из множества данных случайным образом отбирается несколько подмножеств. Так как отбор производится случайно, набор примеров в этих подмножествах будет различным: некоторые из них могут быть отобраны по несколько раз, а другие — ни разу. Затем на основе каждого подмножества (выборки) строится классификатор. Выходы полученных классификаторов комбинируются (агрегируются) путем голосования или простого усреднения. Считается, что результат будет намного точнее любой одиночной модели, построенной на исходном наборе данных.

В целом, как было отмечено выше, в области интеллектуального анализа данных за последнее десятилетие произошли существенные изменения. Слово «интеллектуальный» теперь, скорее, нужно воспринимать в контексте автоматического построения классифицирующих и прогнозирующих моделей. Поиск индивидуально сильных методов и алгоритмов для основной массы специалистов ИАД стал не столь привлекательным — их интересы сместились в сторону умений работать с большими коллективами «слабых» методов и алгоритмов.

Вместе с тем, проблема построения «сильных» моделей, на наш взгляд, не потеряла своей актуальности. По-видимому, сильные модели являются более пригодными для интерпретации и объединяются в менее громоздкие коллективы для достижения эффективных результатов в задачах классификации и прогнозирования.

Ниже будет рассмотрен подход к поиску в данных «сильных» логических правил, основанный на представлениях локальной геометрии и эффекте информационного структурного резонанса.

4. Метод поиска логических правил в данных на основе эффекта информационного структурного резонанса

Наиболее часто в матрице данных $\mathbf{X} = \{x_{ij}\}$, $i = \overline{1, N}$; $j = \overline{1, p}$ производится поиск if-then правил в виде конъюнкции элементарных логических условий:

$$\begin{aligned} R_{ij} : & \text{IF } \frac{(\text{условие } 1) \wedge (\text{условие } 2) \wedge \dots \wedge (\text{условие } L)}{A_i} \\ & \text{THEN } \frac{(\text{условие } M)}{B_j}, \end{aligned} \quad (1)$$

где «условие l » задает область значений на признаках x_{kl} , $l = \overline{1, L}$, а «условие M », как правило, задает значение (область значений) так называемого целевого показателя x_{kM} , не входящего в антецедент A_i . Значение L называют рангом конъюнкции A_i .

Для характеристики if-then правила удобно использовать два основных показателя — точность и полноту. Точность правила R_{ij} — это доля случаев B_j среди случа-

ев A_i . Полнота правила — это доля случаев A_i среди случаев B_j .

Если какое-либо правило R_{ij} при заданной точности имеет полноту больше, чем правило R_{kj} ($i \neq k$), то правило R_{ij} называют более «сильным». Также нередко говорят, что R_{ij} является более информативным, чем R_{kj} .

Поиск в матрице данных X наиболее сильных правил является экстремальной комбинаторной задачей и в общем случае требует полного перебора всех допустимых конъюнкций элементарных логических условий. Уже при сравнительно небольшом количестве признаков полный перебор становится невозможным даже при использовании высокопроизводительной вычислительной техники. Поэтому на практике получили распространение алгоритмы поиска логических правил, использующие различные эвристические допущения. Наиболее популярные среди них — деревья решений, строящиеся на принципе локальной оптимальности, и алгоритмы ограниченного перебора с рангом конъюнкции не более 3. Достаточно полный обзор подобных алгоритмов приведен в [5]. Указанные алгоритмы способны находить «сильные» конъюнкции только в случаях простых структур данных в условиях независимости анализируемых признаков. При исследовании данных, отражающих сложные системные связи предметной области, эти алгоритмы выявляют, главным образом, «слабые» логические правила, обладающие низкой информативностью.

Нами ранее была предложена новая технология поиска логических закономерностей в данных, основанная на представлениях локальной геометрии и эффекте информационного структурного резонанса [6]. Суть этой технологии заключается в следующем.

На подготовительном этапе производится переход от исходных признаков x_i к бинарным переменным g_k (g_k равно 0 или 1), кодирующим элементарные события T . Под элементарными событиями понимаются события $(xi = a)$, $(xi \neq a)$, $(a < xi < b)$, $(xi < a)$ и $(xi > a)$, где a и b — возможные значения x_i . Выбор способа кодирования зависит как от типа признаков x_i , так и от личных предпочтений исследователя.

В бинарном пространстве, с одной стороны, любой объект g_i изображается точкой, расположенной в какой-либо вершине q -мерного единичного гиперкуба, — $g_i = (g_{i1}, g_{i2}, \dots, g_{iq})^T$, где q — общее количество бинарных переменных.

С другой стороны, этот же объект представляет собой конъюнкцию элементарных событий. За счет такой двойственности представления объекта дальнейшая комбинаторная процедура поиска логических закономерностей получает геометрическое истолкование.

Комбинаторные ситуации выглядят как точки в образованном бинарном пространстве. Задача поиска логических закономерностей может быть сведена к проектированию точек исходного пространства событий

в подпространства событий меньшей размерности, где логические закономерности выглядят как точки этих подпространств, в которые попадает определенное количество объектов одинакового класса.

Для решения этой задачи выбирается объект g_i , который называется опорным, для него конструируется собственное локальное пространство и определяется контекстно-зависимая локальная взвешенная метрика $d_i(g_i, g_j)$ того или иного типа, обеспечивающая релевантную контексту иерархию близостей (удаленностей) объектов $g_j(1, N)$ относительно объекта g_i .

В случае бинарных признаков наиболее естественной метрикой является локальная взвешенная метрика Хэмминга

$$d_i(g_i, g_j) = w_i^T \Delta_{ij}, \quad (2)$$

где $\Delta_{ij} = (|g_{i1} - g_{j1}|, |g_{i2} - g_{j2}|, \dots, |g_{iq} - g_{jq}|)^T$ и $w_i = (w_{i1}, w_{i2}, \dots, w_{iq})^T$ — весовой вектор.

Как следует из выражения (2), задача определения контекстно-зависимой локальной метрики заключается в нахождении линейного преобразования новой векторной переменной $\Delta = |g_i - g_j|$. Ограничение на вид преобразования накладывается требованием неотрицательности компонент весового вектора w_{ik} ($k = \overline{1, q}$), так как различие объектов g_i и g_j по какому-либо бинарному признаку g_k должно обязательно приводить к увеличению расстояния $d_i(g_i, g_j)$ либо в случае $w_{ik} = 0$ вообще не сказываться на изменении расстояния $d_i(g_i, g_j)$.

Выделим некоторые важные свойства локального пространства.

Свойство 1. Опорный объект g_i располагается в начале координат локального пространства.

Свойство 2. Линейная функция в локальном пространстве с неотрицательными коэффициентами имеет смысл взвешенного расстояния (в нашем случае взвешенного расстояния Хэмминга) от опорного объекта g_i .

Свойство 3. Если для некоторого подмножества объектов выполняется условие $w_i^T \Delta_i = 0$, где w — весовой вектор с неотрицательными элементами, то на этом подмножестве истинно следующее логическое высказывание:

$$(g_{j_1} = g_{ij_1}) \wedge (g_{j_2} = g_{ij_2}) \wedge \dots \wedge (g_{j_r} = g_{ij_r}), \quad (3)$$

где $j_l (l = \overline{1, r})$ — индексы при ненулевых компонентах весового вектора w ;

$g_{ij_l} = (0, 1)$ — элемент бинарного вектора g_i .

Еще одно свойство касается обратного перехода от бинарных векторов g_{ij_l} к элементарным логическим условиям T_{ij_l} , заданным на исходных признаках x_i . Оно заключается в следующем:

$$\begin{cases} T_{ij_i} = T_{ij_i} & \text{при } g_{ij_i} = 1, \\ T_{ij_i} = T_{ij_i} & \text{при } g_{ij_i} = 0. \end{cases} \quad (4)$$

Для построения локальной метрики могут использоваться различные методы, ориентированные на максимизацию заданного критерия. Продуктивной зарекомендовала себя процедура активного формирования эффекта информационного структурного резонанса. В роли резонатора используется математическая модель метода наименьших квадратов $\mathbf{w} = (\mathbf{G}_L^T \mathbf{G}_L)^{-1} \mathbf{G}_L^T \mathbf{Y}_L$ ($\mathbf{Y}_L$ — бинарный вектор значений целевой переменной в локальном пространстве, $\mathbf{G}_L$ — матрица бинарных данных в локальном пространстве). С помощью модели в локальном пространстве определяется ракурс, относительно которого около опорного объекта стремятся сгруппироваться объекты только его собственного класса. Применяемая далее итерационная процедура изменения указанного ракурса основана на исключении из анализа объектов с относительно высокими значениями невязки, что способствует увеличению «жесткости» модели-резонатора. Это выражается в ухудшении обусловленности матрицы $\mathbf{G}_L^T \mathbf{G}_L$ и приводит в конечном итоге к известному феномену, когда незначительные возмущения в данных дают скачкообразные изменения значений весовых коэффициентов в уравнении множественной регрессии. Указанный эффект в традиционном понимании является негативным, и разработано достаточно большое число подходов для борьбы с ним (например, метод гребневой регрессии). Однако в нашем случае все манипуляции с выборкой данных в итерационном процессе поиска логической закономерности наоборот направлены на получение этого эффекта, усиливающего выраженность явления информационного структурного резонанса. При этом, конечно, должны быть приняты специальные меры для обеспечения стабильности матричных операций на границе устойчивости.

В процессе исключения из анализа объектов с высокими невязками наступает такой момент, когда весовые коэффициенты $\mathbf{w}_i$ скачком изменяют свои значения и становятся равны 0 либо 1. При этом одновременно в точку опорного объекта $\mathbf{g}_i$ так же скачком стягивается группа объектов его собственного класса. Эта группа описывается логическим выражением (3). Описанный метод назван нами методом информационного структурного резонанса (ИСР).

Метод ИСР на большом количестве специальных тестовых примеров продемонстрировал способность находить в многомерных данных «сильные» правила вида (1). Эффективность метода ИСР подтверждена рядом успешно решенных практических задач, относящихся к области медико-биологических исследований [7]. Ниже анализируется первый опыт применения этого метода в медико-диагностической задаче анализа данных ДНК-микрочипов.

5. Анализ ДНК-микрочипов

методом информационного структурного резонанса

В последние годы исследованию данных биологических, в том числе ДНК-микрочипов уделяется большое внимание. Экспоненциально растущий интерес в значительной степени мотивирован многочисленными важными практическими приложениями в медицинской диагностике, в разработке лекарственных препаратов и др.

Напомним, что биологический микрочип устроен следующим образом: на матрице-подложке расположено множество специальных ячеек, в которых содержатся молекулы-зонды. Это могут быть фрагменты ДНК, РНК или белки. Каждая ячейка является аналогом микропробирки, в которой происходит реакция между молекулами-зондами и молекулами исследуемой пробы, обработанными светящимися метками. Если эти молекулы подходят друг к другу как ключ к замку, происходит так называемая гибридизация — молекулы соединяются химическими связями. Ячейка, в которой произошла реакция, флуоресцирует. По интенсивности свечения ячеек в ДНК-микрочипах судят о величине экспрессии в биопробе тех или иных генов.

При анализе данных микрочипов исследователи сталкиваются с весьма специфической ситуацией, когда число изучаемых генов на два порядка превышает количество имеющихся образцов. Большинство стандартных алгоритмов классификации плохо справляются с решением задач столь высокой размерности и при малом числе примеров (объектов) почти гарантированно переобучаются. Кроме того, как правило, только малая часть из огромного числа проверяемых генов актуальна в контексте решаемых задач.

5.1. Исходные данные и критерий оценки результатов анализа

Исходные данные взяты из репозитория конкурса RSCTC'2010 Discovery Challenge (<http://tunedit.org/challenge/RSCTC-2010-A>), в котором мы приняли участие. Эти данные содержали от 20 000 до 65 000 признаков, в зависимости от типов используемых микрочипов. Участникам конкурса (число участников составило более 100) было предложено на основе представленных данных разработать алгоритмы для диагностики 24 классов медицинских пациентов, сгруппированные в 6 отдельных задач.

Помимо огромного количества признаков, анализируемые данные имели еще одну особенность — ряд диагностических классов в обучающей (и тестовой) выборке был представлен чрезвычайно малым количеством объектов. В ряде случаев количество объектов в классе не превышало 10.

Представленные конкурсантами решения оценивались с помощью критерия со сбалансированной точностью, не чувствительного к сильно различающимся объемам различных классов. Сбалансированная точ-

ность рассчитывается как усредненная точность классификации для каждого класса в отдельности. Таким образом, каждый класс имел одинаковый вклад в конечный результат, независимо от его объема. Это существенно увеличивало цену ошибки на одном объекте для малых классов.

5.2. Процедура анализа

В условиях большого количества признаков (десятки тысяч) и малого объема диагностических классов чрезвычайно важное значение придается специально разработанным методам предварительного отбора признаков с использованием методов кроссвалидации и различным процедурам, связанным с повышением обобщающей способности конструируемых диагностических алгоритмов. При этом, в силу высокой трудоемкости упомянутых процедур, для их реализации необходимо привлечение внушительных вычислительных ресурсов.

Мы не располагали в период конкурса доступом к специальным вычислительным ресурсам (использовался обычный компьютер с двухъядерным процессором), и, кроме того, наши аналитические программы не были объединены в единый комплекс — препроцессинг осуществлялся с помощью Матлаба, процедуры бустинга, бэггинга и генерации случайных подпространств производились в Excel, и поиск логических закономерностей в данных по методу информационного структурного резонанса делался отдельной программой.

В силу указанных причин расчет на успешность результатов анализа данных ДНК-микрочипов был

основан на высокой эффективности метода информационного структурного резонанса как такового. Вместе с тем, все другие составляющие анализа были сильно загружены. Так, предварительная селекция признаков производилась не с помощью достаточно изощренных методов, применявшихся другими участниками конкурса, а с помощью наиболее простого критерия Вилкоксона. Кроме того, из-за ограниченности в ресурсах для каждого диагностического класса отбиралось всего 30 наиболее информативных по этому критерию признаков. И, наконец, при реализации процедур бустинга, бэггинга и метода случайных подпространств мы ограничивались в среднем 50 генерациями случайных выборок.

5.3. Обсуждение результатов анализа

На рисунке 2 приведены финальные результаты участников конкурса, показанные на тестовой (контрольной) выборке.

Наивысший результат — сбалансированная точность по 24 диагностическим классам равна 0,74. Как видно из рис. 2, результаты, идущие вслед за наивысшим, расположены очень плотно. Это свидетельствует о том, что в международном научном сообществе в настоящее время довольно большое количество специалистов высокого класса владеет инструментами Data Mining и работает на близком уровне. Наш результат составил 0,67 и пришелся на моду распределения. Мы преодолели все 3 квалификационные «планки» (baseline), которые установили организаторы соревнования, — 0,63; 0,64 и 0,65.

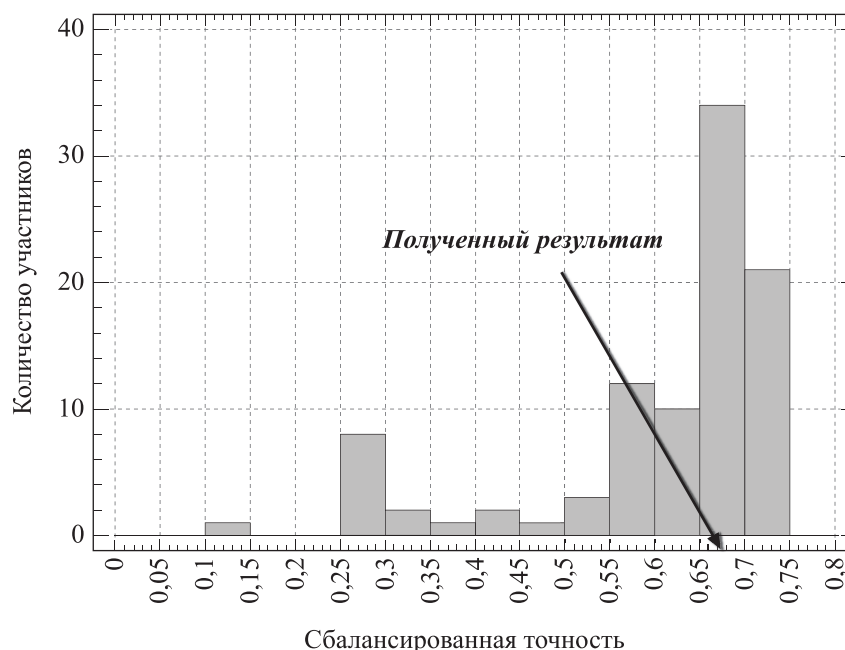


Рис. 2. Гистограмма распределения финальных результатов

После окончания соревнования организаторы открыли доступ к реальным классифицирующим меткам объектов, что позволило более детально разобраться в ошибках. Анализ показал, что были явные успехи — несколько диагностических классов на тестовой выборке были распознаны нами со 100% или близкой к этой величине точностью. Вместе с тем, как выяснилось, серьезные ошибки нашего метода были допущены на 6 малых классах (как говорилось выше, ошибки на объектах малых классов имеют большой вес при расчете сбалансированной точности). Подробный разбор причин ошибок показал, что они были сделаны в основном там, где по нашим критериям классифицируемые объекты попадали в зоны неопределенности (по нашей терминологии, приведенной выше, это джокеры). Следуя логике нашего подхода, мы должны были бы отказаться от принятия решения в зонах неопределенности. Тогда для оставшихся объектов точность классификации оказалась бы 0,9 и выше. На наш взгляд, при решении задач анализа данных в предметных областях со сложной системной организацией было бы полезно использовать критерий оценки результатов, включающий и учитывающий категорию «отказ» от принятия решения. Это особенно актуально, например, как в данном случае, для задач

медицинской диагностики — нередко здесь бывает правильнее отказаться от принятия решения для определенной доли объектов, чем ставить сомнительные диагнозы.

6. Выводы

1. Несмотря на весьма упрощенную процедуру препроцессинга и предварительной селекции признаков, метод информационного структурного резонанса продемонстрировал свою эффективность и конкурентоспособность для решения задач медицинской диагностики по данным ДНК-микрочипов.
2. Ресурсы увеличения эффективности метода в задачах анализа ДНК-микрочипов прозрачны: эти задачи необходимо решать с использованием высокопроизводительных вычислительных средств, которые позволят тестировать в динамике различные виды препроцессинга исходных данных, делать предварительную селекцию значительно большего количества признаков и существенно расширить число вариантов генерации выборок в процедурах бустинга, бэггинга и генерации случайных подпространств.

Литература

1. Арчаков А.И., Лисица А.В. Биоинформатика и биоинформационные технологии. [Электронный ресурс]. — Режим доступа: URL: <http://www.bioinformatic.ru/bioinformatika/bioinformatika-i-bioinformatsionnyie-tehnologii.html> (дата обращения 01.04.10).
2. О современной биоинформатике: Интервью с Н.А. Колчановым [Электронный ресурс]. — Режим доступа: URL: <http://www.bioinformatic.ru/content/view/346/35> (дата обращения 01.04.10).
3. Капица С.П., Курдюмов С.П., Малинецкий Г.Г. Синергетика и прогнозы будущего. Изд. 2-е. — М.: Эдиториал УРСС, 2001. — 288 с.
4. Breiman, Leo. Bagging predictors // Machine Learning. — 24 (1996), 123–140.
5. Воронцов К.В. Лекции по логическим алгоритмам классификации. — 2007. — 48 с. [Электронный ресурс]. — Режим доступа: URL: <http://www.ccas.ru/voron/download/LogicAlgs.pdf> (дата обращения 01.04.10).
6. Дюк В.А. Обработка данных на ПК в примерах. — СПб.: Питер, 1997. — 240 с.
7. Дюк В.А., Эмануэль В.Л. Информационные технологии в медико-биологических исследованиях. — СПб.: Питер, 2003. — 528 с.

ОСНОВНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ АДРЕНАЛИНА, НОРАДРЕНАЛИНА, ДОФАМИНА И СЕРОТОНИНА В ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКЕ НАРКОМАНИЙ

П.Б. ГЛАГОВСКИЙ, И.С. МАМЕДОВ, Р.Т. ТОГУЗОВ

ГОУ ВПО «Российский государственный медицинский университет Росздрава»,
кафедра клинической лабораторной диагностики ФУВ, Москва

Резюме. В настоящей обзорной статье описана диагностическая значимость метаболитов адреналина, норадреналина и серотонина в лабораторной диагностике наркоманий. Рассмотрены метаболизм и эффекты данных веществ в норме и при наркотической зависимости, приведена методика их анализа.

Статья предназначена для врачей-наркологов, кардиологов и специалистов в области клинической лабораторной диагностики.

Ключевые слова: наркомания, катехоламины, серотонин, диагностика.

THE MAIN METABOLITES OF CATECHOLAMINES AND SEROTONIN IN DIAGNOSTIC OF DRUG ABUSE

P.B. GLAGOVSKIY, I.S. MAMEDOV, R.T. TOGUZOV

State Educational Institution of Higher Professional Education Russian State Medical University,
Federal Agency for Health Care and Social Development
Faculty of Postgraduate education, Department of clinical laboratory diagnostics, Moscow

Summary. In the present review the diagnostic importance of main metabolites of epinephrine, norepinephrine and serotonin in laboratory diagnostics of narcotisms is described. The metabolism and effects of the given substances in normal conditions and at drug abuse are discussed. The technique of the laboratory analysis of these substances is given.

This article is intended for narcologists, cardiologists and experts in the field of clinical laboratory diagnostics.

Keywords: narcotism, catecholamines, serotonin, diagnostics.

Введение

Связь применения наркотиков с различными нарушениями метаболизма изучается уже достаточно давно как в патогенетическом, так и в клиническом аспекте. Однако с диагностической точки зрения определение биохимических маркеров нарушенного метаболизма стали применять недавно. В связи с этим приобретает огромное значение поиск новых метаболитов, которые можно использовать для диагностики различных видов наркотической зависимости; в частности, это различные метаболиты адреналина, норадреналина и серотонина.

Как известно, практически все наркотические вещества при их применении изменяют активность симпатoadреналовой системы, причем для некоторых из этих веществ данная активация и является основной с точки зрения наркотического эффекта, что сопровождается соответствующей клиникой. Примером такого вещества может служить никотин, который действует на никотиновые ацетилхолиновые рецепторы, что ведет к увеличению количества стимулирующего гормона адреналина. Симпатическая нервная система, действуя через чревные нервы на мозговое вещество надпочечника, стимулирует выброс адреналина. Ацетилхолин, вырабатываемый преганглионарными симпатическими волокнами этих нервов, действует на никотиновые ацетилхо-

линовые рецепторы, вызывая деполяризацию клеток и приток кальция через потенциалозависимые кальциевые каналы. Кальций запускает экзоцитоз хромаффинных гранул, тем самым способствуя выбросу адреналина (и норадреналина) в кровь. Соответственно, всё это приводит к ускорению метаболизма адреналина и норадреналина и повышению концентрации их метаболитов в крови, что может быть диагностировано различными методиками. Таким образом, в данном случае метаболиты адреналина и норадреналина могут быть прямыми маркерами никотиновой зависимости.

Что же касается серотонина, то существует определенное сходство в строении клеточных рецепторов к серотонину и норадреналину, подобие их транспортных клеточных систем. Известно также, что норадреналин ингибирует выброс серотонина. На их связи основано действие антидепрессанта мirtазалина, который, блокируя альфа-2 рецепторы норадреналина, по принципу отрицательной обратной связи повышает содержание в синаптической щели и норадреналина, и серотонина (так как его ингибирование также тормозится) до нормы. Таким образом, метаболизм серотонина связан с метаболизмом и эффектами симпатoadреналовых гормонов, что можно использовать для диагностики различного типа наркоманий.

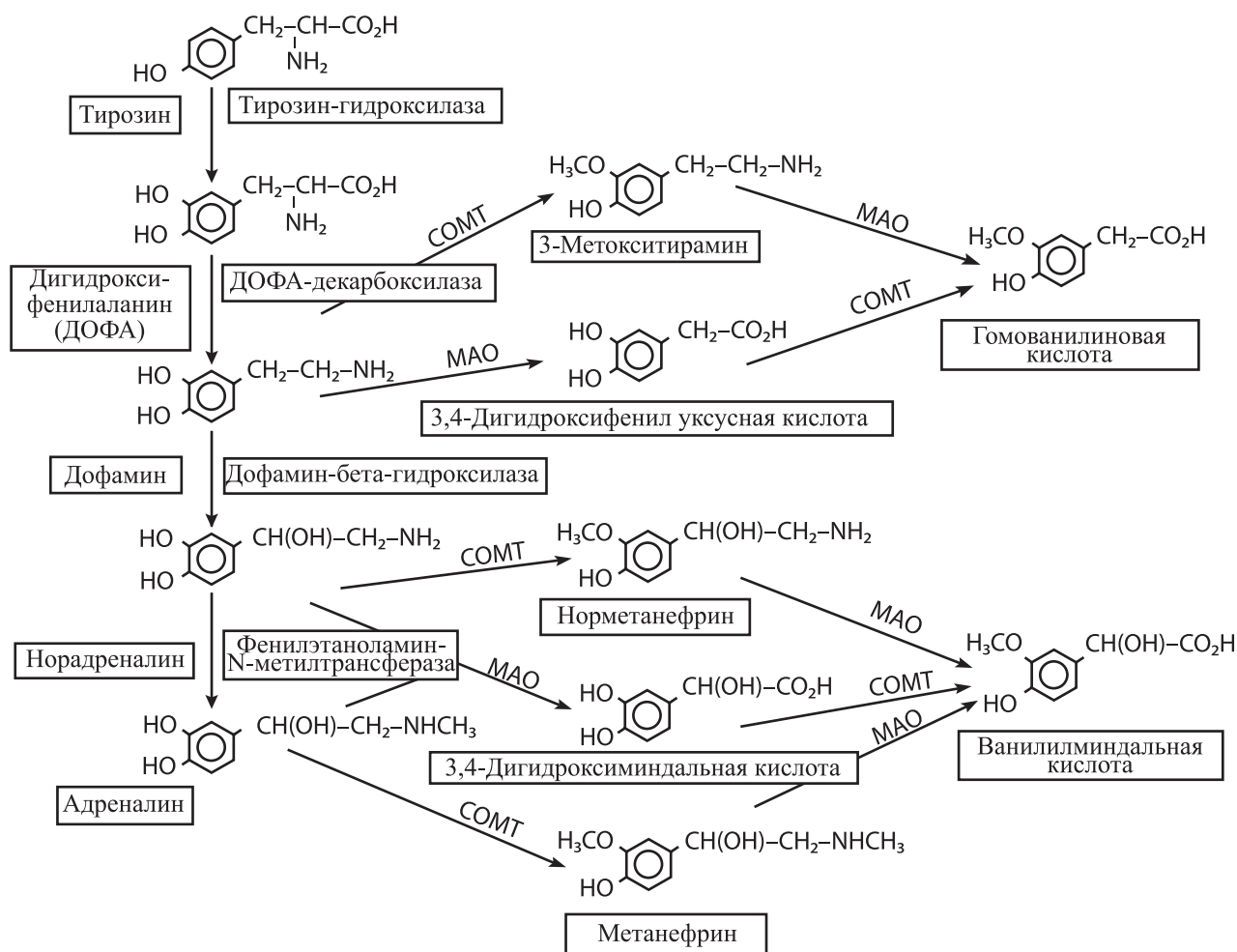


Рис. 1. Биосинтез, высвобождение и метаболизм катехоламинов

Метаболизм и эффекты адреналина, норадреналина и серотонина

Перед тем как перейти к оценке значимости метаболизма адреналина, норадреналина и серотонина для диагностики различных типов наркоманий, рассмотрим кратко метаболизм этих соединений.

Метаболизм катехоламинов и физиология симпатoadреналовой системы

Все три катехоламина естественного происхождения — норадреналин, адреналин и дофамин — функционируют как нейромедиаторы в центральной нервной системе. Норадреналин — нейромедиатор постганглионарных симпатических нервных окончаний, действует локально, в непосредственной близости от мест его высвобождения. Адреналин — циркулирующий в крови гормон мозгового вещества надпочечников — влияет на процессы, происходящие по всему организму [1].

Биосинтез катехоламинов (рис. 1). Катехоламины синтезируются из аминокислоты тирозина, который последовательным гидроксилированием преобразуется

в диоксифенилаланин (дофа), затем декарбоксилируется, превращаясь в дофамин, и гидроксилируется в β -положении боковой цепи, образуя норадреналин. Начальный этап этого процесса — гидроксилирование тирозина — представляет собой этап, ограничивающий скорость всего процесса; он регулируется так, чтобы синтез диоксифенилаланина был связан с высвобождением норадреналина. Такая регуляция достигается изменениями как активности, так и количества тирозингидроксилазы. В мозговом веществе надпочечников и в тех центральных нейронах, в которых адреналин используется в качестве нейромедиатора, норадреналин N-метируется в адреналин ферментом фенилэтаноламин-N-метилтрансферазой (ФНМТ). Основная часть крови, снабжающей мозговое вещество надпочечников, обогащена кортикостероидами из коры надпочечников, и, поскольку надпочечниковая ФНМТ индуцируется глюкокортикоидами, способность мозгового вещества надпочечников образовывать адреналин может быть связана с ее стратегическим расположением внутри коры надпочечников [1].

Метаболизм катехоламинов (рис. 1). Основные метаболические трансформации катехоламинов включают в себя О-метилирование в метабидроксиальной группе и окислительное дезаминирование. Процесс О-метилирования катализируется ферментом катехол-О-метилтрансферазой (КОМТ), а окислительному дезаминированию способствует моноаминоксидаза (МАО). КОМТ в печени и почках играет важную роль в метаболизме циркулирующих в крови катехоламинов. МАО, представляющая собой митохондриальный фермент, присутствующий в большинстве тканей, включая нервные окончания, менее значима в метаболизме циркулирующих в крови катехоламинов, но является важным фактором в регуляции их запасов в окончаниях периферических симпатических нервов. Метанефрины и 3-метокси-4-гидроксиманделиковая кислота (МГМК или ВМК) являются главными конечными продуктами метаболизма и адреналина и норадреналина. Гомованилиновая кислота (ГВК) является конечным продуктом метаболизма дофамина [1].

Основное воздействие катехоламины оказывают на адренэргические рецепторы. Воздействуя на пресинаптические адренэргические рецепторы, катехоламины уменьшают высвобождение норадреналина, действуя через пресинаптические α -адренорецепторы по классической системе негативной обратной связи. Регуляция посредством обратной связи осложняется тем, что активация β -адренорецепторов усиливает высвобождение норадреналина. Были выдвинуты две гипотезы физиологического интегрирования антагонистических воздействий α - и β -адренорецепторов на высвобождение норадреналина. Одна из них заключается в том, что β -адренорецепторы опосредуют реакции, развивающиеся при более низких концентрациях агониста, чем реакции, опосредуемые через α -адренорецепторы, в то время как α -адреноопосредуемые реакции доминируют при более высоких концентрациях агониста. Поэтому при низких уровнях симпатической стимуляции, когда концентрации норадреналина в синаптической щели низки, β -адреноопосредуемая положительная обратная связь может доминировать, в результате чего его высвобождение усилится. И наоборот, при высоких уровнях симпатической стимуляции, когда концентрация норадреналина в синаптической щели высока, доминирует α -адреноопосредуемая обратная связь и происходит угнетение высвобождения норадреналина. Другая гипотеза состоит в том, что пресинаптические β -адренорецепторы более чувствительны к адреналину, чем к норадреналину; поэтому уровни содержания циркулирующего в крови адреналина могут стимулировать пресинаптические β -адренорецепторы, тем самым увеличивая высвобождение норадреналина и усиливая симпатическую нейротрансдукцию.

Пресинаптические холинергические рецепторы. Несмотря на то, что было описано как угнетающее, так и усиливающее действие ацетилхолина на высвобождение

норадреналина, угнетающее действие первого, опосредуемое через мускариновый холинергический рецептор, происходит при более низких его концентрациях и, вероятно, имеет большое физиологическое значение. Это периферическое угнетающее действие ацетилхолина на адренэргическую нейротрансдукцию может усиливать реципрокные изменения центральных парасимпатических и симпатических эфферентных импульсов, возникающих при регуляции различных физиологических реакций.

Метаболизм серотонина и физиология серотониновых рецепторов. Серотонин образуется из аминокислоты триптофана путем её последовательного 5-гидроксилирования ферментом 5-триптофангидроксилазой (в результате чего получается 5-гидрокситриптофан, 5-ГТ) и затем декарбоксилирования получившегося 5-гидрокситриптофана ферментом триптофандекарбоксилазой. 5-триптофангидроксилаза синтезируется только в некоторых серотонинергических нейронах, гидроксилирование происходит в присутствии ионов железа и кофактора птеридина.

Рецепторы серотонина. Рецепторы серотонина представлены как метаботропными, так и ионотропными. Всего насчитывается семь типов таких рецепторов, 5-НТ 1–7, причем 5-НТ 3 — ионотропные, остальные — метаботропные, семидоменные, G-белок-сцепленные. Установлено сходство метаботропных 5-НТ рецепторов с рецепторами норадреналина [2].

5-НТ 1 — тип, насчитывающий несколько подтипов: 1А–Е, которые могут быть как пре-, так и постсинаптическими, — подавляет аденилатциклазу; 5-НТ 4 и 7 — стимулируют; 5-НТ 2, насчитывающий несколько подтипов (2А–С, которые могут быть только постсинаптическими), активирует инозитолтрифосфат. 5-НТ 5А подтип также подавляет аденилатциклазу [2].

Для некоторых типов рецепторов обнаружены эндогенные лиганды, помимо серотонина. Это, например, 5НТ-модулин (Leu-Ser-Ala-Leu), лиганд 1В и 1D пресинаптических рецепторов, индуктор тревожности и стресса [2].

Структура серотонина имеет сходство со структурой наркотика ЛСД. ЛСД действует как антагонист некоторых 5-НТ рецепторов и ингибирует синтез серотонина.

Метаболизм и катаболизм серотонина (рис. 2). Под действием моноаминоксидазы (МАО) серотонин превращается в 5-гидроксииндолальдегид, который, в свою очередь, может обратимо превращаться в 5-гидрокситриптофол под действием алкогольдегидрогеназы. Необратимо 5-гидроксииндолальдегид под действием ацетальдегиддегидрогеназы превращается в 5-гидроксииндолуксусную кислоту, которая затем выводится с мочой и калом.

Серотонин является предшественником мелатонина, образующегося под действием фермента эпифиза арилалкиламин-N-ацетилтрансферазы (АНАТ) в эпифизе.

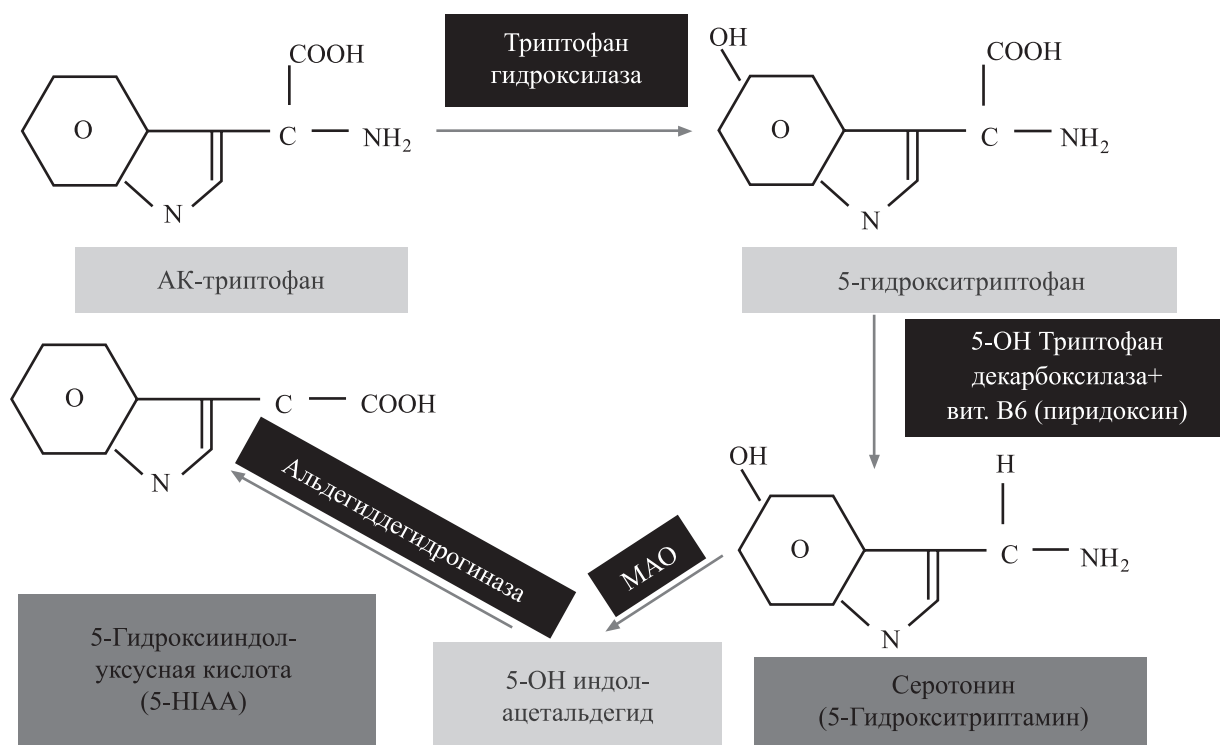


Рис. 2. Биосинтез и метаболизм серотонина

Также, превращаясь с помощью MAO в 5-гидроксииндол-3-ацетальдегид, он может под действием альдегидредуктазы превратиться в триптофол, а под действием ацетальдегидгидрогеназы-2 — в оксииндолуксусную кислоту (5-HIAA).

Серотонин может принимать участие в формировании эндогенных опиатов, вступая в реакцию с ацетальдегидом с образованием гармалола.

Методы проведения анализа метаболитов катехоламинов и серотонина (гомованилиновой, ванилилминдалевой и 5-гидроксииндолуксусной кислоты)

В настоящее время известен ряд методик определения данных метаболитов, а именно иммуноферментный анализ, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) [11] и газовая хроматография — масс-спектрометрия (ГХ-МС) [10, 12]. Диагностика разных стадий различных наркоманий по изменению метаболизма катехоламинов и серотонина должна быть очень чувствительной. Для выявления таких изменений различные иммуноферментные методы не подходят, так как они являются недостаточно информативными. Поэтому для выявления изменений концентраций метаболитов катехоламинов и серотонина нужны более точные чувствительные методы их определения, такие как ВЭЖХ и ГХ-МС.

Газовая хроматография — масс-спектрометрия (ГХ-МС, GC-MS)

Методика и процесс проведения анализа

1. Отбор проб. Для нашего исследования образцами служила суточная моча пациентов с наркотической зависимостью. В качестве консерванта использовалась 6 норм. HCL. После сбора суточной мочи 100 мл мочи отбирается в пластиковый контейнер с крышкой, указывается диурез и направляется на анализ. Хранится проба при -20°C .
2. В процессе пробоподготовки производилась процедура изоляции конечных метаболитов катехоламинов и серотонина (HVA, VMA, 5-HIAA) с использованием внутреннего стандарта — метилтестостерона.
3. Проводится собственно анализ на газовом хроматографе — масс-спектрометре фирмы Shimadzu GCMS QP-5050A с автоинжектором AOC-20i для определения концентрации соответствующего метаболита в моче по данным полученной масс-спектрограммы. После окончания процедуры измерения проб полученные данные анализируются с помощью компьютерной системы обработки данных CLASS-VP™ Chromatography Data System для газового хромато-масс-спектрометра, в результате чего получались искомые

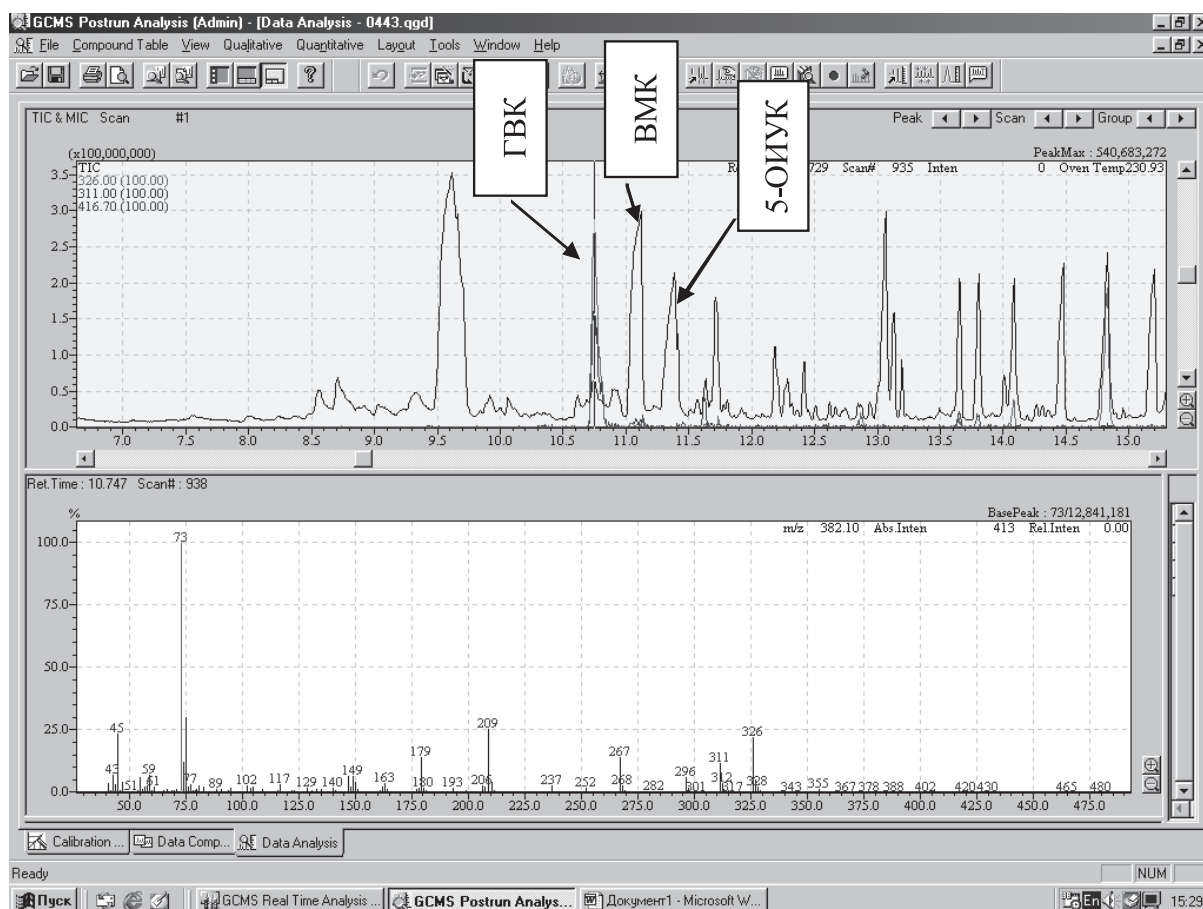


Рис. 3. Образец типичной картины полученных в результате анализа данных. ГВК (VMA) — гомованилиновая кислота, ВМК (HVA) — ванилилминдалевая кислота, 5-ОИУК (5-HIAA) — 5-гидроксииндолуксусная кислота

концентрации, которые позже обрабатывались программой статистической обработки данных. Типичные масс-спектрограммы показаны на рис. 3. В конечном итоге вычисляется концентрация определенного метаболита в моче в виде мг/сут.

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ, HPLC)

Методика и процесс проведения анализа

1. Отбор проб. Для нашего исследования образцами служила суточная моча пациентов с наркотической зависимостью. В качестве консерванта использовалась 6 норм. HCL. После сбора суточной мочи 100 мл мочи отбирается в пластиковый контейнер с крышкой, указывается диурез и направляется на анализ. Хранится проба при -20°C .
2. При проведении анализа в качестве стандартов использовались HVA (гомованилиновая кислота), VMA (ванилилминдальная кислота), 5-HIAA (5-гидроксииндолуксусная кислота) и iso-VMA (изо-ванилилминдальная кислота — внутренний

стандарт), которые были приобретены у компании Sigma-Aldrich. Стандартные растворы веществ (100 мг/л) были приготовлены разбавлением в соляной кислоте (10 ммоль/л, производство Россия, Химмед) и хранились при температуре 4°C , в таком состоянии они стабильны 6 месяцев. Рабочие растворы готовились разбавлением стандартного в 10 раз. Анализ проб производился на хроматографической системе «Shimadzu» (Япония), включающей в себя: переменноволновой спектрофотометрический детектор «Shimadzu SPD-10Avp» с объемом ячейки 8 мкл и длиной оптического пути 10 мм, системный контроллер «Shimadzu SCL-10Avp», два модуля подачи растворителя «Shimadzu LC-10ADvp».

3. Полученные данные анализировались с помощью программного обеспечения Shimadzu CLASS-VPTM Chromatography Data System Version 6.1 для анализа и идентификации хроматографических пиков. Типичная хроматограмма показана на рис. 4. В конечном итоге вычисляется концентрация определенного метаболита в моче в виде мг/сут.

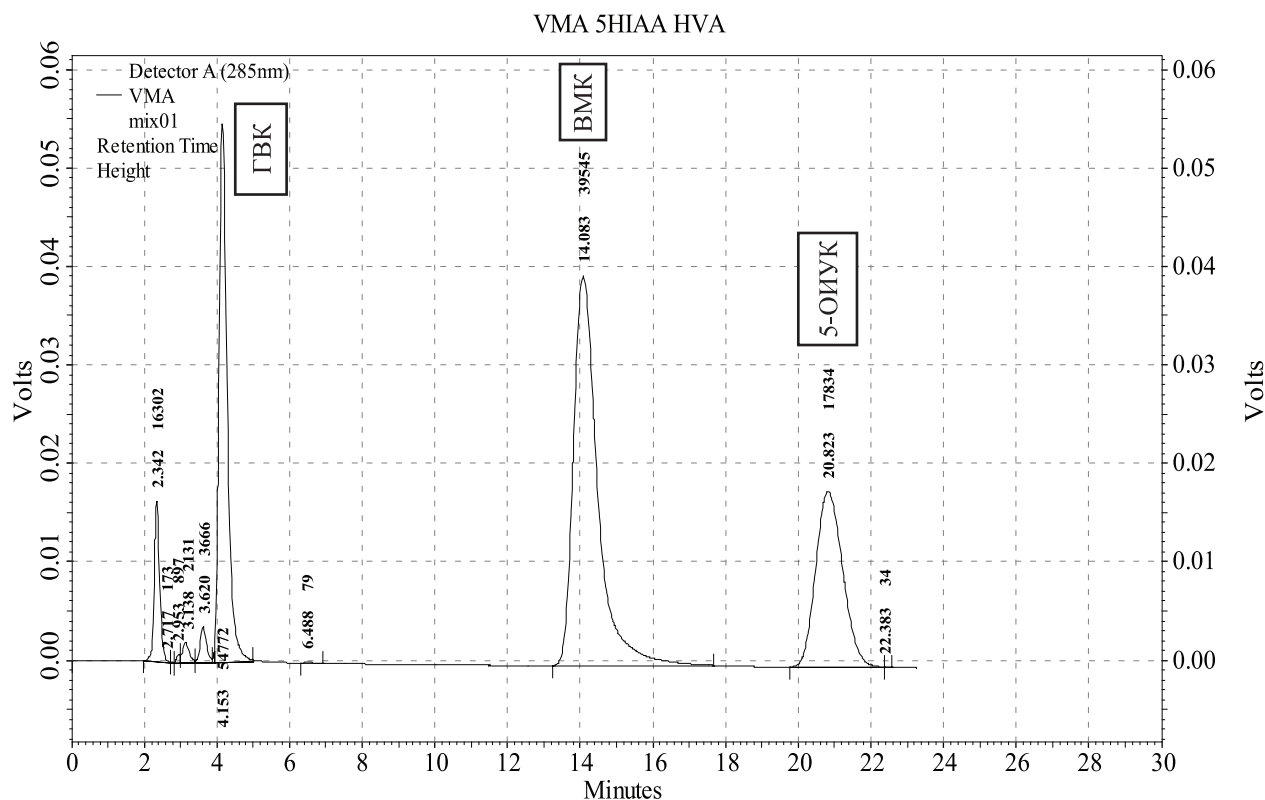


Рис. 4. Результаты, полученные методом ВЭЖХ, после обработки встроенной программой. ГVK (VMA) — гомованилиновая кислота, BMK (HVA) — ванилилминдалевая кислота, 5-ОИУК (5-HIAA) — 5-гидроксииндолуксусная кислота

В ходе работы выяснилось, что наиболее точным методом определения основных метаболитов катехоламинов и серотонина является метод газовой хроматографии — масс-спектрометрии. Анализ полученных данных представлен ниже.

Влияние различных наркотических веществ на метаболизм адреналина, норадреналина и серотонина

1. Героин и другие опиаты. Проведенные исследования показывают, что при употреблении героина и других наркотических веществ из группы опиатов в первый день потребления (после периода ремиссии) уровень всех катехоламинов и их метаболитов имеет тенденцию к увеличению выше их базальной концентрации. Однако в последующие дни непрерывной опиатной интоксикации для разных катехоламинов и их метаболитов паттерны изменения их концентраций начинают различаться. Уровни норадреналина и норметанефрина остаются повышенными постоянно в течение всего периода опиатной интоксикации [3]. Адреналин же повышается в раннюю фазу опиатной интоксикации, но возвращается к нормальным значениям в позднюю фазу [3]. После резкого повышения в первые дни употребления опиатов в средненаркотических дозах уровень метанефрина понижается, и в более поздней фазе опи-

атной интоксикации его уровень может становиться ниже нормального базального уровня. Что же касается метаболитов катехоламинов, то уровень 3-метокси-4-гидрокси-миндальной кислоты (VMA) после его повышения в первый день героинового потребления в дальнейшем медленно возвращается приблизительно к нормальным значениям [3].

Для экскреции с мочой катехоламинов и их метаболитов при употреблении опиатов характерны следующие закономерности. Экскреция 3-метокси-4-гидроксибензилгликоля (MHPG) повышается примерно у 40% субъектов, употребляющих опиаты [3, 4, 5]. Экскреция норметанефрина повышается, а выделение метанефрина понижается у 99% опиатных наркоманов [3]. Также показано, что при константной или развивающейся толерантности к опиатным наркотикам экскреция MHPG повышается практически у всех больных наркоманией [3]. Причем при последующих периодах ремиссии уровень экскреции MHPG остается повышенным, и при повторении цикла опиатной интоксикации она увеличивается еще больше, что указывает на эффект антиципации опиатных наркотиков на выделение с мочой данного катехоламинового метаболита [3].

Все вышеприведенные данные особенно выражены у наркоманов, употребляющих самый сильный опиатный наркотик — диацилморфин (героин). Возможно,

это связано с тем, что диацетилморфин и его непосредственный метаболит — 6-моноацетилморфин (6-МAM), обладая большей липофильностью, чем другие опиаты (из-за наличия ацетильных групп), быстрее проникает через гематоэнцефалический барьер с последующей активацией μ 1- и μ 2-опиатных рецепторов [6].

В нашей работе показано, что у больных с героино-вой зависимостью в стадии абстиненции повышены все три основных метаболита катехоламинов (гомованилиновая кислота, ванилилминдальная и 5-гидроксииндолуксусная кислоты).

Интересно также отметить, что некоторые морфиноподобные лекарственные вещества (например, (–)N-аллил-14-оксинордигидроморфинон или налоксон), которые действуют на организм гораздо мягче героина, могут вызывать общую активацию симпатoadrenalовой системы за счет увеличения синтеза 3',5' цАМФ, при этом наблюдается повышение концентраций как норадреналина и его метаболитов (например, 3,4-дигидросифенилуксусной кислоты), так и дофамина, причем снижается эффективность лекарственных веществ из группы бета-адреноблокаторов, таких как пропранолол. Таким образом, катехоламинергические синапсы, особенно в сердце, и, соответственно, катехоламины и их метаболиты играют существенную роль в изменении сердечных функций в период опиатного абстинентного синдрома [7].

Таким образом, анализ концентраций катехоламинов и их метаболитов в крови и исследование изменения их выделения с мочой различными методиками можно использовать для диагностики опиатных наркоманий.

2. Амфетамины. Интересная взаимосвязь изменения концентрации катехоламинов и их метаболитов показана для некоторых наркотических веществ из группы амфетаминов. В частности, имеется ряд исследований касательно 3,4-метилendioксиметамфетамина (MDMA, или экстази) [7]. Показано, что у человека и у крыс данный наркотик в печени подвергается N-диметелированию до 3,4-метилendioксиамфетамина (MDA), который также вызывает наркотическую зависимость. Оба вещества далее подвергаются O-диметелированию до N-метил-альфа-метилдопамина (N-Me- α -MeDA) и альфа-допамина (α -MeDA) — веществ, являющихся дериватами катехоламинов [8]. Данные метаболиты, воздействуя на допаминовый рецепторный аппарат, могут, кроме непосредственного нейротоксического эффекта, вторично повышать уровень адреналина, норадреналина и их метаболитов в крови, что можно использовать для диагностики данной наркомании.

Нами показано, что у больных с амфетаминовой зависимостью в стадии абстиненции повышена концентрация основных метаболитов адреналина, норадреналина и дофамина — ванилилминдалевой и гомованилиновой кислоты.

Что касается влияния метаболитов амфетаминов на уровень дофамина и серотонина в организме, то тут наблюдаются следующие закономерности, полученные на крысах [9]. Однократное введение дозы амфетамина порядка 1,0–9,0 мг/кг значительно повышает уровень дофамина, но не изменяет уровень серотонина (5-НТ). Однократное же введение MDA или MDMA в дозах 1,0–9,0 мг/кг вызывает увеличение уровней как серотонина, так и дофамина, причем степень этого увеличения коррелирует с дозой [9]. С клинической точки зрения это свидетельствует о том, что галлюциногенный эффект амфетамина и его производных связан преимущественно с дофаминергическими механизмами. Это означает, что для диагностики амфетаминовой наркомании необходимо преимущественно исследовать уровни катехоламинов и их метаболитов в крови, но не серотонина, изменение концентрации которого фактически является вторичным [9].

Заключение

Таким образом, мы рассмотрели роль метаболитов адреналина, норадреналина и серотонина в диагностике наркоманий. Почти для всех основных наркотических зависимостей метаболиты катехоламинов и серотонина играют ключевую роль в диагностике, что позволяет использовать их в клинко-лабораторной практике.

На кафедре «Клинической лабораторной диагностики ФУВ» РГМУ налажена методика определения катехоламинов в крови, моче, а также основных метаболитов катехоламинов и серотонина — гомованилиновой, ванилилминдалевой и 5-гидроксииндолуксусной кислот с применением хромато-масс-спектрометрических систем. Наши исследования, также как и данные научной литературы, свидетельствуют о высокой диагностической эффективности этих современных высокотехнологичных методов лабораторной медицины в наркологии.

Литература

1. Shoptaw S.J., Kao U., Heinzerling K., Ling W. Treatment for amphetamine with drawal Cochrane // Database Syst. Rev., 2009, Apr. 15; (2): CD003021.
2. Nelson D.L. "5-HT₅ receptors". Current drug targets // CNS and neurological disorders, 2004 — 3 (1): 53–8.
3. Schildkraut J.J., Meyer R.E., Orsulak P.J., Mirin S.M., Roffman M., Platz P.A., Grab E., Randall M.E., McDougale M. The effects of heroin on catecholamine metabolism in man // Natl. Inst. Drug Abuse Res. Monogr. Ser., 1975; (3): 137–145.
4. Иванец Н.Н., Анохина И.П., Винникова М.А. Опыт применения антаксона при лечении опийной наркомании. — М., 2000. — 29 с.
5. Анохина И.П., Иванец Н.Н., Веретинская А.Г., Винникова М.А. Влияние антаксона на клинические симптомы и нейрохимические процессы при героиновой наркомании // Вопросы наркологии: Научно-практический журнал, 2004. — № 3. — С. 3–9.
6. Физиология человека Compendium / Под редакцией академика РАМН Б.И. Ткаченко и проф. В.Ф. Пятин. — 2-е издание, ис-

правленное и переработанное. — Самара: Самарский дом печати, 2002. — 416 с.

7. Milanés M.V., Fuente T., Laorden M.L. Catecholaminergic activity and 3',5'-cyclic adenosine monophosphate levels in heart right ventricle after naloxone induced with drawal // Naunyn-Schmiedeberg Arch. Pharmacol., 2000 Jan; 361(1): 61–6.

8. Capela J.P., Macedo C., Branco P.S., Ferreira L.M., Lobo A.M., Fernandes E., Remiro F., Bastos M.L., Dirnagl U., Meisel A., Carvalho F. Neurotoxicity mechanisms of thioether ecstasy metabolites // Neuroscience. 2007, Jun 8; 146(4): 1743–57.

9. Kankaanpää A., Meririnne E., Lillsunde P., Seppälä T. The acute effects of amphetamine derivatives on extracellular serotonin and dopamine levels in rat nucleus accumbens // Pharmacol. Biochem. Behav., 1998, Apr; 59(4): 1003–9.

10. Swahn C.-G., Sandgärde B., Wiesell F.-A., Sedvall G. Simultaneous determination of the three major monoamine metabolites in brain tissue and body fluids by a mass fragmentographic method // Psychopharmacology. — Volume 48. — Number 2 January, 1976.

11. Kwang Suk Ryoo, Jong Soon Yang. The simultaneous determination of HVA, VMA and 5-HIAA by GC/MS // Seoul Clinical Laboratory, 1, 1996: scl121–125.

12. Glroni A., Seghieri G., Niccolai M., Mammini P. Simultaneous Liquid-Chromatographic Determination of Urinary Vanillylmandelic Acid, Homovanillic Acid, and 5-Hydroxyindoleacetic Acid // Clin. Chem. 34/12, 2504–2506 (1988).

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНЫЙ
КОНСИЛИУМ

ПО ВОПРОСАМ СОТРУДНИЧЕСТВА И РАЗМЕЩЕНИЯ РЕКЛАМЫ



в научно-практическом журнале
«Клинико-лабораторный консилиум»
просим обращаться в редакцию:

Эмануэль Владимир Леонидович

e-mail: vladimirem1@gmail.com

моб. тел. 8-905-229-60-22

Чередниченко Денис Владимирович

e-mail: cheredni1@gmail.com

тел./факс (812) 233-97-26

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРЕДИКЦИИ СУИЦИДАЛЬНОГО ПОВЕДЕНИЯ ПОДРОСТКОВ

В.А. РОЗАНОВ

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова

Резюме. Современное понимание траектории развития суицидального поведения основано на синтезе психологических, социальных и биологических факторов, включая генетические особенности, события раннего периода жизни, развитие личности и комплексное взаимодействие генов и внешней среды. Подобное понимание может быть полезным для построения стратегий предотвращения различных поведенческих нарушений, в том числе суицидальных попыток у подростков и молодых людей. В последнее время значительное внимание уделяется генетическим маркерам предрасположенности к суицидам, дифференцированной роли стрессовых ситуаций в раннем и более поздних периодах жизни, а также особенностям поведения родителей. Всё это дополняет известные концепции факторов риска суицида и способствует более эффективному предотвращению суицидального поведения. Таким образом, существует необходимость более комплексного подхода к факторам, влияющим на суицидальное поведение, с учетом взаимодействия генетических и средовых факторов, а также комплексных взаимодействий между генетическими особенностями, личностью и социальной средой.

Ключевые слова: суицидальное поведение, предсказательные модели, нейробиология, генетические маркеры, средовой импринтинг, эпигенетическое программирование.

ON PERSPECTIVES OF PREDICTION OF SUICIDAL BEHAVIOR IN TEENAGERS

VSEVOLOD A. ROZANOV

Odessa National Mechnikov University

Summary. Modern understanding of developmental trajectory of suicidal behavior is based on psycho-socio-biological synthesis, considering genetic make-up of the organism, early life adversities, personality development and complex interactions between genes and environment. This can be helpful in building strategies of prediction of wide range of conduct disorders including suicide attempts in teenagers and young people. Growing knowledge on genetic markers of suicidality, differential role of life stress at early and later ages and parental style epigenetic imprinting add to existing concepts of risk factors of suicide and can provide for better prediction of suicidal behavior. It can be based on more complex models that encounter many dimensions influencing suicidality, genes-environments interplay and complex interrelations between genes, personality and social interactions.

Key words: suicidal behavior, neurobiology, genetic markers, environmental imprinting, epigenetic programming, predictive models.

В последние 20–30 лет частота различных антисоциальных и саморазрушающих форм поведения среди подростков растет, причем как в развитых, так и в развивающихся странах. Специалисты, занимающиеся проблемами психического здоровья детей, рассматривают разнообразные проявления насилия и жестокости, а также суицидальности, антисоциальных действий и других поведенческих расстройств в подростковой среде как неадаптивные проявления агрессии, присущие определенной части детской популяции [1]. Особую тревогу вызывает рост числа самоубийств и суицидальных попыток среди детей (лиц в возрасте до 18 лет включительно, по современной классификации), которые можно рассматривать как агрессию, направленную на самого субъекта [2]. Эти тенденции наносят ущерб обществу в целом и внушают страх и беспокойство значительной части девушек и юношей, о чем свидетельствуют опросы в подростковой среде [1]. Важнейшей

задачей в связи с этим является превенция суицидальных проявлений у подростков, эффективность которой существенно зависит от возможности предсказывать вероятность такого поведения у конкретного ребенка, что на данном этапе очень затруднительно. Однако современное понимание нейробиологических (генетических) механизмов формирования суицидального поведения позволяет надеяться на некоторый прогресс на этом направлении.

Применительно к детям все смерти, случающиеся в возрасте до 13 лет и имеющие признаки самоубийства, по мнению многих авторов, следует рассматривать как несчастные случаи, поскольку считается, что детям незнакомо понимание собственной смерти, и поэтому снимается сама сущность самоубийства [3]. К счастью, такие случаи достаточно редки (не более 1% от числа всех покончивших с собой в данной популяции) [4]. Эти случаи часто имеют кластерный характер, т. е. индуци-

рованы соответствующими формами поведения значимых людей (например, самоубийствами молодежных кумиров или сообщениями в СМИ об аналогичных случаях с подростками) [5]. В то же время, среди подростков весьма распространены суицидальные попытки, т. е. самоповреждения различной степени намеренности и тяжести медицинских последствий, осуществляемые наиболее приемлемыми в данной культуре способами. По нашим данным, это прежде всего самоотравления лекарственными препаратами и самопорезы, вместе составляющие 95% всех попыток. В общей сумме регистрируемых суицидальных попыток случаи с подростками (до 18 лет) составляют около 10% [6]. Эти проявления представляют серьезную семейную и школьную проблему и поэтому требуют углубленного анализа и профилактических мер, поскольку предрасполагают к суициду. В связи с этим остро стоит вопрос о возможности предикции такого рода поведения среди подростков, как на основе психологических наблюдений или тестов, так и на основе выявления биологических механизмов и разработки соответствующих диагностических подходов.

Мотивы, формы и виды суицидального поведения вообще и среди подростков в частности чрезвычайно разнообразны, неоднородны. В силу этого можно обсуждать лишь некие общие модели, позволяющие приблизиться к пониманию причин такого поведения. В настоящее время приоритет имеют интегрирующие социо-психо-биологические модели, учитывающие три основных измерения — социум (включая в первую очередь микросоциум — семью), индивидуум и личность (особенности личностной структуры, психологические характеристики, склонность к тем или иным формам поведения, когнитивные стили, поведенческая и психологическая устойчивость к стрессам, способность преодолевать трудности и т. д.) и биологические предрасположенности (психофизические данные, темперамент, нейробиологические механизмы и лежащие в их основе генетические факторы). Примером такой модели является модель Дануты Вассерман, базирующаяся на концепции уязвимости к стрессам и влиянии факторов риска и устойчивости. Согласно этой модели, суицидальный процесс разворачивается во времени на фоне биологических предрасположенностей под влиянием социальных и личностных стрессоров в условиях защиты протективными факторами преимущественно социального порядка [7]. Все модели являются значительным упрощением, поскольку перечисленные факторы всегда взаимозависимы и взаимодействие между ними носит очень сложный характер.

Переходя собственно к проблеме разработки каких-либо предсказательных тестов, следует отметить следующее. Социально-этнические факторы (тесно связанные с этно-психологическими) «работают» только на уровне статистических данных. Так, мы можем утверждать, что существуют исторически устойчивые различия между,

например, мусульманскими странами, где уровень самоубийств приближается к нулю, и странами Балтии (где уровень самоубийств максимальный в мире) или славянскими странами, характеризующимися устойчиво высокими уровнями [8]. При обсуждении причин наблюдающихся различий обычно рассматриваются культурные традиции, степень сплоченности общества и, в особенности, религиозная принадлежность. На уровне отдельной личности эти факторы не обладают никакой предсказательной силой, но могут приниматься во внимание при оценке общей ситуации. Вытекающие из статистики иные групповые закономерности повышенного риска — принадлежность к мужскому (самоубийство) или к женскому (попытки) полу, возраст, нетрадиционная сексуальная ориентация, наличие того или иного поведенческого расстройства — также должны учитываться, хотя их роль на уровне отдельной личности оценить трудно. Каждый из этих факторов вносит свой вес в суммарный теоретический риск, который может никогда не быть реализован.

Если говорить об индивидуальном уровне, то совершенно естественно обратить внимание на особенности личности суицидентов. Несмотря на то, что среди совершающих суицидальные попытки часто встречается повышенная выраженность такой личностной черты как нейротизм (негативная эмоциональность, тревога, стресс-уязвимость, склонность к депрессии и рефлексии) и такой черты как интроверсия, на сегодняшний день можно констатировать, что не выявлено никаких специфических личностных черт или их сочетаний, которые более или менее ясно указывали бы на склонность к самоубийству [9]. Никакими психологическими тестами такая склонность выявлена быть не может. Применяемые в военизированных структурах тесты типа «Прогноз» могут лишь выявить некоторые предрасполагающие факторы риска или оценить, насколько подросток в своей жизни имел возможность столкнуться с проявлениями суицидального поведения и, следовательно, может его копировать при неблагоприятных жизненных обстоятельствах.

Наибольшие надежды на получение неких предсказательных данных в последнее время возлагается на биологические (а среди них — на генетические) маркеры суицидального поведения. При этом необходимо учитывать, что суицидальность в значительной части случаев является «осложнением» того или иного психического расстройства (чаще всего — аффективного), но в то же время суицидальное поведение может иметь свои собственные нейробиохимические механизмы, поскольку оно встречается при расстройствах и состояниях различного спектра. Исследования, проведенные в последние десятилетия, позволяют утверждать, что к реализации суицидальных действий могут иметь отношение как нейрональные, так и немозговые (прежде всего эндокринные) факторы. Из числа нейрональных биохимических механизмов на первом месте стоит серотонинерги-

ческая система мозга, в частности, в такой важнейшей области мозга как префронтальная кора, имеющей непосредственное отношение к структуре личности, поведенческим стратегиям, перспективному планированию и рассудочному управлению. Кроме того, система серотонина в коре и в других отделах мозга имеет отношение к самым разным формам поведения и эмоциям — агрессии, депрессии, тревоге, страху, пищевому и половому поведению. Она также каким-то образом задействована в механизмах шизофрении. Основным доказанным изменением серотониновой системы при суицидальности является ее дефицит в лобных отделах мозга. Считается, что депрессивное настроение, а также поведенческая дисрегуляция и расторможенность, сопровождающие этот дефицит, вносят ведущий вклад в суицидальность. Специфика серотониновой регуляции в мозге лиц с суицидальными тенденциями подтверждена современными методами нейровизуализации (фМРТ, ПЕТ и т. д.) и считается генетически обусловленной чертой [10–12].

Другими важнейшими мозговыми системами, имеющими отношение к суицидальности, являются дофаминергическая и норадренергическая. Первая из них (в мезолимбических структурах), как полагают, при той или иной степени истощения становится причиной ангедонии (неспособности испытывать удовлетворение от повседневной деятельности и, соответственно, депрессии), дефицит второй (в нейронах голубого пятна) — причиной тревоги, беспокойства, неадекватной реакции на стрессовые ситуации. Причину нарушений этих систем усматривают в стрессовых влияниях. Не столь однозначно расценивается роль ГАМК-ергической системы мозга, которая также может иметь отношение к развитию депрессии. В связи с такой распространенной чертой суицидентов, как склонность к обобщенным воспоминаниям, нарушения автобиографической памяти и навыков преодоления неприятностей, активно изучаются глутаматергическая и ГАМК-ергическая системы гиппокампа, непосредственно вовлеченного в процесс запоминания, и нейрональные системы миндалевидного тела, отвечающего за эмоциональные воспоминания, страх и тревогу [13–15].

Оценка состояния перечисленных систем производится по ряду косвенных признаков, или является возможной в результате клинических наблюдений (спинальная пункция), в плане возможности осуществления простых тестов эти признаки и наблюдения пока бесперспективны. Исследования с нейровизуализацией (например, фМРТ, позволяющая выявлять разнообразные нарушения серотониновой системы в префронтальной коре) пока очень дороги и неприемлемы при массовых обследованиях. Тем не менее, когда речь заходит о биологических маркерах суицидального поведения, именно дефицит 5-гидроксииндолилацетата — основного метаболита серотонина в спинно-мозговой жидкости — рассматривается как наиболее надежный критерий [16]. Однако его использование возможно только в клини-

ческих условиях. Попытки судить о состоянии серотониновой медиации в мозге по показателям связывания серотонина тромбоцитами ни к чему не привели [17].

В плане поиска генетических маркеров склонности к суицидальному поведению в настоящее время проводятся разнообразные исследования, в которых те или иные формы суицидальности (мысли, попытки или самоубийство) рассматриваются как фенотип, биологические механизмы (перечисленные выше и иные) — как эндофенотипы. При этом поиск идет по пути выявления генных полиморфизмов, с той или иной степенью статистической вероятности связанных с указанным поведением. Эти исследования требуют больших выборок, моноэтнических групп и учета огромного числа приводящих факторов психо-социального характера. Основной проблемой является неопределенность и размытость фенотипа. Это в меньшей степени касается исследований завершённых самоубийств, в которых анализу подвергается аутопсийный материал и часто исследуется еще и экспрессия определенных генов. В последнем случае сложности связаны с посмертными изменениями, неопределенностью сроков смерти и т. д.

При изучении генетических маркеров суицидального поведения в основном исследуются гены, так или иначе связанные с упомянутыми выше медиаторными системами, системами нейро-эндокринной регуляции или иными регуляторными механизмами (например, связывающими иммунный ответ, регуляцию клеточного цикла, апоптоз и канцерогенез в мозге). Значительный объем информации в этой области недавно был обобщен в обзорах [18–20]. Перспективы прямого использования полученных данных очень отдаленные — многие изученные гены связаны с разными расстройствами, а суицидальные проявления имеют полигенную основу. Похоже, что неблагоприятные варианты большого набора генов формируют определенную напряженность биологических механизмов (эндофенотипов) и создают их носителям целый спектр проблем — депрессию, тревогу, агрессивность, поведенческие расстройства, неспособность приспосабливаться, и как результат — суицидальность. Однако наличие этого условного набора еще не является определяющим, значительную роль играют неблагоприятные сигналы внешней среды — стрессовые воздействия, т. е. главным образом социальные интеракции, поскольку очень часто самыми сильными стрессовыми факторами для подростков являются проблемы взаимоотношений со сверстниками и родителями.

Системе реализации стресс-реакции в современной «биологической суицидологии» уделяется особое внимание. Наиболее активно изучается т. н. гипоталамо-гипофизарно-адреналовая ось — одна из трех нейро-эндокринных осей, активизирующихся при хроническом повреждающем стрессе [21]. Данная система привлекает внимание в связи с тем, что практически все ее компоненты (кортикотропин-релизинг-гормон, АКТГ и кортизол) могут быть обнаружены в крови, слюне или

моче. Существуют простые тесты на сохранение внутреннего механизма обратной связи, лежащего в основе регуляции этой системы (дексаметазоновый супрессорный тест). Но в большей степени перспективность данной системы определяется тем, что результаты целого ряда исследований в последние годы позволили по-новому посмотреть на роль стресса в генезе суицидальности и тесно перекрывающихся с суицидальностью психопатологий, в частности депрессии, посттравматического стрессового расстройства, антисоциального расстройства личности и некоторых других.

В результате этих исследований сформировались важные представления о значении стрессовой травматизации ребенка в определенные периоды его развития. Психиатрии и психодинамической психологии давно была понятна роль ранней детской травмы в генезе различных психопатологий, однако с появлением новых данных стали понятны и биологические механизмы этой травматизации. Исследования периодизации стресса дают основание для следующих выводов. Если стресс имеет хронический и множественный характер — это является основанием для плохого психического здоровья в целом и сопутствует индивидууму всю его жизнь в самых разных формах (неврозы, психопатии, аддикции, психические расстройства). Пренатальный стресс преимущественно влечет за собой негативное программирование функций гиппокампа, амигдалы, фронтальной коры — отсюда проблемы когнитивной сферы, личностные девиации, тревога, страхи. Стресс в детском возрасте на фоне преимущественной уязвимости гиппокампа, в котором большую роль играют глутамат-зависимые процессы потенциации, порождает когнитивные дефициты, ранние школьные проблемы, неуспеваемость и т. д. Стресс в подростковом возрасте — это преимущественная уязвимость фронтальной и префронтальной коры, мезолимбики, отсюда проблемы взаимоотношений, личностные девиации, делинквентность, проблемы самооценки, аутоагрессия, аддикции, антисоциальное поведение. У взрослых и пожилых людей стресс означает торможение нейрогенеза, ослабление выживаемости нейронов, формируя вторичный когнитивный дефицит, нарушения аффективной сферы, агрессию и аутоагрессию [22, 23]. Естественно, наибольший интерес представляют механизмы повреждающего действия стресса в раннем и среднем детском возрасте, пока мозг окончательно созревает как биологическая система.

Психо-биологические исследования стресса выявили ключевую роль т. н. «окон», или «критических периодов» раннего развития, в течение которых травма становится особенно опасной и повреждающей. Механизмы повреждения связаны с прямым действием компонентов гипоталамо-гипофизарно-адреналовой оси (кортикотропин-релизинг-гормона, АКТГ и кортизола) на мозговые структуры. Кортизол, в частности, в комплексе со своими рецепторными белками выступает как транскрипционный фактор, изменяя работу генома

(в том числе меняя экспрессию генов в нейронах). Если эти ремоделирующие эффекты возникают на достаточно ранних стадиях развития, а стресс носит повреждающий характер (нарушение базовых потребностей в безопасности, отторжение родителями, разрыв связи с матерью прежде всего, заброшенность, невыполнение родителями своих обязанностей по заботе о ребенке, различные виды насилия), то следы этого стресса проявляют себя в физиологии последующего реагирования на стрессовые ситуации иного порядка. Уже во взрослом состоянии такие индивидуумы реагируют на различные неблагоприятные жизненные ситуации целым набором проблем — интенсивной тревогой, беспокойством, депрессией, агрессивными и аутоагрессивными проявлениями. При этом в крови выявляются патологически высокие (но иногда и патологически низкие) концентрации кортизола и АКТГ. Эти закономерности (средовой или гормональный импринтинг) имеют общебиологический характер и обнаруживаются у крыс, приматов и человека [24–27].

Исследования последних лет показывают, что наличие тех или иных вариантов генов уязвимости еще не является основанием для возникновения поведенческих проблем, принципиально важное значение имеет взаимодействие генов и среды в процессе развития. Носители определенных генотипов, например, гомозиготные по варианту функционального полиморфизма промоторного участка гена серотонинового транспортера (длинного аллеля) с большей вероятностью дают клиническую депрессию при накоплении жизненных неприятностей, если в детстве они испытали повреждающий стресс. Аналогично, носители определенного полиморфизма, сцепленного с геном МАОА, при условии ранней детской травматизации, затем в период подросткового взросления с большей вероятностью формируют антисоциальное расстройство личности, а носители варианта гена нейрофилина, изменяющего связывание кортизола с его рецептором, при аналогичных условиях чаще получают диагноз посттравматического стрессового расстройства [29–31].

Такие данные пока еще довольно редки, поскольку требуют длительного наблюдения за большими когортами испытуемых, когда при рождении берется ДНК и весь дальнейший жизненный цикл в реальных неизменных условиях существования является предметом пристального наблюдения (число контактов с полицией, алкоголь, наркотики, суицидальные попытки, успехи или неудачи в школе и т. д.). Вероятно, в ближайшие годы появится большое количество таких данных, поскольку несколько первых работ в этом направлении имели большой научный и общественный резонанс. С другой стороны, растет число экспериментальных свидетельств и клинических наблюдений, из которых следует, что в основе гормонального импринтинга, о котором шла речь выше, лежат эпигенетические перестройки, связанные с метилированием ДНК и модификацией гистонов хроматина.

Таким образом, при изучении генетической детерминации поведения в процессе взаимодействия генов и среды возникают новые закономерности, связанные с тем, что мы имеем дело с поведением, которое активно вмешивается в это взаимодействие. Фактически мы имеем бесконечную череду выборов, бифуркаций, когда гены, подталкивая к тем или иным поступкам, получают либо подкрепление и фиксацию эффекта, либо не встречают такого подкрепления и не срабатывают по механизму эпигенов. При этом гены порой активно выбирают себе среду, в результате чего их носитель оказывается в той или иной жизненной ситуации. Имеет значение не только первичная детерминация (предрасположенность или уязвимость), но и эффекты среды, которые усиливают или ослабляют эту уязвимость. В последнем случае возникает сопротивляемость, устойчивость — случаи, когда в ужасных условиях вырастают стеничные и стремящиеся к успеху личности.

Таким образом, модели предрасположенности (стресс-уязвимости) подвергаются ревизии с точки зрения сложной ковариации генов и среды. В связи с этим предикация должна быть комплексной — она должна учитывать сразу множество факторов, таких как исходная генетическая предрасположенность, степень средового повреждения в раннем детстве, характер взаимодействия генов и среды, путь становления и развития личности, актуальный сформировавшийся тип реагирования в социуме, а также многие психо-социальные и личностные моменты, которым здесь уделено мало внимания (импульсивность, поиск новизны, пути саморегуляции и т.д.). Эти личностные характеристики также частично генетически обусловлены и формируются по тем же механизмам — в ходе сложного взаимодействия генотипов со средой. Они, а также детско-родительские взаимоотношения (транзакции, игры и смысловые послылы) представляют собой еще один важный механизм, который часто анализируется в отрыве от перечисленных выше, но который на самом деле тесно связан с предыдущими. Современная психогенетика претендует на то, чтобы объединить и по-новому объяснить фрейдистские и пост-фрейдистские психологические конструкты. Можно говорить о том, что социальные взаимодействия играют роль факторов, моделирующих работу половых гормонов и нейро-эндокринных стресс-реализующих систем по эпигенетическому механизму, за счет метилирования-деметиличивания ДНК или модификации белковых компонентов хроматина [32–35]. Этот механизм объясняет роль ранней травмы как события, в значительной степени определяющего жизненный сценарий, возможность усиления или коррекции этого сценария негативными и позитивными социальными и другими средовыми модуляциями, а также (при условии понимания путей трансгенерационной передачи эпигенетических маркеров) — возможности воспроизведения этого сценария в последующих поколениях.

Подводя итог, можно высказать предположение, что предикация суицидальности на ранних этапах развития — очень сложная, но принципиально выполнимая задача, хотя создаваемые модели не могут обладать большой предсказательной силой. Вероятно, она должна базироваться на сочетании биологических, социальных и личностных элементов и должна быть не прямой — можно исходить из того, что наследуется все же не суицидальность как таковая, а целый набор характеристик (эндофенотипов), которые могут, в свою очередь, послужить основой для суицидальности. Это требует разработки более сложных моделей, основанных на 1) множественности и сложном взаимодействии генетических маркеров уязвимости; 2) оценке состояния стресс-реализующих систем организма; 3) выявлении вероятной степени раннего стрессового (гормонального) импринтинга; 4) стандартной оценке степени риска. Таким образом, речь может идти о био-психо-социальном синтезе на уровне предсказательных моделей, базирующихся на использовании статистической, социальной, генетической и физиологической информации.

Применительно к подросткам, когда речь идет чаще всего о суицидальных попытках, эта задача даже более реалистична, поскольку самоповреждения у подростков тесно коррелируют с иными проявлениями — конфликтностью, некоммуникабельностью, импульсивностью, личностными девиациями, антисоциальными проявлениями. Разработка набора предикторов (оценок факторов риска) возможна на основе соответствующих комплексных лонгитюдных исследований при учете перечисленных факторов — социальных, психологических и биологических.

Литература

1. Коннор Д. Агрессия и антисоциальное поведение у детей и подростков. Исследования и терапевтические стратегии. — СПб.: Прайм-ЕВРОЗНАК, 2005. — 288 с.
2. Nock M., Marzuk P.K. Suicide and violence. — In.: The International Book of Suicide and Attempted Suicide / Ed. K. Hawton & K. van Heeringen. — Chichester, NY, etc.: John Wiley & Sons, 2000. — P. 438–456.
3. Юрueva Л.Н. Клиническая суицидология. — Днепропетровск: Пороги, 2006. — 470 с.
4. Розанов В.А., Захаров С.Е., Кривда Г.Ф., Пирожено Л.А. Завершенные самоубийства в Одесском регионе за период 2000–2003 гг. // Український вісник психоневрології. — 2006. — Т. 14, вып. 46. — С. 92–95.
5. Schmidtke A., Schaller S. The role of mass-media in suicide prevention. — In.: The International Book of Suicide and Attempted Suicide / K. Hawton & K. van Heeringen. — Chichester, NY, etc.: John Wiley & Sons, 2000. — P. 675–697.
6. Розанов В.А., Захаров С.Е., Жужуленко П.Н., Кривда Г.Ф. Данные мониторинга суицидальных попыток в г. Одессе за период 2001–2005 гг. // Социальная и клиническая психиатрия. — 2009. — Т. 19, вып. 2. — С. 35–41.
7. Wasserman D. (Ed.) Suicide. An unnecessary death. — London: Martin Dunitz, 2001. — 287 p.
8. Bertolote J., Fleischmann A. A global perspective on the magnitude of suicide mortality. In: Oxford Textbook on Suicidology

and Suicide Prevention / Ed. D. Wasserman, C. Wasserman. — New York: Oxford University Press, 2009. — P. 91–98.

9. Williams M., Pollock L.R. The psychology of suicidal behavior. — In: The International Book of Suicide and Attempted Suicide / Ed. K. Hawton & K. van Heeringen. — Chichester, NY: John Wiley & Sons, 2000. — P. 79–94.

10. Mann J.J., Currier D. A review of prospective studies of biological predictors of suicidal behavior in mood disorders // Archives of Suicide Research. — 2007. — V. 11. — P. 3–16.

11. Mann J.J. Neurobiology of suicidal behavior // Nature Reviews Neuroscience. — 2006. — V. 4. — P. 819–828.

12. Oquendo M.A., Gibbs T., Parsey R. Neuroimaging of suicidal behavior. — In.: Oxford Textbook on Suicidology and Suicide Prevention / Ed. D. Wasserman, C. Wasserman. — NY: Oxford University Press, 2009. — P. 341–347.

13. Nemeroff C.B., Vale W.W. The neurobiology of depression: inroads to treatment and new drugs discovery // Journal of Clinical Psychiatry. — 2005. — V. 66 (suppl. 7). — P. 5–13.

14. Arango V., Underwood M.D., Mann J.J. Fewer pigmented locus coeruleus neurons in suicide victims: preliminary results // Biological Psychiatry. — 1996. — V. 39. — P. 112–120.

15. Campbell S. Lower hippocampal volume in patients suffering from depression: a meta-analysis // American Journal of Psychiatry. — 2004. — V. 161, N 4. — P. 598–607.

16. Mann J.J., Currier D. Biological predictors of suicidal behavior in mood disorders. — In.: Oxford Textbook on Suicidology and Suicide Prevention / Ed. D. Wasserman, C. Wasserman. — New York: Oxford University Press, 2009. — P. 336–339.

17. Muller-Oerlinghausen R., Roggenbach J., Franke L. Serotonergic platelet markers of suicidal behavior — do they really exist? // Journal of Affective Disorders. — 2004. — V. 79. — P. 13–24.

18. Bondy B., Buettner A., Zill P. Genetics of suicide // Molecular Psychiatry. — 2006. — V. 11. — P. 336–351.

19. Rujesky D., Thalmeier A., Moller H.-J., Bronisch T., Giegling I. Molecular genetics findings in suicidal behavior: what is beyond the serotonergic system? // Archives of Suicide Research. — 2007. — V. 11. — P. 17–40.

20. Wasserman D., Sokolowski M., Wasserman J., Rujesku D. Neurobiology and genetics of suicide. In: Oxford Textbook on Suicidology and Suicide Prevention / Ed. D. Wasserman, C. Wasserman. — NY: Oxford University Press. — 2009. — P. 165–182.

21. Charmandari E., Tsigos C., Chrousos G. Endocrinology of the stress response // Annual Review of Physiology. — 2005. — V. 67. — P. 259–284.

22. Charmandari E., Kino T., Souvatzoglou E., Chrousos G.P. Pediatric stress: hormonal mediators and human development // Hormones Research. — 2003. — V. 59, N 4. — P. 161–179.

23. Lupien S.J., McEwen B.S., Gunnar M.R., Heim C. Effects of stress throughout the lifespan on the brain, behaviour and cognition // Nature Reviews Neuroscience. — 2009. — V. 10, N 6. — P. 434–445.

24. Plotsky M.P., Meaney M.J. Early, postnatal experience alters hypothalamic corticotrophin-releasing factor (CRF) mRNA, median eminence CRF content and stress-induced release in adult rats // Brain Research. — 1993. — V. 18. — P. 195–200.

25. Liu D., Diorio J., Tannenbaum B., Caldji C., Francis D., Freedman A., Sharma S., Pearson D., Plotsky P.M., Meaney M.J. Maternal care, hippocampal glucocorticoid receptors, and hypothalamic-pituitary-adrenal responses to stress // Science. — 1997. — V. 277, N 5332. — P. 1659–1662.

26. Bardi M., Huffman M.A. Effects of maternal style on infant behavior in Japanese macaques (*Macaca fuscata*) // Developmental Psychobiology. — 2002. — V. 41, No 4. — P. 364–372.

27. Heim C., Newport D.J., Wagner D., Wilcox M.M., Miller A.H., Nemeroff C.B. The role of early adverse experience and adulthood stress in the prediction of neuroendocrine stress reactivity in women: a multiple regression analysis // Depression and Anxiety. — 2002. — V. 15. — P. 117–125.

28. Meaney M.J. Maternal care, gene expression, and the transmission of individual differences in stress reactivity across generations // Annual Review of Neuroscience. — 2001. — V. 24. — P. 1161–1192.

29. Caspi A., McClay J., Moffitt T.E., Mill J., Martin J., Craig I.W., Taylor A., Poulton R. Role of genotype in the cycle of violence in maltreated children // Science. — 2002. — V. 297. — P. 851–854.

30. Caspi A., Sugden K., Moffitt T.E. Influence of life stress on depression: moderation by a polymorphism in the 5-HTT gene // Science. — 2003. — V. 301. — P. 386–389.

31. Binder E.B., Bradley R.G., Wei L., Epstein M.P., Deveau T.C., Mercer K.B., Tang Y., Gillespie C.F., Heim C.M., Nemeroff C.B., Schwartz A.C., Cubells J.F., Ressler K.J. Association of FKBP5 Polymorphisms and Childhood Abuse With Risk of Posttraumatic Stress Disorder Symptoms in Adults // Journal of the American Medical Association. — 2008. — V. 299. — P. 1291–1305.

32. Meaney M.J., Szyf M. Maternal care as a model for experience-dependent chromatin plasticity? // Trends in Neurosciences. — 2005. — V. 28, N 9. — P. 456–463.

33. Szyf M. The early life environment and the epigenome // Biochimica et Biophysica Acta. — 2009. — V. 1790, N 9. — P. 878–885.

34. Champagne F.A., Curley J.P. Epigenetic mechanisms mediating the long-term effects of maternal care on development // Neuroscience and Biobehavioral Reviews. — 2009. — V. 33, No 4. — P. 593–600.

35. Weaver I.C., Meaney M.J., Szyf M. Maternal care effects on the hippocampal transcriptome and anxiety-mediated behaviors in the offspring that are reversible in adulthood // Proceeding of National Academy of Sciences of USA. — 2006. — V. 103. — P. 3480–3485.

ВЛИЯНИЕ КУРЕНИЯ НА НЕЙРОВЕГЕТАТИВНУЮ РЕГУЛЯЦИЮ КАРДИОРЕСПИРАТОРНОЙ СИСТЕМЫ У ЗДОРОВЫХ ЛИЦ

В.Н. МАРЧЕНКО, В.И. ТРОФИМОВ, В.А. АЛЕКСАНДРИН, М.В. МАКСИМОВ,
И.А. МОЖАЕВ, О.А. ФРАНЧУК

ГОУ ВПО «Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова» Росздрава РФ, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Одно из ведущих мест в деятельности кардиореспираторной системы отводится нейровегетативной регуляции. Курение является фактором, активно влияющим на бронхолегочную систему. Изменения нейровегетативной регуляции сердечного ритма, артериального давления и барорецепторной чувствительности под влиянием курения опережают клиничко-функциональные изменения в легких. Показана роль оценки нейровегетативной регуляции у курящих пациентов для контроля за состоянием кардиореспираторной системы.

Ключевые слова: вариабельность сердечного ритма, нейровегетативная регуляция, кардиореспираторный паттерн, курение.

THE INFLUENCE OF SMOKING ON THE REGULATION OF THE CARDIORESPIRATORY SYSTEM AT HEALTHY PEOPLE

V. MARCHENKO, V. TROFIMOV, V. ALEXANDRIN, M. MAXIMOV, I. MOGAEV, O. FRANCHUK
Pavlov's State Medical University, St. Petersburg, Russian Federation

Summary. Neuroautonomic regulation is known to be one of the leading factors influencing the function of cardiorespiratory system. Smoking process is actively influencing respiratory system. The changes in neuroautonomic regulation of the heart rate, blood pressure and baroreceptor sensitivity caused by smoking precede the clinical and functional changes of respiratory system. The article discusses the role of neuroautonomic regulation investigations in smoking patients and possibilities of the use of these investigations for monitoring of the cardiorespiratory system changes.

Keywords: variability of heart rhythm, neuroautonomic regulation, cardiorespiratory pattern, smoking.

Как известно деятельность любого организма во многом определяется сбалансированностью регуляции его различных функциональных систем [5]. Одно из ведущих мест в регуляции единой кардиореспираторной системы (КРС) отводится вегетативной нервной системе. Исследования последних лет показали, что у больных бронхиальной астмой имеется нарушение нейровегетативной регуляции именно этой системы, обусловленное многочисленными факторами [1, 3]. Среди таких факторов курение является наиболее важным, так как оказывает существенное влияние на формирование и прогрессирование бронхолегочной патологии [2]. К сожалению, в литературе вопросы, посвященные влиянию курения на нейровегетативную регуляцию, не нашли должного отражения. В связи с этим целью данной работы явилась оценка особенностей влияния курения на нейровегетативную регуляцию кардиореспираторной системы у здоровых лиц (ЗД).

Материалы и методы

Обследовано 83 здоровых пациента в возрасте от 15 до 46 лет, которые в зависимости от отношения к куре-

нию были разделены на группы: 50 практически ЗД некурящих лиц (25М:25Ж), средний возраст $23,1 \pm 0,59$ года (1 группа — ЗДНК); 33 практически ЗД пациента (22М:11Ж), имеющие стаж курения $5 \pm 0,4$ пачка/лет и не имеющие клинических проявлений со стороны органов дыхания, средний возраст $29,5 \pm 1,61$ лет (2 группа — ЗДК).

Исследование включало анализ вариабельности сердечного ритма (ВСР), артериального давления (ВАД) с использованием программного комплекса «Спиро-артериокардиоритмограф — САКР-2» (ООО «ИН-ТОКС», Санкт-Петербург) и показателей функции внешнего дыхания. Анализировались 5-минутные записи исследования, проведенные в утренние часы после 15-минутного отдыха пациентов. В день исследования пациенты не принимали никаких лекарственных препаратов в течение 6 часов и не курили. Оценивались следующие параметры вариабельности: TP — общая мощность спектра в диапазоне от 0,04 до 0,4 Гц; VLF — мощность колебаний в очень низкочастотном (0,03–0,05 Гц) диапазоне, отражающая активность надсегментарных/эрготропных образований; LF — мощность

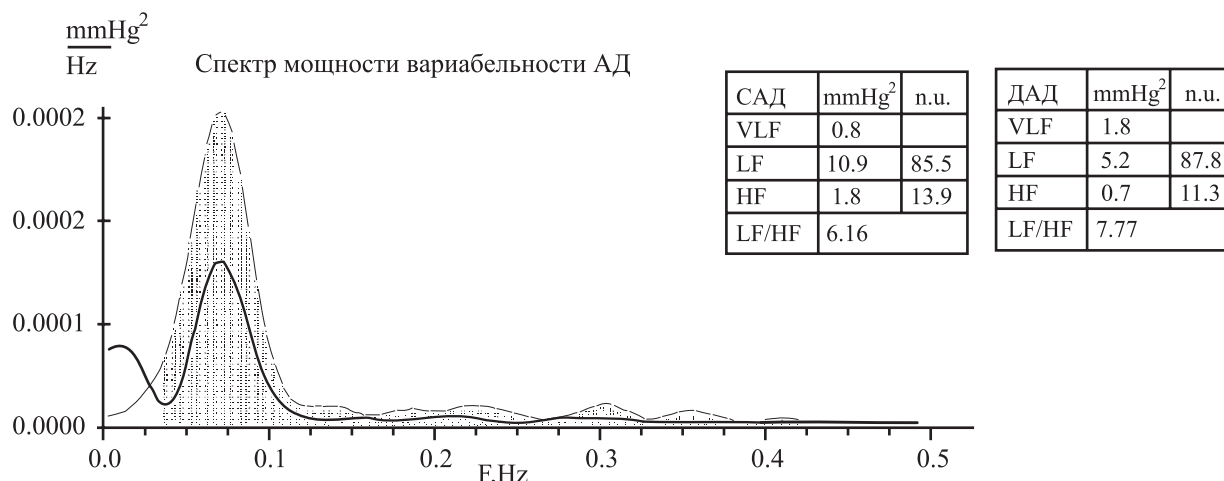


Рис. 1. Фрагмент протокола исследования variability сердечного ритма и артериального давления

колебаний в низкочастотном диапазоне (0,05–0,15 Гц) колебаний, отражающая активность симпатического контура регуляции; HF — мощность колебаний в высокочастотном (0,15–0,40 Гц) диапазоне колебаний, отражающая влияние парасимпатического контура регуляции; LF/HF — показатель симпато-вагусного баланса; IC — индекс централизации, отражающий соотношение между центральным и автономным контуром регуляции; SNCA — индекс активности подкорковых нервных центров регуляции; спонтанный артериальный барорефлекс (BR). Вышеперечисленные показатели рассчитывались отдельно для ЧСС, САД, ДАД (пример записи представлен на рис. 1).

У всех пациентов параллельно было исследовано функциональное состояние аппарата внешнего дыхания с расчетом объема форсированного выдоха за 1 секунду (ОФВ₁), отношения ОФВ₁/ФЖЕЛ, бронхиального сопротивления (Raw), удельной проводимости бронхов (Sgaw).

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием классических методов параметрической и непараметрической статистики. Для оценки межгрупповых различий применялись: при сравнении 2 групп — t-критерий Стьюдента; методы линейного корреляционного анализа — критерий Пирсона (r). Вычисления выполнялись с использованием ПЭВМ и стандартных пакетов прикладного статистического анализа (Statistics for Windows v.5.0, Statgraphics v.7.0 и др.). Критический уровень достоверности нулевой гипотезы принимали равным 0,05.

Результаты исследования

Исследования показали, что анализируемые группы не отличались между собой по полу, росту и весу, длительности заболевания и стажу курения (табл. 1). Вместе с тем ЗД некурящие пациенты были достоверно моложе ЗДК (p = 0,01).

Таблица 1

Характеристика обследованных лиц (p > 0,05)

	ЗДНК	ЗДК
n	50	33
Мужчины	25 (0,5)	22 (0,67)
Женщины	25 (0,5)	11 (0,33)
Ср. возраст, лет	23,1 ± 0,59	29,5 ± 1,61
Рост, см	172 ± 1,49	174 ± 0,9
Вес, кг	64,7 ± 1,52	68,8 ± 1,91
Стаж курения, пачка/лет	—	5 ± 0,4

При обследовании установлено, что в обеих группах значения ОФВ₁ и ОФВ₁/ФЖЕЛ находились в пределах нормальных величин и достоверно не отличались между собой (p > 0,05, табл. 2). Одновременно с этим было установлено, что в группе курящих ЗД длительность интервала QT (0,369 ± 0,003 с) была достоверно меньше, чем у некурящих ЗД (0,379 ± 0,003 с, p = 0,02), что связано с большей частотой сердечных сокращений у курящих пациентов.

Таблица 2

Характеристика функционального состояния аппарата внешнего дыхания

	ЗДНК	ЗДК
ОФВ ₁ /ФЖЕЛ, %	85,6 ± 6,04	95,3 ± 2,26
ОФВ ₁ , %	90 ± 5,48	97,5 ± 2,67
Sgaw см вод. ст. с ⁻¹	0,155 ± 0,0011	0,153 ± 0,006
Raw см вод. ст. л ⁻¹ с ⁻¹	2,37 ± 0,14	2,03 ± 0,085

Как показали исследования, у некурящих ЗД значения общей мощности спектра колебаний сердечного ритма (TP_{HR}) были достоверно выше ($p = 0,01$), чем у ЗДК (табл. 3).

Таблица 3

Характеристика вариабельности сердечного ритма

	ЗДНК	ЗДК
TP_{HR} , мсек ²	$3256 \pm 327,7$	$2494 \pm 270,5^*$
VLF_{HR} , мсек ²	$690,4 \pm 71,3$	$602,8 \pm 83,9$
LF_{HR} , мсек ²	$1101,9 \pm 152,8$	$797,2 \pm 86,9$
HF_{HR} , мсек ²	$1655,9 \pm 278,6$	$974,1 \pm 134,4^*$
LF/HF_{HR} , у.е.	$1,22 \pm 0,17$	$1,32 \pm 0,17$
IC_{HR} , у.е.	$2,22 \pm 0,31$	$2,69 \pm 0,29$
$SNCA_{HR}$, у.е.	$2,01 \pm 0,3$	$1,64 \pm 0,18$
HR, уд. в мин	$70 \pm 1,44$	$72 \pm 2,46$

* Достоверность различия $p < 0,05$.

У курящих здоровых пациентов имелась тенденция к уменьшению активности надсегментарного (VLF_{HR}), симпатического (LF_{HR}), подкоркового ($SNCA_{HR}$) контуров регуляции сердечного ритма, увеличению активности центрального (IC_{HR}) контура регуляции, сопровождающемуся смещением симпато-вагусного баланса (LF/HF_{HR}) в сторону симпатикотонии, что свидетельствует о раннем нарушении нейровегетативной регуляции сердечного ритма. Обращает на себя внимание достоверное уменьшение по сравнению со ЗДНК активности парасимпатического (HF_{HR}) контура регуляции ($p = 0,01$).

Анализ индивидуальных значений активности основных контуров регуляции (VLF_{HR} , LF_{HR} , HF_{HR}) показал, что у некурящих пациентов подавляющее число (54%) имели преобладание активности парасимпатического контура регуляции, в то время как в группе курящих пациентов подавляющее число имели преобладание активности симпатического контура регуляции (45,5%). Оценка индивидуальных значений показателей симпато-вагусного баланса показала, что все исследуемые группы имеют широкий диапазон колебаний параметра от 0,12 до 12,66 у.е. и, следовательно, являются гетерогенными по этому показателю. Используя ранее установленный критерий деления пациентов на типы вегетативной регуляции [4], мы показали, что во всех группах преобладали пациенты с нормотоническим типом регуляции. В группе некурящих лиц пациенты с парасимпатическим типом регуляции (34%) преобладали над пациентами с симпатическим типом регуляции (18%), в то время как в группе курящих это соотношение было обратным (21,2% : 27,3%).

При анализе вариабельности систолического артериального давления было установлено, что у ЗД некурящих пациентов имелось наибольшее, хотя и в пределах нормальных величин, значение САД, которое достоверно отличалось от значений у ЗДНК ($p = 0,025$, табл. 4).

Таблица 4

Характеристика вариабельности систолического артериального давления

	ЗДНК	ЗДК
TPs , мм Hg ²	$16,2 \pm 2,06$	$58,4 \pm 13,2^*$
$VLFs$, мм Hg ²	$6,92 \pm 1,21$	$30,1 \pm 8,14^*$
LFs , мм Hg ²	$5,13 \pm 0,8$	$15,6 \pm 2,7^*$
HFs , мм Hg ²	$3,58 \pm 0,61$	$5,13 \pm 0,7^*$
LF/HFs , у.е.	$2,42 \pm 0,32$	$3,46 \pm 0,44^*$
ICs , у.е.	$5,65 \pm 0,71$	$9,5 \pm 1,37^*$
$SNCAs$, у.е.	$1,21 \pm 0,2$	$0,98 \pm 0,14$
САД, мм Hg	$123,8 \pm 3,44$	$113 \pm 6,17^*$

* Достоверность различия $p < 0,05$.

Обращает на себя внимание, что ЗД курящие пациенты имеют достоверное повышение активности надсегментарного ($VLFs$), симпатического (LFs), парасимпатического (HFs), центрального (ICs) контуров регуляции САД, что сопровождалось значительным смещением симпато-вагусного баланса (LF/HFs) в сторону симпатикотонии ($p = 0,025$). Единственным показателем, по которому не удалось установить различий между анализируемыми группами, оказалась активность подкоркового контура регуляции ($SNCAs$, $p > 0,05$), хотя и имелась тенденция к более низким значениям у курящих пациентов.

Таблица 5

Характеристика вариабельности диастолического артериального давления

	ЗДНК	ЗДК
TPd , мм Hg ²	$8,52 \pm 0,67$	$24,55 \pm 4,58^*$
$VLFd$, мм Hg ²	$3,58 \pm 0,41$	$10,5 \pm 2,41^*$
LFd , мм Hg ²	$3,66 \pm 0,32$	$8,97 \pm 1,55^*$
HFd , мм Hg ²	$0,98 \pm 0,6$	$1,68 \pm 0,23$
LF/HFd , у.е.	$5,54 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,78$
ICd , у.е.	$11,4 \pm 1,17$	$12,7 \pm 1,67$
$SNCAd$, у.е.	$1,56 \pm 0,18$	$1,32 \pm 0,12$
ДАД, мм Hg	$83 \pm 2,18$	$75 \pm 3,9^*$

* Достоверность различия $p < 0,05$.

При оценке параметров вариабельности диастолического АД было установлено, что у ЗДНК пациентов значения ДАД оказались самыми высокими (хотя и в пределах нормальных величин) и достоверно ($p = 0,04$) отличались от его значения у ЗДНК (табл. 5). При этом у данных пациентов имелись достоверно более высокие значения общей мощности спектра колебаний (TPd), активности надсегментарного (VLFd) и симпатического (LFd) контуров регуляции САД ($p = 0,03$). Активность парасимпатического (HFd), центрального (ICd) контуров регуляции имела некоторую тенденцию к увеличению по сравнению с некурящими здоровыми, а показатель активности подкоркового (SNCAd) контура регуляции даже тенденцию к некоторому уменьшению активности. Полученные данные позволяют говорить о значительном напряжении нейровегетативной регуляции сосудистого тонуса у курящих пациентов.

Интересным представляется показатель артериальной барорецепторной чувствительности, который оказался наибольшим у некурящих ЗД ($16,85 \pm 1,21$ мм Hg/мс) и был достоверно выше, чем у курящих ЗД ($9,83 \pm 1,42$ мм Hg/мс, $p = 0,02$).

Следует отметить, что во всех группах имеется следующее соотношение между показателем симпато-вагусного баланса: $LF/HFd > LF/HFs > LF/HF_{HR}$. Это свидетельствует о более выраженной симпатикотонии в регуляции АД, особенно диастолического, по сравнению с регуляцией HR. Наиболее отчетливо это проявилось у курящих пациентов.

О функционировании системы нейровегетативной регуляции КРС судили по структуре корреляционных связей. При этом установлено 169 достоверных, различной степени значимости корреляционных связей, которые можно было разделить на несколько групп в зависимости от их функциональной значимости.

Первую группу составили 55 связей, выявляемых во всех группах обследованных лиц, что, по всей видимости, носит генетически обусловленный характер. Среди них наиболее важными оказались: положительная связь между активностью симпатического (LF_{HR}) и парасимпатического (HF_{HR}) контура регуляции сердечного ритма ($r = 0,41$, $p = 0,021$), что свидетельствует о синергическом, а не антагонистическом характере взаимоотношений между этими контурами регуляции. Вместе с тем показано, что имеется синхронизация в регуляции сердечного ритма, систолического и диастолического АД на уровне симпато-вагусного баланса, что подтверждается достоверными связями между LF/HF_{HR} - LF/HFs ($r = 0,44$; $p = 0,002$), LF/HF_{HR} - LF/HFd ($r = 0,41$; $p = 0,002$), LF/HFs - LF/HFd ($r = 0,38$; $p = 0,03$). Интересными оказались связи, образованные барорецепторной чувствительностью с параметрами нейро-вегетативной регуляции. Было установлено, что BR имеет положительные связи с параметрами, характеризующими вариабельность сердечного ритма (TP_{HR} , $r = 0,48$; $p = 0,001$), (VLF_{HR} , $r = 0,28$; $p = 0,047$), и отрицательные

связи с параметрами, характеризующими вариабельность артериального давления (TPs , $r = -0,59$; $VLFs$, $r = -0,47$; LFs , $r = -0,38$; TPd , $r = -0,33$; $VLFd$, $r = -0,3$; LFd , $r = -0,3$; $p = 0,03$). Интересной оказалась связь между LF/HF_{HR} и полом. При этом симпатикотония в регуляции сердечного ритма была характерна для курящих мужчин ($r = -0,41$; $p = 0,019$) и некурящих женщин ($r = 0,47$; $p = 0,001$), так как в группах курящих и некурящих она носила разнонаправленный характер.

Кроме общих связей в обеих группах, установлены еще две группы связей: характерные только для некурящих пациентов и характерные только для курящих пациентов, что свидетельствует о перестройке системы регуляции. При этом показано, что курение приводит не только к количественной, но и к качественной перестройке системы регуляции КРС. Обращает на себя внимание, что в группе некурящих пациентов в основе нейровегетативной регуляции лежат связи, образованные парасимпатическим, центральным контурами регуляции сердечного ритма и артериального давления и показателями симпато-вагусного баланса. Кроме того, для них было характерно нарастание симпатикотонии с возрастом (Age - LF/HF_{HR} , $r = 0,44$; $p = 0,01$), увеличение барорецепторной чувствительности с нарастанием активности подкоркового контура регуляции сердечного ритма (BR - $SNCA_{HR}$, $r = 0,45$; $p = 0,044$), а $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ с нарастанием активности центрального контура регуляции сердечного ритма ($ОФВ_1/ФЖЕЛ$ - IC_{HR} , $r = 0,32$; $p = 0,04$).

У здоровых курящих пациентов в отличие от здоровых некурящих происходила существенная перестройка структуры корреляционных связей, причем как в количественном (разрушение 61 старой и формирование 54 новых связей), так и в качественном отношении с переклещением регуляции с вышеописанных контуров регуляции на симпатический, надсегментарный, подкорковый в регуляции сердечного ритма и артериального давления. Отмечено, что под влиянием курения появились связи между вегетативной регуляцией и параметрами ФВД: $ОФВ_1$ - $VLFs$ ($r = -0,6$; $p = 0,04$), LFs ($r = -0,67$; $p = 0,03$), LFd ($r = -0,62$; $p = 0,04$), ICs ($r = -0,67$; $p = 0,02$), ICd ($r = -0,63$; $p = 0,04$), IC_{HR} ($r = -0,64$; $p = 0,03$), BR ($r = 0,88$; $p = 0,03$) и $ОФВ_1/ФЖЕЛ$ - HF s ($r = 0,96$; $p = 0,01$), VLF_{HR} ($r = 0,81$; $p = 0,02$). Очень важными оказались связи, появившиеся у курильщиков между барорецепторной чувствительностью и возрастом ($r = -0,33$; $p = 0,02$), FEV_1 ($r = 0,88$; $p = 0,02$), LF/HFd ($r = -0,44$; $p = 0,025$), HF s ($r = -0,49$; $p = 0,03$).

В заключение с определенной уверенностью можно констатировать, что при отсутствии существенных различий между анализируемыми группами по половому составу, росту, показателям функции внешнего дыхания, под влиянием курения отмечено раннее нарушение нейровегетативной регуляции КРС, проявляющееся в первую очередь в снижении вариабельности сердечного ритма на надсегментарном, симпатическом, парасим-

патическом и повышении на корковом, подкорковом уровнях регуляции со смещением симпато-вагусного баланса в сторону симпатикотонии. При этом отмечено отчетливое уменьшение длительности QT, что обусловлено большей частотой сердечных сокращений у курящих пациентов. Установление увеличения вариабельности артериального давления позволяет говорить о формировании под влиянием курения сердечно-сосудистой симпато-вагусной диссоциации. Это также находит подтверждение в установлении у курящих пациентов более низкой барорецепторной чувствительности. Несмотря на нейровегетативную гетерогенность анализируемых групп, в группе курящих пациентов частота симпатикотоников была больше, чем в группе некурящих пациентов. Установлено, что курение оказывает существенное влияние на перестройку системы нейровегетативной регуляции, как в количественном (изменение числа достоверных корреляционных связей), так и в качественном отношении, что проявляется в формировании новых жестко детерминированных корреляционных связей единой кардиореспираторной системы между параметрами нейровегетативной регуляции и параметрами функционального состояния аппарата

внешнего дыхания. Полученные данные говорят о раннем нарушении под влиянием курения нейровегетативной регуляции КРС, что является отягчающим обстоятельством и способствует формированию бронхолегочной патологии.

Литература

1. Александрин В.А. Вегетативная регуляция дыхательной и сердечно-сосудистой систем у больных бронхиальной астмой. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — СПб. — 2003. — 16 с.
2. Власова О.В., Попова Г.А., Циркин В.И. Изменение вариабельности сердечного ритма и артериального давления у студентов при курении // Вестник Новосибирского государственного университета. Серия: Биология, клиническая медицина. — 2008. — № 6. — С. 38–44.
3. Зулкарнеев Р.Х. Диагностическое значение оценки вариабельности кардиореспираторного паттерна у больных бронхиальной астмой. Автореф. дис. ... канд. мед. наук. — Уфа, 1997. — 24 с.
4. Марченко В.Н. Механизмы нейровегетативной регуляции кардиореспираторной системы у больных бронхиальной астмой и пути коррекции выявленных нарушений. Автореф. ... докт. мед. наук: 14.00.43. — СПб.: Изд-во НИИХ СПбГУ, 2004. — 38 с.
5. Судаков К.В. Функциональные системы: принципы динамической организации, постулаты общей теории // Пат. физиол. — 1988. — № 4. — С. 10–22.

СЛУЧАЙ ЛЕТАЛЬНОГО ИСХОДА ОТ ИЕРСИНИОЗНОЙ ИНФЕКЦИИ

М.К. БЕХТЕРЕВА¹, И.Ю. СУВОРОВА², Н.В. ПЕТРОВА², В.В. ИВАНОВА¹, Р.А. НАСЫРОВ¹

¹ ФГУ НИИДИ ФМБА ГОУ ВПО СПб ГПМА Росздpaвa

² ЛОГУЗ ДКБ

Резюме. Описано собственное наблюдение пациента, страдавшего легкой формой гемофилии А и погибшего от генерализованной формы иерсиниозной инфекции. Приведены морфологические критерии постановки диагноза иерсиниоза.

Ключевые слова: иерсиниозы, псевдотуберкулез, дети, исход.

CASE OF THE LETHAL OUTCOME IN PATIENT WITH YERSINIA INFECTION

М.К. BECHTEREVA¹, I.JU. SUVOROVA², N.V. PETROVA², V.V. IVANOVA¹, R.A. NASIROV¹

¹ Federal State Institution Scientific Research Institute of Pediatric Infections Federal Medical Biological Agency State Educational Institution of Higher Professional Education "Saint-Petersburg State Pediatric Medical Academy, Federal Agency for Health Care and Social Development"

² Leningrad District State Institution of Health Care Pediatric Clinical Hospital

Summary. The case description of the patient suffering from mild A hemophyilia who died from the generalized Yersinia infection is given. Morphological criteria of Yersiniosis diagnosis are discussed.

Key words: Yersiniosis, pseudotuberculosis, children, outcome.

Иерсиниозы по механизму развития относятся к инфекциям с гематогенной и лимфогенной диссеминацией возбудителя и выраженным токсико-аллергическим синдромом. Наиболее яркие клиническо-морфологические изменения развиваются не во входных воротах инфекции (ротоглотка и верхние отделы тонкого кишечника), а во вторичных очагах (илеоцекальный угол кишечника и регионарные лимфатические узлы, печень, селезенка, легкие, головной мозг). Кроме этого могут поражаться почки, легкие, опорно-двигательный аппарат, кожа.

В случаях иммунодефицита различного происхождения (неполноценность иммунной системы, другие инфекционные и соматические болезни, алкоголизм, наркомания) при иерсиниозах может наблюдаться септическое течение болезни с возможным летальным исходом. К факторам риска развития иерсиниозного сепсиса у детей относятся: грудной возраст; заболевания печени, гемохроматоз, сахарный диабет, гипотрофия, предшествующая иммуносупрессивная терапия, передозировка препаратов железа, перегрузка железом при гематологических заболеваниях, требующих переливания крови (серповидноклеточной анемии, β -талассемии, апластической анемии), а также лечение комплексобразующими средствами.

Е. Bonza и А. Dominges (1980) отмечали, что из 55 обнаруженных ими описаний псевдотуберкулезного сепсиса в 18 случаях (32,7%) был зарегистрирован летальный исход. В доантибиотическую эру иерсиниозный сепсис чаще всего заканчивался смертью больного. При вскрытии находили мелкие серовато-белые узелки в печени, селезенке, легких, на поверхности тонкого

кишечника и в головном мозге. Эти образования представляют собой некротические гранулемы, что является наиболее характерным патоморфологическим признаком иерсиниозов. В брюшной полости при септическом течении болезни обнаруживается обычно серозно-геморрагический экссудат и дистрофия паренхиматозных органов.

Известно, что при псевдотуберкулезе в случае выраженной интоксикации летальный исход возможен в первые дни болезни. Подобный случай описан Г.П. Сомовым, В.И. Покровским и соавт. во время первой вспышки дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки во Владивостоке (1960): пациент умер во время первичного медицинского осмотра при явлениях сердечно-сосудистой недостаточности. На вскрытии были обнаружены катарально-десквамативный энтерит с преимущественным поражением терминального отдела подвздошной кишки, острый аденит лимфатических узлов брыжейки, острый интерстициальный гепатит, множественные мелкие абсцессы в ткани селезенки, острый негнойный энцефалит с поражением ганглиозных клеток, полнокровие всех внутренних органов.

Материалы патолого-анатомических исследований 2 детей, умерших во время вспышки дальневосточной скарлатиноподобной лихорадки в Хабаровске, были представлены А.К. Пиотрович и соавт. в 1965 году. В обоих случаях отмечались язвенный энтерит, гиперплазия лимфатических узлов брыжейки и тонкого кишечника, субплевральные точечные кровоизлияния, кровоизлияния в ткань селезенки, острая дистрофия паренхиматозных органов и отек головного мозга.

На основании анализа данных литературы и собственных исследований Л.М. Исачкова (1990) пришла к заключению, что морфологическая сущность иерсиниозов позволяет отнести их к группе гранулематозных болезней и гранулематозное воспаление является для них типичной тканевой реакцией. В гистогенезе тканевого гранулематозного воспаления большую роль играет аллергия, в частности гиперчувствительность немедленного типа (ГНТ), поскольку центральный некроз гранулемы связан не только с повреждающим действием бактериальных токсинов, но и с гистопатогенным эффектом циркулирующих в крови иммунных комплексов (ЦИК), так как их количество при псевдотуберкулезе возрастает по сравнению с нормой в 4,1–7,5 раза.

Пусковым механизмом гранулематозного воспаления являются патогенные иерсинии, которые при гематогенной или лимфогенной диссеминации проникают в микроучасток ткани того или иного органа и повреждают своими токсинами клетки, инициируя возникновение очага воспаления. В первую очередь в этот очаг мигрируют макрофаги. К ним присоединяются полиморфно-ядерные лейкоциты (ПМЯЛ), и затем наступает полный распад клеток, путем кариорексиса. Таким образом, в центре очага образуется некротический очаг, содержащий мелкозернистый детрит. Затем вокруг этого очага накапливаются мононуклеарные клетки, и он приобретает сходство с гранулемой (в виде бугорка желтоватого или серо-белого цвета). В ее центре видны целые или поврежденные иерсинии, что подтверждается специфическим свечением при иммунофлюоресцентном исследовании. Среди лимфоцитов, макрофагов, нейтрофилов и эозинофилов в гранулеме иногда наблюдаются гигантские многоядерные клетки типа Лангханса. Иерсиниозные гранулемы могут возникать и на фоне диффузной воспалительной инфильтрации ткани полиморфными клетками, в основном мононуклеарами и эозинофилами. В поздние сроки вокруг гранулемы образуются фиброзные капсулы, которые в последующем подвергаются рубцеванию. Поскольку в центре иерсиниозной гранулемы имеется значительное количество клеточного детрита, то по этому признаку она отличается от туберкулезных гранул, центр которых представлен гомогенной эозинофильной массой. Кроме того, иерсиниозная гранулема начинает формироваться с притока в очаг альтерации моноцитарных клеток (макрофагов), а туберкулезная — с эпителиоидных клеток, при туберкулезе в гранулеме отсутствуют клетки типа Лангханса.

Таким образом, наиболее характерные патоморфологические признаки иерсиниозов:

- эозинофилия в воспалительных инфильтратах на различных этапах болезни;
- некротические гранулемы с центральным кариорексисом и наличием многоядерных гигантских клеток типа Лангханса;

- полиаденопатия, охватывающие шейные, бронхолегочные, мезентериальные лимфатические узлы, лимфатические фолликулы кишечника с наличием в них макрофагов, содержащих фагоцитированные базофильные включения. При легком течении преобладает картина лимфобластического, а при тяжелом — гранулематозно-некротического лимфаденита;
- системные панваскулиты с элементами тромбогеморрагического процесса.

Позвольте проиллюстрировать данное положение собственным наблюдением. Ребенок Я., 1 год 2 месяца, находился в реанимационном отделении ЛОГУЗ ДКБ с 14 часов 50 минут 19.10.2006 до 10 часов 20 минут 20.10.2006 с диагнозом:

Клинический диагноз: гемофилия А

Осложнения: кровотечение из ЖКТ (эрозивный гастродуоденит),

геморрагический шок III степени, гипосистолия от 19.10.2006,

синдром полиорганной недостаточности

Патологоанатомический диагноз:

Основной диагноз:

Гранулематозно-некротический энтероколит (иерсиниоз по морфологическим данным)

Гемофилия А (с учетом клинических данных)

Осложнения: желудочно-кишечное кровотечение (слизисто-геморрагическое содержимое в просвете толстой и тонкой кишки). Парез кишечника III ст.

Геморрагический шок (с учетом клинических данных).

Шоковая почка. Белково-жировая дистрофия печени.

Паренхиматозная дистрофия миокарда.

Синдром респираторного дистресса взрослых: венознокпиллярное секвестрирование крови, распространенные дистелектазы и гиалиновые мембраны в легких.

Субдуральное кровоизлияние в средней черепной ямке слева

Набухание и отек головного мозга.

Из анамнеза жизни известно, что ребенок родился от 1-й беременности, протекавшей на фоне угрозы прерывания, перенесенной ОРВИ в 20 недель, роды на 37-й неделе с массой тела 2850 и длиной 51 см, оценка по Апгар 7/7 баллов. В связи с развитием гипербилирубинемии новорожденных на 4-е сутки жизни был переведен в отделение патологии новорожденных ЛОГУЗ ДКБ, где находился в течение 3 недель, в дальнейшем наблюдался неврологом по поводу перинатального поражения ЦНС смешанного генеза. С 6 месяцев жизни был установлен диагноз: гемофилия А (дефицит VIII фактора), легкая форма, наблюдался гематологом ЛОГУЗ ДКБ и ДГБ № 1 (специфической терапии не получал). В 9 месяцев лечился в ДИБ № 5 с диагнозом: закрытая черепно-мозговая травма, в 11 месяцев вновь было сотрясение головного мозга легкой степени (лечился амбулаторно).

Анамнез болезни известен скудно: недомогание в течение 2–3 дней, потом 19.10.2006 ребенок с утра был

практически здоровым, играл, затем было замечено кровотечение из ротовой полости, на момент поступления родители полностью не исключали возможность травмы. Был осмотрен бригадой «Скорой помощи» и по жизненным показаниям, как больной гемофилией А, с кровотечением из ротовой полости, носовым кровотечением и геморрагическим шоком I степени, минуя приемное отделение, госпитализирован в отделение реанимации ЛОГУЗ ДКБ.

С поступления в ОРИТ состояние крайне тяжелое, обусловленное геморрагическим шоком III степени, кровотечением из верхних отделов ЖКТ. В ОРИТ переведен на ИВЛ, проводилась массивная инфузионная терапия, инотропная поддержка (допамин, добутрекс), по жизненным показаниям переливалась эритроцитарная масса, с заместительной целью получил свежезамороженную плазму. Однако уже через 45 минут после поступления отмечалась гипосистолия, требующая кардиореанимационных мероприятий, в 16 часов 30 минут вновь эпизод гипосистолии. Затем была достигнута нестойкая стабилизация центральной гемодинамики.

В клинических анализах крови с поступления анемия тяжелой степени (Hb 68 г/л), лейкоцитоз до $22,8 \times 10^9$ при гематокрите 0,236, нейтрофилез с палочкоядерным сдвигом, гипергликемия до 22,53 ммоль/л, декомпенсированный метаболический ацидоз. На рентгенограмме органов грудной клетки, выполненной через 1 час 45 минут после поступления, снижение пневматизации и признаки дистелектазов легочной ткани. Ребенок неоднократно осматривался хирургами, включая челюстно-лицевого хирурга, оториноларингологом — клинических признаков продолжающегося кровотечения выявлено не было, что в дальнейшем было подтверждено при проведении диагностической фиброэзофагогастродуоденоскопии (явления эрозивного гастродуоденита без признаков кровотечения). В дальнейшем, несмотря на проводимую массивную противошоковую терапию, отмечено нарастание полиорганной несостоятельности и в 10 часов 20 минут 20.10.2006 года констатирована биологическая смерть.

По данным патологоанатомического исследования выявлены выраженные воспалительные изменения в желудке, тонкой и толстой кишке, отмечены участки изъязвления в слизистой оболочке, очаги обширных кровоизлияний, лимфоидная инфильтрация слизистой оболочки, гиперплазия лимфоидных фолликулов, обращает на себя внимание наличие продуктивных изменений (гранулемы).

Из тонкой кишки (участок кишки и содержимое) посмертно выделены *St. aureus* в чистой культуре, *Pr. vulgaris* 10^5 и грибы рода *Candida* 10^4 , что свидетельствует об избыточном бактериальном росте в тонкой кишке, который мог внести свой вклад в воспалительный

процесс в ЖКТ. Так как прижизненно иерсиниоз не был заподозрен, бактериологическое и серологическое исследование для выявления патогенных иерсиний или антител к ним не проводилось.

На секции в лимфоузлах брыжейки выявлен реактивный гистиоцитоз с некрозами и формированием микроабсцессов. Обнаружена гиперплазия герминативных центров фолликулов, в центре которых отмечено множество мелких густых скоплений нейтрофильных лейкоцитов, большая часть которых подверглась пикнозу и рексису, что соответствует описанию морфологических изменений при иерсиниозах.

По секционным данным в печени обнаружена незначительная лимфоидная инфильтрация портальных трактов, выраженная вакуольная дистрофия гепатоцитов, в легких — участки дистелектазов, ателектазов, серозно-геморрагический отек легких с выпадением фибрина в просвет альвеол, местами с картиной полной обтурации, гемостазом и тромбами в микроциркуляторном русле, резко выраженный парез сосудов, обширные диапедезные кровоизлияния. Эпителий бронхов местами слущен в просвет, вокруг лимфо-плазмочитарная инфильтрация с формированием фолликулов, что соответствует респираторному дистресс-синдрому взрослых и шоковому легкому.

Следовательно, на основании патоморфологических исследований в данном случае имелись характерные для иерсиниозов поражения паренхиматозных органов и желудочно-кишечного тракта. Следует отметить, что клинические проявления, имевшиеся у данного пациента, — развитие клиники желудочно-кишечного кровотечения среди «полного» здоровья — не соответствуют имевшейся гистологической картине, так как для развития микроабсцедирования в лимфатических узлах и глубоких некрозов в стенке кишки как при банальных бактериальных ОКИ, так и при иерсиниозах требуется не менее 3–5 суток. Можно предположить, что к летальному исходу в данном случае привело развитие иерсиниозной инфекции на фоне гемофилии А, вероятно начальные признаки болезни были пропущены.

Литература

1. Асмар Б. Иерсиниоз // Инфекционные болезни у детей / Под редакцией Д. Марри из книги «Педиатрия по Рудольфу», 21 издание. — М.: Практика. — С. 214–219.
2. Иерсинии и иерсиниозы / Под ред. Г.Я. Ценовой — СПб., 2006. — 168 с.
3. Сомов Г.П., Покровский В.И., Беседнова Н.Н., Антоненко Ф.Ф. Псевдотуберкулез. — М.: Медицина, 2001. — 254 с.
4. Учайкин В.Ф., Гордец А.В., Бениова С.Н. Иерсиниозы у детей. — М.: «Издательская группа ГЭОТАР-Медиа», 2005. — 143 с.
5. Юшук Н.Д., Ценева Г.Я., Кареткина Г.Н., Бродов Л.Е. Иерсиниозы. — М.: Медицина, 2003. — 206 с.

ИЗУЧЕНИЕ АДГЕЗИВНОСТИ ПРИ ДИАГНОСТИКЕ ДИСБИОЗОВ

Е.А. ОРИШАК, Л.Ю. НИЛОВА, Е.Б. АВАЛУЕВА, А.Г. БОЙЦОВ, С.Л. ИЛЬИНСКАЯ

Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

Резюме. Рассмотрена адгезивность как фактор, влияющий на потенциальную эффективность препаратов, содержащих живые микроорганизмы, применяемых для коррекции дисбиоза кишечника. Обоснован индивидуальный подбор препаратов разных фирм-производителей для эффективной элиминации условно-патогенных микроорганизмов при дисбиозе кишечника. Изучена адгезивность условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при диагностике дисбиоза, как признак, указывающий на возможность колонизации биотопа конкретного пациента. Изучена адгезивность различных видов грибов рода *Candida* как фактор, повышающий вероятность развития микотического поражения слизистых оболочек кишечника и ротовой полости.

Ключевые слова: дисбиоз, пробиотики, адгезия, *Candida* spp., адгезивность пробиотических штаммов, адгезивные свойства лактобактерий и бифидобактерий.

ADHESION ACTIVITY IN DISBIOSIS DIAGNOSIS

E.A. ORISHAK, L.JU. NILOVA, E.B. AVALUEVA, A.G. BOITSOV, S.L. ILYINSKAYA

State Educational Institution of Higher professional education "Saint-Petersburg State I.I. Mechnikov Medical Academy, Federal Agency for Health Care and Social Development"

Summary. Adhesion is studied as the factor influencing on the potential effectiveness of preparations with alive microorganisms which are used in intestinal dysbiosis therapy. Individual choice of different trademarks preparations for more effective elimination of conditionally pathogenic microorganisms in intestinal disbacteriosis is found. Adhesiveness of conditionally pathogenic microorganisms in intestinal disbacteriosis as a patient biotope colonization indicator is examined. Adhesiveness of different species of *Candida* as a risk factor of mycotic lesion of mouth cavity and intestine mucous tunics are studied.

Key words: disbacteriosis, disbiosis, probiotics, adhesion, *Candida* spp., adhesiveness of probiotics strains, adhesive abilities of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*.

Введение

Адгезивность бактерий является важным свойством, особенно при колонизации слизистых оболочек макроорганизма.

Адгезивность микроорганизмов, как способ преодоления неспецифической резистентности макроорганизма, может иметь важное значение при формировании дисбиоза кишечника за счет условно-патогенных микроорганизмов, что важно учитывать как при выборе штаммов для промышленного выпуска пробиотиков, так и при оценке агрессивности микроорганизмов, колонизирующих биотопы при дисбиозах.

Адгезивность микроорганизмов зависит от множества факторов, и по сути своей это штаммовый признак, поскольку может меняться в зависимости не столько от вида, сколько от происхождения штамма. Например, экзогенные бактерии в составе пробиотика плохо или совсем не адгезируются на слизистой кишечника [1]. По всей вероятности, это обусловлено тем, что основой нормальной микрофлоры новорожденного становится микрофлора матери, к которой в процессе внутриутробного развития у плода формируется иммунологическая толерантность, и именно поэтому индигенная микрофлора поддерживается в стабильном видовом составе [2,

3]. Подтверждением данной гипотезы может служить факт обнаружения в фекалиях у животных из одного и того же помета лактобацилл одной таксономической принадлежности [4]. Доказано, что до 19% лиц в популяции имеют высокий и средний уровень антител к бифидобактериям, вызывающих торможение адгезии бифидобактерий в эксперименте [5]. Приживление чужеродных бифидобактерий в таких случаях практически невозможно. Отсутствие иммунологической толерантности к бифидобактериям может быть связано с недостатком их у матери, либо носить видоспецифичный или типоспецифичный характер. Известна идея коррекции микрофлоры кишечника матери с тем, чтобы предотвратить формирование нетипичного кишечного биоценоза у ребенка [6]. Выбор биопрепаратов для коррекции дисбактериоза представляет сложную задачу, так как популяционное видовое разнообразие доминантных штаммов основных представителей индигенных микроорганизмов, в частности, бифидобактерий, достаточно велико [7, 8, 9]. Возможно также, что чужеродностью пробиотических штаммов и объясняется транзитный характер положительного эффекта пробиотиков при длительном применении [10]. В опытах на мышах, например, было продемонстрировано, что экзогенные

лактобактерии способны тесно связываться со слизистой оболочкой кишечника и этот контакт не нарушается в результате воздействия детергентов и ферментов. Однако к 20-му дню после введения лактобактерий количество их снижалось в 2–3 раза, а при искусственном моделировании дисбактериоза количество введенных лактобактерий снижалось уже в 4–10 раз [11].

Способность к адгезии к эпителиальным клеткам хозяина — признанный тест при отборе потенциальных штаммов пробиотиков [12, 13, 14]. Считается, что одним из возможных механизмов колонизации пробиотическими штаммами эпителиоцитов толстой кишки является адгезивная активность. Молекулярные механизмы, обеспечивающие адгезию лактобацилл к клеткам, тем не менее, до конца не ясны, а природа рецепторного взаимодействия очень разнообразна [15, 16, 17, 18, 19, 20]. Полагают, что лактобациллам, изолированным от человека, свойственна большая адгезивность, чем штаммам коллекционным и выделенным из кисломолочных продуктов [12]. Выявлено наличие определенных внутри- и межвидовых различий в адгезивности лактобацилл [21, 22]. В то же время на примере буккального и вагинального эпителия было показано, что адгезивная активность является сугубо индивидуальным свойством штаммов. Пробиотик, обладающий высокой адгезией к эпителию пациентки «А», может практически не прикрепляться к эпителию «Б». При этом предполагается, что адсорбция лактобацилл зависит от соответствия рецепторов данного штамма лактобацилл рецепторам эпителиальных клеток [23]. Для подтверждения данного положения необходимо решение вопроса об индивидуальном тестировании пробиотических штаммов на адгезивную активность по отношению к эпителию пациента.

Эффективная коррекция дисбиоза кишечника непосредственно связана с адгезивностью условно-патогенных микроорганизмов, поскольку именно от возможности адгезии и образования биопленки зависит длительность персистенции и эффективность элиминации условно-патогенных микроорганизмов. Бактериоцины индигенной микрофлоры или пробиотических штаммов, по-видимому, подавляют образование условно-патогенными микроорганизмами биопленки, которая экранирует их от воздействия антимикробных препаратов или защитных сил макроорганизма [24]. Неиммобилизованные бактерии имеют устойчивость во много раз ниже, чем при успешной колонизации слизистой [25, 26].

Таким образом, адгезивность представляется пусковым механизмом развития дисбиоза с преобладанием тех или иных условно-патогенных микроорганизмов. Это особенно актуально в тех случаях, когда течение и терапия основного заболевания подразумевают создание селективных условий для развития условно-патогенных микроорганизмов, как, например, грибов рода *Candida*, при антибиотикотерапии различных заболеваний или

при иммуносупрессивной терапии при воспалительных заболеваниях кишечника.

Целью исследования явилась оценка и сравнение адгезивных свойств различных пробиотических препаратов и определение адгезивной активности представителей условно-патогенной микрофлоры кишечника, выделенных при посеве фекалий, к кишечному и буккальному эпителию пациентов, в том числе грибов рода *Candida*.

Материалы и методы

Материалом для данного исследования служили фекалии и эпителиальные клетки кишечного и буккального эпителия 112 пациентов.

Адгезивную активность пробиотиков к кишечному и буккальному эпителию определяли с использованием 10 пробиотиков, содержащих штаммы лакто- и бифидумбактерий: 1) «Лактобактерин», «Микроген», Пермь, 2) «Лактобактерин», «Имбио», Н. Новгород, 3) «Лактобактерин», «Иммунопрепарат», Уфа, 4) «Нормофлорин-Л», 5) лактобактерии йогурта «Актимель», 6) «Бифидумбактерин», «Микроген», Пермь, 7) «Бифидумбактерин», «Экополис», Ковров, 8) «Бификол», 9) «Нормофлорин-Б», 10) «Бифиформ». В первой серии опытов адгезия оценивалась у 11 пациентов параллельно к буккальному и кишечному эпителию в 180 опытах (90 опытов для определения адгезии пробиотических лактобактерий к обоим типам эпителия и 90 — с пробиотическими бифидумбактериями). Во второй серии определяли активность этих же 10 пробиотиков к буккальному эпителию 20 пациентов (200 опытов).

Объектом, на который адгезировали пробиотический препарат, были клетки кишечного эпителия, забранные с помощью ректальной петли. Ввиду того, что забор данных клеток часто сопряжен с определенными трудностями, параллельно использовали буккальный эпителий этих же больных, чтобы сравнить степень адгезии на двух типах эпителия одного и того же пациента и оценить возможность использования буккального эпителия вместо кишечного в качестве тест-объекта.

Полученные клетки кишечного и буккального эпителия доставляли в лабораторию в фосфатно-солевом буфере. Непосредственно перед исследованием клетки отмывали путем трехкратного центрифугирования (1000 об/мин — 5 мин). После отмывки из осадка готовили контрольные мазки. Образец считали пригодным для дальнейшего исследования, если при микроскопии в каждом поле зрения было не менее 2–3 эпителиальных клеток.

Для изучения адгезивной активности в центрифужную пробирку вносили 800 мкл суспензии эпителиальных клеток и 600 мкл суспензии лакто- или бифидобактерий в концентрации 10^9 кл./мл. Содержимое пробирок перемешивали и инкубировали в течение 2 часов при 37°С с периодическим перемешиванием. После инкубации неадсорбированные бактериальные клетки удаляли

путем двухкратного отмывания центрифугированием (1000 об/мин — 3 мин). Из осадка готовили мазки, которые окрашивали метиленовым синим. При микроскопии подсчитывали количество прикрепившихся бактериальных клеток. В каждом препарате анализировали не менее 5 эпителиальных клеток, результат выражали в виде среднеарифметического числа бактерий.

Для наглядности интенсивность адгезивной активности разделили на 5 степеней и присвоили им баллы: до 30 адгезированных бактериальных клеток — 1 балл, от 31 до 60 — 2 балла, от 61 до 90 — 3 балла, от 91 до 120 — 4 балла, более 121 — 5 баллов.

Штаммы условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) были выделены при посеве фекалий у 81 пациента с явлениями дисбиоза толстой кишки. Исследование фекалий на дисбактериоз проводилось в соответствии с методиками, приведенными в информационном письме «Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника» [27]. Посевы на плотные среды производились по методу Gold [28], на полужидкие среды однорядным титрационным методом [27]. Оценка результатов проводилась в соответствии с нормативами, приведенными в Отраслевом стандарте «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» 91500.11.0004-2003 [29]. Инкубация посевов на плотных средах для выделения лакто- и бифидобактерий осуществлялась в анаэробатах с использованием газогенерирующих пакетов. Создание анаэробных условий осуществлялось в анаэробатах АЭ-01 (ОАО «НИКИ МЛТ», Санкт-Петербург) и ОХОИД (England) с помощью газогенерирующих пакетов «Анаэрогаз». Идентификацию условно-патогенных энтеробактерий проводили с применением общепринятых схем идентификации с использованием ПБДЭ, ENTEROTEST 24 (Lachema, Чешская республика), а также сред Гисс. Идентификацию грибов рода *Candida* до вида проводили с использованием хромогенной среды (HiMedia, Индия).

Для оценки возможной агрессивности условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при дисбиозе из фекалий в значимом количестве, было проведено определение способности их к адгезии на эпителиальные клетки. Проверено 118 штаммов, выделенных у больных с дисбиозом кишечника. Адгезию УПМ осуществляли на буккальный эпителий тех же больных, у которых и были выделены данные микроорганизмы. Транспортировка и адгезия проводилась по описанной ранее методике. Показана возможность использования буккального эпителия вместо кишечного эпителия.

При изучении кандидозных дисбиозов исследовали фекалии и материал из ротовой полости, который забирали тампоном и помещали в бульон Сабуро с последующим высевом на плотную питательную среду. Результаты, полученные при исследовании материала из ротовой полости данным методом, рассматривались как качественные. Исследование фекалий проводилось

количественным методом. Идентификацию грибов рода *Candida* до вида проводили с использованием хромогенной среды (HiMedia, Индия). Изучение адгезивности проводили по описанной ранее методике с применением перекрестной адгезии всех выделенных штаммов к обоим типам эпителия — кишечному и буккальному.

Результаты исследования и обсуждение

1. Анализ и сравнение адгезивных свойств лакто- и бифидобактерий, входящих в состав пробиотиков.

Был проведен 81 параллельный тест с буккальным и кишечным эпителием у 11 пациентов. Сопоставление различий в результатах, полученных на сопоставляемых тест-объектах (буккальном и кишечном эпителии), проводили с помощью двухвыборочного F-теста для дисперсии для каждого препарата и каждого пациента отдельно, учитывая количество адгезированных микроорганизмов на каждой из пяти клеток одного вида эпителия. В 94,4% случаев была доказана недостоверность различий между двумя выборками. Только в 5,6% опытов была отклонена нулевая гипотеза и доказана достоверность различий. Таким образом, степень прикрепления к разным видам эпителия одного пациента была сопоставима. F-критерий составил от 0,004 до 6,205 при критическом $F = 7,71$; $\alpha = 0,05$ ($df = 5$, критерий односторонний).

Для определения силы взаимосвязи между количеством адгезированных пробиотических микроорганизмов на буккальном и кишечном эпителиях результаты обрабатывали методами корреляционного анализа — расчета коэффициента корреляции Пирсона (r) и Спирмена (ρ). Степень адгезии на каждой из пяти клеток одного вида эпителия соответствовала нормальному распределению. При расчете коэффициентов r и ρ использовали среднее арифметическое число адгезированных бифидо- или лактобактерий на буккальном и кишечном эпителиях. Коэффициент Пирсона определяли как для всей совокупности пациентов для выявления общей тенденции корреляции, так и для каждого пациента отдельно (табл. 1).

При определении связи среди всех проверенных биопрепаратов выявлена прямая сильная связь. Связь такой же силы выявлена в группе пробиотических препаратов, содержащих бифидобактерии (45 опытов: 9 больных по 5 препаратов), и в группе препаратов с лактобактериями (45 опытов: 9 больных по 5 препаратов). Достоверность подтверждена с помощью средней ошибки. Таким образом, независимо от типа препарата, степень его адгезии зависит не столько от типа эпителия, сколько от соответствия рецепторам эпителия конкретного пациента.

При определении коэффициента корреляции Пирсона для отдельных больных оказалось, что различия были достоверны лишь у двух пациентов, у которых степень адгезии к разным видам эпителия варьировала.

Таблица 1. Коэффициент корреляции Пирсона для всей выборки биопрепаратов, тестируемых на адгезивную активность на двух видах эпителия

Выборка	r	Сила связи	Средняя ошибка m	Достоверность r*
Препараты бифидумбактерий (45 опытов)	0,91	сильная прямая	0,025	достоверно
Препараты лактобактерий (45 опытов)	0,74	сильная прямая	0,07	достоверно
Все пробиотические препараты (90 опытов)	0,86	сильная прямая	0,03	достоверно

* Достоверность коэффициента корреляции определяли путем сравнения его величины с величиной средней ошибки (r должен в 3 раза превышать m).

Таблица 2. Адгезивная активность пробиотических препаратов к буккальному эпителию

Препарат*	Количество опытов	Количество случаев с данной степенью адгезии, N				
		1 балл	2 балла	3 балла	4 балла	5 баллов
Л1	20	10	8	1	0	1
Л2	20	6	9	3	1	1
Л3	20	10	6	3	0	1
Л4	20	11	6	2	1	0
Л5	20	15	4	1	0	0
Б1	20	8	6	1	2	3
Б2	20	12	5	1	0	2
Б3	20	15	3	2	0	0
Б4	20	12	5	1	1	1
Б5	20	13	5	0	1	1

* Л1 — «Лактобактерин», «Микроген» (Пермь); Л2 — «Лактобактерин», «Имбио» (Нижний Новгород); Л3 — «Лактобактерин», «Иммунопрепарат» (Уфа); Л4 — «Нормофлорин-Л»; Л5 — лактобактерии йогурта «Актимель»; Б1 — «Бифидумбактерин», «Микроген» (Пермь); Б2 — «Бифидумбактерин», «Экополис» (Ковров); Б3 — «Бификол»; Б4 — «Нормофлорин-Б»; Б5 — «Бифиформ».

В обоих случаях это были препараты бифидобактерий, при этом определялась связь средней силы.

В остальных случаях наблюдалась сильная достоверная корреляционная взаимосвязь между степенью адгезии к буккальному и кишечному видам эпителия: коэффициент линейной корреляции (r) колебался от 0,7 до 1, коэффициент ранговой корреляции Спирмена — от 0,6 до 1 ($p > 0,05$). Степень взаимосвязи несколько колебалась в зависимости от вида препарата и лишь в четырех случаях из 90 опытов была слабой или отсутствовала (в одном случае r был равен 0,5, в трех случаях — 0,6). В прочих 86 опытах связь была достоверной (табл. 1).

Полученные результаты свидетельствуют о возможности использования оценки степени адгезии пробиотических штаммов лакто- и бифидобактерий к клеткам буккального эпителия для представления об их адгезивной способности по отношению к кишечному эпителию конкретного пациента.

Доказав сопоставимость результатов, получаемых при адгезии на разные типы эпителиальных клеток одного и того же пациента, в дальнейшем сравнивали интенсивность адгезии одного и того же пробиотического штамма на буккальный эпителий разных пациентов. Цель данного эксперимента: оценить значимость этого критерия — интенсивности адгезивной активности — для успешного подбора пробиотического препарата для конкретного пациента.

Проверяли адгезивность пяти биопрепаратов лактобактерий и пяти биопрепаратов бифидобактерий к буккальному эпителию каждого из 20 пациентов (200 опытов). Интенсивность адгезии пробиотических микроорганизмов оценивали в баллах: до 30 адгезированных клеток — 1 балл, от 31 до 60 — 2 балла, от 61 до 90 — 3 балла, от 91 до 120 — 4 балла, более 121 — 5 баллов (табл. 2).

В целом нужно признать, что адсорбция экзогенных лакто- и бифидобактерий была достаточно низкой и

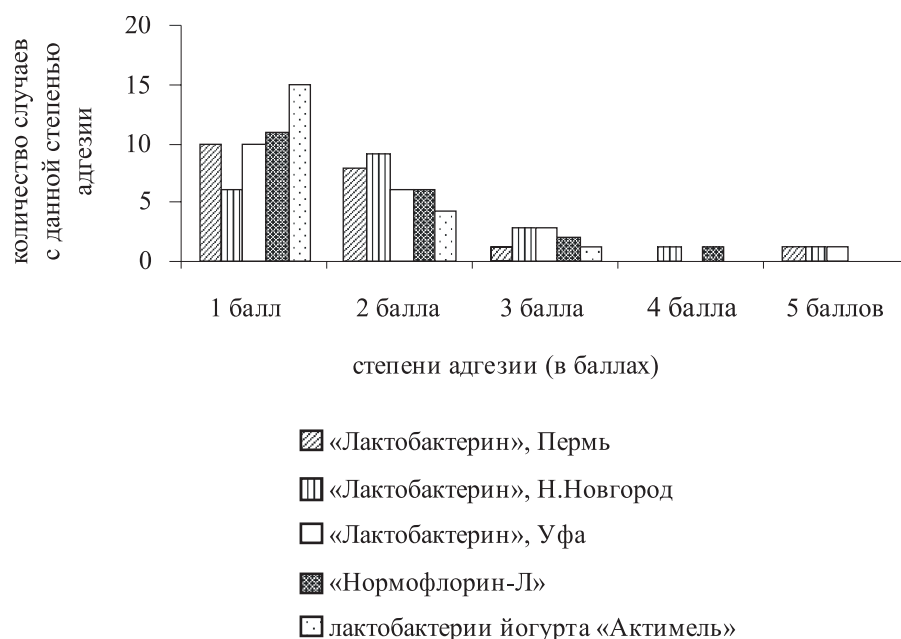


Рис. 1. Адгезивная активность штаммов лактобактерий, входящих в состав пробиотиков

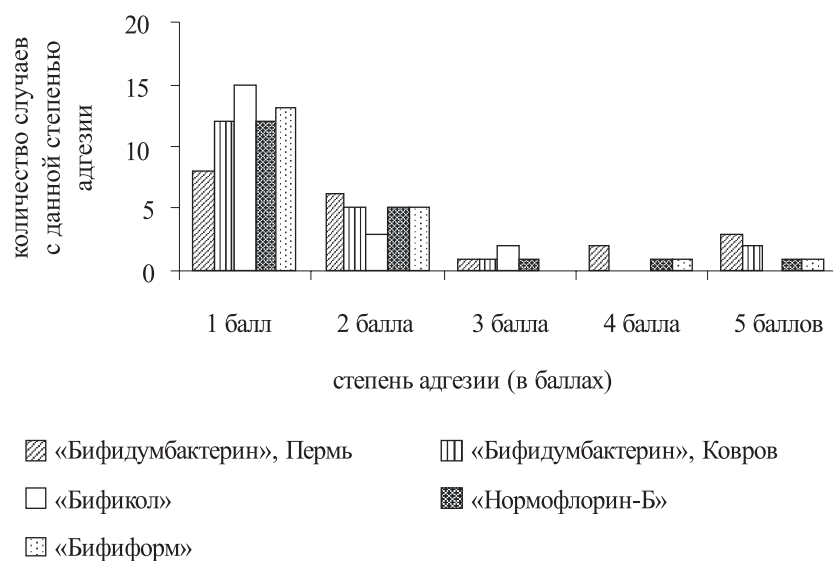


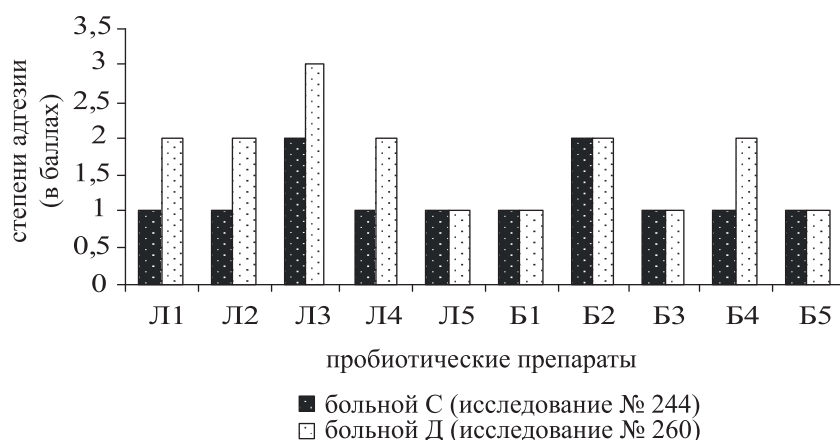
Рис. 2. Адгезивная активность штаммов бифидобактерий, входящих в состав пробиотиков

находилась в пределах 1–2 баллов (рис. 1 и 2). Это позволяет констатировать факт, что подбор пробиотиков должен проводиться особенно тщательно и учитывать не абстрактные характеристики данного препарата, а степень адгезии к эпителию конкретного больного.

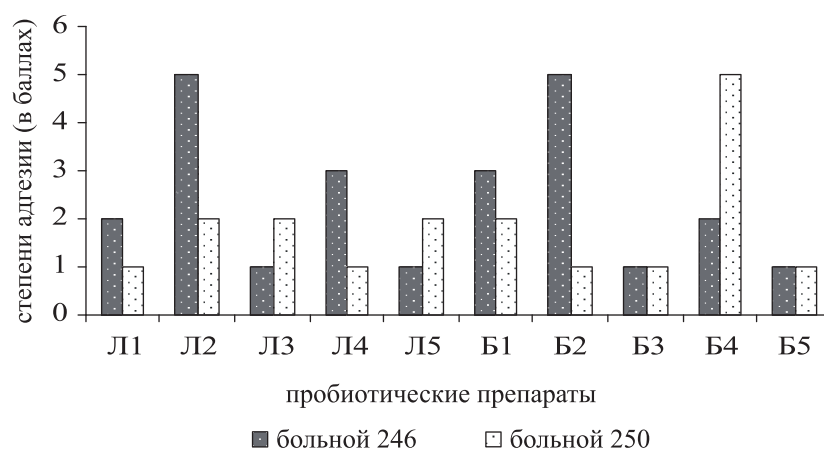
Для оценки значимости разницы степени адгезии разных пробиотических препаратов к эпителию конкретного больного использовали однофакторный дисперсионный анализ. Отдельно сравнивали прикрепление 5 препаратов лактобактерий к эпителию пациента и 5 препаратов бифидобактерий к этому же эпителию. Таким образом, получили 40 совокупностей препаратов

для сравнения достоверности различий внутри каждой из них с помощью F-критерия.

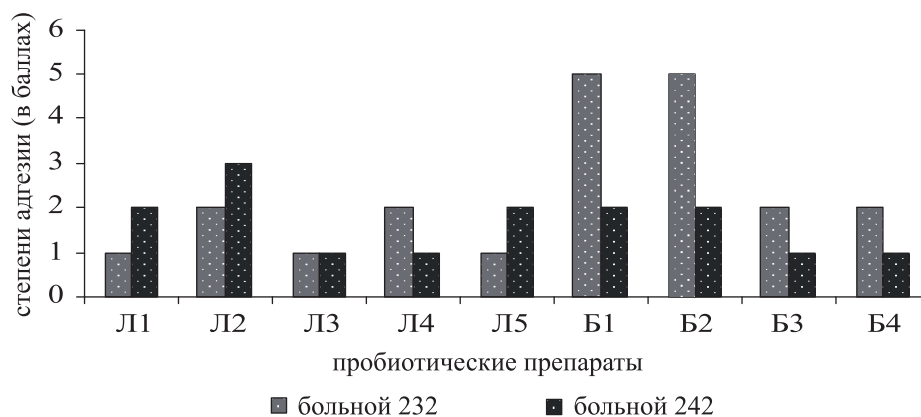
Разница в адгезии биопрепаратов на эпителии конкретного больного была статистически незначима только в трех из 40 совокупностей. В 37 совокупностях различия в адгезивной активности разных биопрепаратов на один вид эпителия оказались не случайны и статистически подтверждены (F-критерий составил от 3,5 до 45; при F критическом, равном 3,48; $\alpha = 0,05$; $dF = 5$, критерий односторонний). Таким образом, каждый из пробиотических штаммов обладал индивидуальной адгезивной активностью, которая по-разному про-



Вариант 1



Вариант 2



Вариант 3

Рис. 3. Сравнение адгезивной активности пробиотиков к буккальному эпителию разных пациентов
Примечание: Л1–Л5 – пробиотические препараты лактобактерий, Б1–Б5 – пробиотические препараты бифидобактерий

являлась на эпителиальных клетках одного и того же пациента, что, по-видимому, определяется схожестью рецепторов конкретного штамма и клетки.

Для наглядности адгезивную активность одних и тех же препаратов, оцененную по балльной системе, сравнивали по интенсивности адгезии на эпителии разных

пациентов. При сравнении прикрепляемости одних и тех же препаратов к эпителию 3 или 5 больных оказалось, что степень адгезии одного и того же препарата существенно варьировала у разных пациентов (рис. 3).

Из представленных данных очевидно следует, что адгезивность носит индивидуумспецифический харак-

Таблица 3. Адгезивные свойства условно-патогенных микроорганизмов

Штаммы условно-патогенных микроорганизмов	Количество исследуемых штаммов, N	Кол-во штаммов, имеющих адгезивную активность, N				
		1 балл	2 балла	3 балла	4 балла	5 баллов
Гемолитические штаммы <i>E. faecalis</i>	12	6	4	2	0	0
<i>S. aureus</i>	15	1	5	4	2	3
Коагулазоотрицательные стафилококки	15	3	4	0	0	8
<i>P. aeruginosa</i>	16	10	3	2	1	0
<i>Enterobacter</i> spp.	15	1	6	4	1	3
<i>Klebsiella</i> spp.	14	8	2	4	0	0
Гемолитические штаммы <i>E. coli</i>	16	4	4	5	0	3
<i>Candida</i> spp.	15	15	0	0	0	0

тер. Выявленный факт подтверждает необходимость индивидуального подбора пробиотических препаратов.

2. Адгезивные свойства условно-патогенных микроорганизмов

Была проведена оценка степени адгезии 118 штаммов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных у больных с толстокишечным дисбиозом. Исследовали адгезию гемолитических штаммов *E. faecalis*, *S. aureus*, коагулазоотрицательных стафилококков, *P. aeruginosa*, гемолитических штаммов *E. coli*, *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Candida* spp. к буккальному эпителию этих больных. Адгезивные свойства проявляли все штаммы условно-патогенных микроорганизмов (табл. 3, рис. 4).

Степень адгезии микроорганизмов варьировала. Штаммы со степенью адгезии 5 баллов чаще встречались среди коагулазоотрицательных стафилококков (53,3% штаммов), *S. aureus* (20%) и *Enterobacter* spp. (20%). Адгезивная активность у всех штаммов *Candida* spp. была невелика и находилась в пределах одного балла. Адгезивная активность гемолитических штаммов *E. aecalis* и *E. coli*, *P. aeruginosa* и *Klebsiella* spp. составляла преимущественно от 1 до 3 баллов. Очевидно, что интенсивность адгезии — штаммовый признак, который указывает на возможность колонизации биотопа конкретного пациента.

3. Адгезивные свойства грибов *Candida* spp.

В описанных ранее опытах адгезивность *Candida* spp. никогда не превышала одного балла, а фактически составляла не более 10–15 клеток на один эпителиоцит. Поэтому при целенаправленном изучении кандидозных дисбиозов и оценке адгезивности кандид был принята шкала с более тонкой градацией: до 5 адгезированных

клеток грибов *Candida* — 1 балл, от 6 до 10 — 2 балла, от 11 до 15 — 3 балла, от 16 до 20 — 4 балла, более 21 — 5 баллов. Интенсивность адгезивной активности грибов рода *Candida* подразделили на 3 степени. Низкой считалась степень адгезии в 1 балл, средней — 2 балла, высокой — 3 балла и более.

Тестировались штаммы *Candida* spp., полученные от 77 пациентов из фекалий и ротовой полости. В 29 случаях представители *Candida* spp. были выявлены и в материале из ротовой полости, и в фекалиях, в 16 случаях — только в фекалиях, в 32 — только в ротовой полости. Исследование ротовой полости рассматривалось как вспомогательный метод для уточнения распространенности микотического поражения. А поскольку в этом случае применялся лишь качественный метод, варианты обнаружения кандид только в материале из ротовой полости не рассматривались как дисбиоз.

С учетом того, что адгезивность — это штаммовый признак, были изучены все штаммы и проведена перекрестная адгезия всех выделенных штаммов к обоим типам эпителия — кишечному и буккальному — с целью оценки потенциальной колонизационной способности данных штаммов в случае распространения микотического поражения на другие слизистые. Различия в адгезивности на разные типы эпителия, отличающиеся не более, чем на 1 балл, рассматривались как несущественные с сохранением общей тенденции в интенсивности адгезии.

Штаммы, выделенные только из ротовой полости, в большинстве случаев характеризовались низкой степенью адгезии или сочетанием низкой и средней степени адгезии на разных типах эпителия. Также выявлены 2 случая со средней степенью адгезии и 7 случаев — с вы-

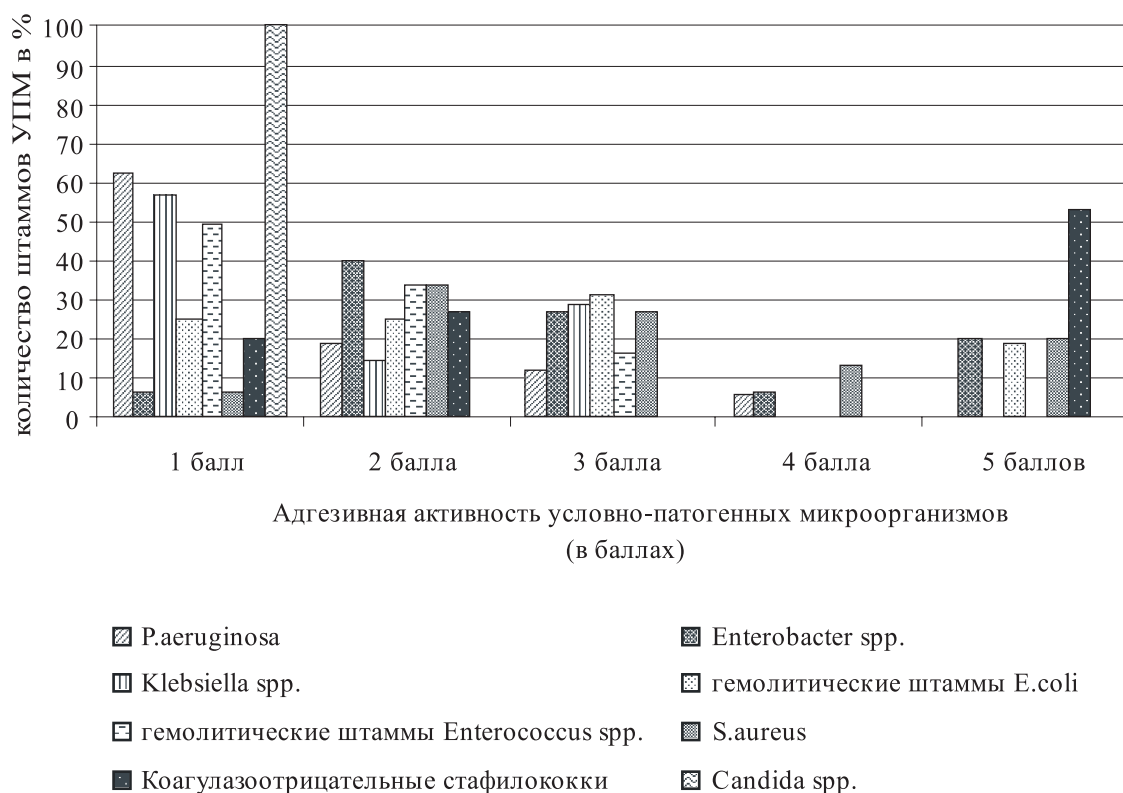


Рис. 4. Адгезивные свойства условно-патогенных микроорганизмов, выделенных при дисбиозе толстой кишки

сокой степенью адгезивности на оба типа эпителия. Несмотря на то, что данные 7 штаммов с высокой степенью адгезивности были выделены только из ротовой полости, потенциально они представляли опасность с точки зрения эффективной колонизации других биотопов.

Среди штаммов, выделенных только из кишечника или из кишечника и ротовой полости одного и того же пациента, изучались только те, количество которых превышало 10^4 КОЕ/г.

Штаммы с низкой активностью, выделенные только из фекалий (6 случаев), не рассматривались как потенциально опасные. В двух случаях отмечалась низкая степень адгезии к одному типу эпителия и высокая — к другому, такие варианты рассматривались как сомнительные. 7 штаммов, выделенных только из фекалий, характеризовались средне-высокой и высокой степенью адгезивности и являлись наиболее опасными при дальнейшем разворачивании кандидоза.

Парные штаммы, выделенные одновременно из кишечника и ротовой полости, в 15 случаях характеризовались низкой, в 2 случаях — средней, в 5 случаях — средне-высокой адгезивностью. В 5 случаях отмечался противоречивый характер адгезии — сочетание низкой и высокой степени. С определенностью о высоких колонизационных возможностях можно было говорить лишь о пяти парах штаммов *Candida spp.* со средне-высокой адгезивностью.

Суммируя полученные данные об адгезивности *Candida spp.*, мы установили, что 24,7% пациентов — носителей микромицетов являлись группой риска по развитию кандидоза других слизистых оболочек в случае отсутствия эффективной антифунгальной терапии, так как выделенные от них штаммы *Candida spp.* обладали максимальным соответствием их рецепторов рецепторам эпителиальных клеток этих же пациентов.

Выводы

1. Адгезия пробиотических штаммов зависит от сродства их рецепторов к рецепторам конкретного пациента.
2. Интенсивность адгезии одного и того же штамма к буккальному и кишечному эпителию одного и того же пациента сопоставимы, что позволяет в экспериментах по адгезии использовать буккальный эпителий вместо кишечного.
3. Выбор пробиотических препаратов для коррекции дисбиоза должен носить индивидуальный характер, в частности, на основании определения адгезивности к буккальному эпителию пациента.
4. Интенсивность адгезии — штаммовый признак, указывающий на возможность колонизации биотопа конкретного пациента.
5. При кандидозных дисбиозах кишечника изучение адгезивности грибов рода *Candida* приобретает прогностический характер.

Литература

1. Киселев С.А. Пробиотики: новый подход к механизму терапевтического действия при лечении дисбактериоза кишечника / С.А. Киселев, Д.С. Чичерин // Клиническое питание. — 2007. — № 1–2. — С. 44.
2. Savage D.C. Microorganisms associated with epithelial surfaces and stability of the indigenous gastrointestinal microflora / D.C. Savage // *Nahrung*. — 1987. — Vol. 31, N 5–6. — P. 383–395.
3. Микробиология кишечника у детей и ее нарушения / П.Л. Щербakov [и др.] // Фарматека. — 2007. — № 14 (148). — С. 28–34.
4. Глушанова Н.А. Взаимоотношения пробиотических и индигенных лактобацилл хозяина в условиях совместного культивирования *in vitro* / Н.А. Глушанова, Б.А. Шендеров // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2005. — № 2. — С. 56–61.
5. Микробиологический статус организма как важный фактор эффективности адаптивного процесса при стрессовых ситуациях / С.М. Попкова // Клиническое питание. — 2007. — № 1–2. — С. 63.
6. Shalev E. Ingestion of probiotics, optional treatment of bacterial vaginosis in pregnancy / E. Shalev // *Isr Med. Assoc. Journal*. — 2002. — Vol. 4, N 5. — P. 357–360.
7. Intestinal microflora of Estonian and Swedish infants / E. Sepp [et al.] // *Act. Paediatr.* — 1997. — Vol. 86. — P. 956–961.
8. Характеристика генновидового разнообразия бифидобактерий у городского населения Иркутской области. / Ю.П. Джиоев [и др.] // Клиническое питание. — 2007. — № 1–2. — С. 38.
9. Использование комбинации молекулярно-генетических методов для изучения доминантных штаммов бифидобактерий, колонизирующих кишечник здоровых детей / А.Н. Шкопоров [и др.] // Клиническое питание. — 2007. — № 1–2. — С. 76–77.
10. Коршунов В.М. Рациональные подходы к коррекции микрофлоры кишечника / В.М. Коршунов, В.В. Смянов, Б.А. Ефимов // Вестник РАМН. — 1996. — № 2. — С. 60–65.
11. Тарабрина Н.П. Взаимодействие лактобацилл со слизистой оболочкой кишечника / Н.П. Тарабрина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1980. — № 2. — С. 89–93.
12. Адгезивные и гемагглютинирующие свойства лактобацилл / В.И. Брилис, Т.А. Брилене, Х.П. Ленцнер, А.А. Ленцнер // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1982. — № 9. — С. 75–78.
13. Стандартизация реакции прямой гемагглютинации, вызываемой бактериями рода *Lactobacillus* / Е.Д. Бершадская, Н.Г. Фиш, П.П. Шевьев, В.И. Огарков // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 1986. — № 8. — С. 69–71.
14. Schillinger U. *In vitro* adherence and other properties of lactobacilli used in probiotic yoghurt-like products / U. Schillinger, C. Guigas, W.H. Heinrich // *International Dairy Journal* — 2005. — Vol. 15, N 12. — P. 1289–1297.
15. Savage D.C. Associations and physiological interactions of indigenous microorganisms and gastrointestinal epithelia / D.C. Savage // *Am. Journal Clin. Nutr.* — 1972. — Vol. 25, N 12. — P. 1372–1379.
16. Savage D.C. Microorganisms associated with epithelial surfaces and stability of the indigenous gastrointestinal microflora / D.C. Savage // *Nahrung*. — 1987. — Vol. 31, N 5–6. — P. 383–395.
17. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В.И. Брилис, Т.А. Брилене, Х.П. Ленцнер, А.А. Ленцнер // Лаб. дело. — 1986. — № 4. — С. 210–212.
18. Henriksson A. Characteristics of the adhesive determinants of *Lactobacillus fermentum* 104 / A. Henriksson, R. Szwedzyk, P.L. Conway // *Appl. Environ Microbiol.* — 1991. — N 57 (2). — P. 499–502.
19. Protein-mediated adhesion of *Lactobacillus acidophilus* BG2F04 on human enterocyte and mucus-secreting cell lines in culture / M.H. Coconnier [et al.] // *Appl. Environ Microbiol.* — 1992. — № 58(6). — P. 2034–2039.
20. Greene J.D. Factors involved in adherence of lactobacilli to human Caco-2 cells / J.D. Greene, T. R. Klaenhammer // *Appl. Environ Microbiol.* — 1994 — N 60(12). — P. 4487–4494.
21. Lehto E.M. Adhesion of twelve different *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures / E.M. Lehto, S.J. Salminen // *Nutr. Today*. — 1996. — N 31. — P. 49–50.
22. Tuomola E. M. Adhesion of some probiotic and dairy *Lactobacillus* strains to Caco-2 cell cultures / E.M. Tuomola, S.J. Salminen // *Int. Journal Food. Microbiol.* — 5, 1998. — Vol. 41, N 1. — P. 45–51.
23. Адгезия лактобактерий к клеткам вагинального и буккального эпителия / А.Г. Бойцов, С.В. Ришук, Ю.Ю. Ильясов, Т.А. Гречанинова // Вестник СПбГМА им. И.И. Мечникова — 2004. — № 4(5). — С. 191–193.
24. Рыбальченко О.В. Проявление антагонистического действия бактериоциногенных *Lactobacillus acidophilus* на клетки *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii* и *Proteus mirabilis* / О.В. Рыбальченко, В.М. Бондаренко, Н.Б. Вербицкая // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2006. — № 7. — С. 8–11.
25. Мухина Ю.Г. Диагностика и коррекция дисбактериоза у детей / Ю.Г. Мухина // Русский медицинский журнал. — 1999. — Т. 7, № 11. — С. 487–500.
26. Бойков С.С. Ассоциации грибов *Candida albicans* с некоторыми условно-патогенными микроорганизмами при дисбиозе кишечника у пациентов разных возрастных групп / С.С. Бойков, А.Ф. Мороз, Е.Е. Бабаева // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2005. — № 2. — С. 65–69.
27. Совершенствование методов диагностики дисбактериоза толстого кишечника: информационное письмо / Иванов В.П. [и др.]. — СПб., 2002. — 31 с.
28. Диагностика, прогнозирование течения и лечение острых кишечных инфекций условно-патогенной и смешанной этиологии: метод. рекомендации / А.С. Кветная [и др.]. — Л.; — 1990. — 27 с.
29. ОСТ 91500.11.004-2003 (приложение). Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника. Утвержден приказом Минздрава РФ от 9 июня 2003. — № 231. — 82 с.

АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ СЕРОЛОГИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ВИРУСНЫХ ГЕПАТИТОВ У ДОНОРОВ

В.В. БАЗАРНЫЙ, В.А. ТЕРСКИХ, Н.В. ГАРЕНСКИХ, Н.С. БЕРЕСНЕВА

ГОУ ВПО Уральская государственная медицинская академия Росздрава, Екатеринбург

Свердловская областная клиническая больница № 1, Екатеринбург

Резюме. В работе представлены данные продолжающегося с 1993 года серологического мониторинга за донорами Екатеринбурга и Свердловской области. Показано снижение уровня серопозитивных доноров практически в 2 раза за последние 8 лет. Наиболее распространенным серологическим маркером гемотрансмиссивных инфекций остаются антитела к вирусу гепатита С.

Ключевые слова: доноры, серологические маркеры, гемотрансмиссивные инфекции.

INCIDENCE OF VIRAL HEPATITIS SEROLOGICAL MARKERS IN DONORS

V.V. BASARNI, V.A. TERSKIH, N.V. GARENSKIH, N.S. BERESNEVA

State Educational Institution of Higher professional education "Ural State Medical Academy,

Federal Agency for Health Care and Social Development"

Sverdlov district clinical hospital № 1, Ekaterinburg

Summary. Results of serological monitoring of donors of Ekaterinburg and Sverdlov district are shown. The monitoring started at 1993 and it is continuing. 2-fold decrease of number of seropositive donors was detected during the last 8 years. Most common marker of hemotransmissible infections still are antibodies to Hepatitis C virus.

Key words: donors, serologic markers of hemotransmissible infections.

С 1993 года мы занимаемся серологическим мониторингом донорской популяции города Екатеринбурга. В данном сообщении представлены результаты ретроспективного анализа лабораторных данных, полученных при обследовании доноров с января 2001 г. по декабрь 2007 г. Отбор доноров проводился на основании критериев, утвержденных отечественным законодательством.

Для выявления Hbs-Ag и суммарных антител к вирусу гепатита С (анти-HCV), антител к Tr. Pallidum применяли метод твердофазного гетерогенного ИФА с использованием тест-систем производства НПО «Диагностические системы» (Нижний Новгород) и ЗАО «Вектор-Бест» (г. Новосибирск). Выявление антител к ВИЧ осуществляли тест-системами «Geenscreen HIV Ag/Ab» (Biogad).

Достоверность различий полученных результатов серопозитивности (в %) по годам оценивали с помощью критерия «хи-квадрат».

Результаты. Уровень серопозитивных доноров в последние годы имеет устойчивую тенденцию к снижению. Он существенно ниже у «кадровых» доноров. В частности, это относится к заметному уменьшению числа лиц с выявленными серологическими маркерами вирусных гепатитов В и С (хи-квадрат = 9,129; $p = 0,036$). В структуре серологических маркеров по-прежнему преобладают анти-HCV, хотя отмечено заметное снижение встречаемости данного маркера, в среднем в 2,5 раза. Носительство «австралийского» антитела в обследо-

ванных группах оказалось ниже, чем у доноров в других странах [5, 6].

Трансфузиологические технологии включают в себя не только доноров и реципиентов, но и медицинский персонал хирургических, реанимационных, гематологических, лабораторных и других отделений. Поэтому нами проанализирована частота выявления серологических маркеров вирусных гепатитов у медицинских работников крупной многопрофильной больницы, представляющих собой группу «профессионального риска». Серопозитивными в 2006 году оказались 4% врачей и медицинских сестер (в 2000 году — 6,8%), которые имели преимущественно анти-HCV. Таким образом, вследствие проводимых профилактических мероприятий уровень инфицирования вирусами гепатитов В и С среди медицинских работников снижается в последние годы, но остается более высоким, чем в донорской популяции.

До 2000 г. среди доноров практически не выявлялось HIV-позитивных, или они обнаруживались по 1–2 человека в год. В течение последних трех лет серопозитивными оказались 0,01–0,06% доноров (табл. 2). Это существенно ниже, чем в некоторых странах, например, в Индии, где антитела к ВИЧ выявлены у 0,66% доноров [3]. Неудивительно, что среди серопозитивных доноров преобладают (77,5%) лица сексуально активного возраста (21–30 лет). Среди «кадровых» доноров лиц с антителами к ВИЧ не выявлено.

Другим актуальным направлением скрининга в апро- бации донорской крови является выявление антител

Таблица 1. Динамика серопозитивных доноров (%)

Годы	СПК «Сангвис»	СПК Свердловской ОКБ № 1
2001	2,88	4,61
2002	2,64	3,11
2003	3,29	4,12
2004	2,52	3,90
2005	1,72	3,60
2006	1,54	3,32
2007	1,32	2,63
2008	1,20	2,50

Таблица 2. Частота серологических маркеров у доноров в г. Екатеринбурге

Годы	Количество доноров	% серопозитивных доноров, в том числе имеющих маркеры				
		Hbs-Ag	Анти-HCV	Hbs-Ag + анти-HCV	Анти-HIV	Анти-Tr. pallidum
2001	27 751	0,47	1,77	0,07	0,130	0,44
2002	27 802	0,43	1,69	0,06	0,150	0,31
2003	28 903	0,71	1,78	0,01	0,211	0,58
2004	31 708	0,50	1,44	0	0,120	0,46
2005	30 206	0,25	1,03	0	0,099	0,34
2006	25 128	0,14	0,93	0	0,115	0,35
2007	28 423	0,14	0,75	0,01	0,123	0,30
2008	28 765	0,13	0,73	0,01	0,119	0,28

Таблица 3. Серологические маркеры вирусных гепатитов В и С у доноров

Годы	СПК «Сангвис»	СПК Свердловской ОКБ № 1
2001	2,3	3,8
2002	2,2	2,7
2003	2,5	3,1
2004	1,9	3,1
2005	1,3	2,6
2006	1,1	2,1
2007	0,9	1,6
2008	0,8	1,5

к Tr. pallidum, осуществляемое с помощью комплекса тестов, которые обнаруживаются у доноров довольно редко. Тем не менее, доля таких лиц снизилась с 0,58% от донорской популяции в 2003 г. до 0,28% в 2008 году (хи-квадрат = 143,16; $p < 0,0001$).

Таким образом, результаты лабораторного мониторинга за донорской популяцией указывают на то, что

количество серопозитивных доноров неуклонно снижается за последние 5 лет. Это является следствием совершенствования организации работы службы крови и тестирования доноров, включающего, наряду с другими факторами, централизацию лабораторных исследований, использование тест-систем с высокими аналитическими характеристиками, создание компьютерных баз

данных. Различия между показателями СПК «Сангвис» и СПК Свердловской областной клинической больницы № 1, связанные с привлечением к кроводачам «случайных» доноров, диктуют необходимость более активного привлечения к донорству «кадровых» волонтеров.

Анализ полученных данных позволяет говорить о наличии общих тенденций в динамике донорской популяции Урало-Сибирского региона. Снижение уровня

серопозитивных доноров позволяет полагать, что риск развития гемотрансмиссивных заболеваний у реципиентов постоянно снижается. Однако вызывает настороженность сохраняющийся высокий уровень носительства маркеров вирусных гепатитов среди медицинских работников, что требует разработки комплекса дополнительных мероприятий по охране труда в лечебно-профилактических учреждениях.

Литература

1. Базарный В.В., Терских В.А. Лабораторный мониторинг серологических маркеров трансмиссивных инфекций у доноров города Екатеринбурга // Гематология и трансфузиология. — 2004. — № 5. — С. 43–44.
2. Нижечик Ю.С., Новоселов А.В., Терских В.А. и др. // Гематол. и трансфузиол. — 1997. — № 4. — С. 34–36.
3. Choudhury L.P., Tetali S. Ethical challenges in voluntary blood donation in Kerala, India // J. Med. Ethics. — 2007. — Vol. 33. — P. 140–142.
4. Hernandez J.M., Cid J., Claparols M. et al. Infectious disease markers in autologous blood donors and first-time volunteer blood

donors: 14 years' experience in a blood center // Haematologica. — 2004. — Vol. 89, N 7. — P. 889–891.

5. Manzini P., Girotto M., Borsotti R. et al. Italian blood donors with anti-HBc and occult hepatitis B virus infection // Haematologica. — 2007. — Vol. 92, N 12. — P. 1664–1670.

6. Soldan K., Davison K., Dow B. Estimates of the frequency of HBV, HCV, and HIV infectious donations entering the blood supply in the United Kingdom, 1996 to 2003 // Eurosurveillance. — 2005. — N 10. — P. 9–10.

Статья была опубликована в журнале «Клинико-лабораторный консилиум» № 3, 2009, с. 72–77 без списка литературы.

ВЛИЯНИЕ СУХОГО ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО АЭРОЗОЛЯ ХЛОРИДА НАТРИЯ НА ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*, ПЕРСИСТИРУЮЩЕГО НА СЛИЗИСТОЙ ЛАРИНГОФАРИНГЕАЛЬНОГО ЭПИТЕЛИЯ, В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

А.В. ЧЕРВИНСКАЯ¹, А.С. КВЕТНАЯ², Т.Б. КОРЖЕНЕВСКАЯ²

¹ Респираторный центр ФГУЗ Клинической больницы № 122 им. Л.Г. Соколова
Федерального медико-биологического агентства

² ФГУ НИИ детских инфекций Росздрав, Санкт-Петербург, Россия

Резюме. Проведено экспериментальное исследование, позволившее изучить воздействие сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия на жизнеспособность и биологические свойства и персистентные характеристики микроорганизмов, функциональное состояние ларинготрахеального слизистого эпителия слизистой передней и заднемедиальной поверхности ротоглотки.

В качестве тест-культуры использовался стандартный штамм *S. pneumoniae*, свойства которого исследовались в экспериментальной аэрозольной камере. Свойства эпителия дыхательного тракта изучались на модели клеток фарингеального эпителия, полученных у 10 волонтеров, до и после ингаляции сухого аэрозоля хлорида натрия. В качестве контроля использован аэрозоль 0,9% раствора хлорида натрия.

Установлено, что сухой высокодисперсный аэрозоль хлорида натрия оказывает ингибирующий эффект на рост и жизнеспособность микроорганизмов, изменяет их биологические свойства. После экспозиции аэрозоля наблюдалось усиление электрофизиологической функциональной активности эпителиальных клеток и возрастание их колонизационной резистентности. Полученные данные свидетельствуют о благоприятном воздействии сухого высокодисперсного аэрозоля хлорида натрия на защитные свойства клеток респираторного тракта и повышении неспецифической защиты организма.

Ключевые слова: сухой аэрозоль хлорида натрия, ингаляции, галотерапия, микроорганизмы, фарингеальный эпителий.

EFFECT OF THE DRY SODIUM CHLORIDE AEROSOL ON PHYSIOLOGICAL PROPERTIES OF *S. PNEUMONIAE* AND THE MUCOSA EPITHELIUM AT THE EXPERIMENT

A.V. CHERVINSKAYA¹, A.S. KVETNAYA², T.B. KORZHENEVSKAYA²

¹ Respiratory Center of Hospital 122 of Russian Federal Medical Biological Agency

² Research Institute of Pediatric Infections of the Russian Federation Ministry of Health,
St. Petersburg, Russia

Summary. The dry aerosol of sodium chloride with a predominant fraction of respirable particles is the main factor of action of the inhalation therapy which was given the name of halotherapy. The goal of this work was to study effects of the dry, fine-grained sodium chloride aerosol on the functional state of mucosal epithelium as well as on vital capability and biological properties of microorganisms.

As a test culture, we used the standard *S. pneumoniae* strain, whose properties were studied in an experimental aerosol chamber. Properties of the respiratory tract epithelium were studied using a model of pharyngeal epithelium cells obtained from 10 healthy volunteers before and after inhalation of the dry sodium chloride aerosol. As a control, an aerosol of 0,9% sodium chloride solution was used.

It has been established that the dry, fine-grained sodium chloride aerosol produces an inhibitory effect on growth and vital capability of microorganisms and changes their biological properties. After exposition to the aerosol there was observed an increase of the electrophysiological functional activity of the epithelial cells and a rise of their colonizational resistance.

Keywords: dry sodium chloride aerosol, inhalations, halotherapy, respiratory diseases, microorganisms, mucosa epithelium.

Литература

1. Бобров Л.Л., Пономаренко Г.Н., Середа В.П., Червинская А.В. // *Вопр. курортологии, физиотерапии и лечеб. физкультуры.* — 1999. — №4. — С. 8–12.
2. Быценко Д.С. Адаптационные механизмы формирования бактерионосительства токсигенных *Corynebacterium diphtheriae*: Автореф. ... дис. канд. мед. наук. — СПб., 2000. — 23 с.
3. Вишнякова Л.А. // Механизмы воспаления бронхов и легких и противовоспалительная терапия / Под. общей ред. Г.Б. Федосеева. — СПб.: «Нормед-Издат», 1998. — С. 67–82.
4. Гончаренко М.С., Ерещенко Е.А. // *Вестн. дерматологии и венерологии.* — 1989. — №1. — С. 11–14.
5. Грабовская К.Б. // *Стратегия возбудителя в организме хозяина: Сб. науч. тр.* / Под. ред. А.А. Тотоляна, Р.Я. Поляк. — Л., 1987. — С. 122–130.
6. Грабовская К.Б., Тотолян А.А. // *Журн. микробиол.* — 1977. — №2. — С. 32–36.
7. Дмитриева Н.Ф., Брико Н.И., Вылегжанина Е.С. // *Журн. микробиол.* — 1996. — №2. — С. 21–24.
8. Духин С.С., Эстрела-Льюис В.Р., Жолковский Э.К. *Электроповерхностные явления и электрофильтрация.* — Киев: Наук. думка, 1985. — 326 с.
9. Езепчук Ю.В. // *Стратегия возбудителя в организме хозяина: Сб. науч. тр.* / Под. ред. А.А. Тотоляна, Р.Я. Поляк. — Л., 1987. — С. 41–47.
10. Езепчук Ю.В. // *Проблемы инфектологии* / Под. ред. С.В. Прозоровского. — М.: Медицина, 1991. — 100 с.
11. Езепчук Ю.В. *Патогенность как функция биомолекул.* — М.: Медицина, 1985. — 240 с.
12. Кветная А.С. *Микробиологические основы патогенеза пневмококковой инфекции у детей: Автореф. ... дис. докт. мед. наук.* — СПб., 1995. — 36 с.
13. Копьева Т.Н., Бармина Г.В., Грובה О.М. и др. // *Арх. патологии.* — 1992. — №9. — С. 5–12.
14. Костюкова Н.Н. // *Журн. микробиол.* — 1991. — №12. — С. 9–16.
15. Маянский А.Н. // *Нижегородский медицинский журнал.* — 1992. — №4. — С. 85–91.
16. Семочкина Е.Н., Сильвестров В.П., Суриков В.Н. // *Кремлевская медицина. Клинический вестник.* — 1999. — №3. — С. 12–15.
17. Червинская А.В., Коновалов С.И., Страшнова О.В. и др. *Применение медтехнологии галотерапии в комплексном лечении и реабилитации заболеваний органов дыхания: Метод. реком.* — М., 1995. — 18 с.
18. Пономаренко Г.Н., Червинская А.В., Коновалов С.И. *Ингаляционная терапия.* — СПб.: СЛП, 1998. — С. 171–225.
19. Чучалин А.Г. // *Пульмонология.* — 1999. — №2. — С. 6–9.
20. Шмелев Е.И., Чучалин А.Г. *Хронические обструктивные болезни легких.* — М.: ЗАО «БИНОМ»; СПб.: Невский диалект, 1998. — С. 82–91.
21. Austrian R. // *Pediatr. Infect. Dis. J.* — 1989. — Vol. 8, N1. — Suppl. — P. 21–22.
22. Gibbons R.J., Van Noute J. // *Ann. Rev. Microbiol.* — 1975. — Vol. 29. — P. 19–44.
23. Ofek I., Beachey E.H. // *Adv. Intern. Med.* — 1980. — Vol. 25. — P. 503–532.
24. Redmann K., Burmeister J. // *Acta biol. et med. Germ.* — 1974. — Vol. 33. — P. 187–196.
25. Riise G.C., Larsson S., Larsson P. et al. // *Eur. Respir. J.* — 1994. — Vol. 7. — P. 94–101.
26. Seamen G.V.F. // *The red blood cell* / Ed. by D.M. Surge-mor. — N.Y.: Acad. press. — 1975. — Vol. 2. — P. 1135–1229.
27. Selinger D.S., Reed W.P. // *Infect. Immun.* — 1979. — Vol. 23, N2. — P. 545–548.
28. Smith H. // *Bacteriol. Revs.* — 1977. — Vol. 41, N2. — P. 475–500.
29. Smyth C.J., Jonsson P., Olssen E. et al. // *Infect. and Immun.* — 1978. — Vol. 22. — P. 462–472.
30. Tendford T. // *Adv. Biol. and Med. Phys.* — 1970. — Vol. 13. — P. 43–107.

УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!

Приглашаем Вас принять участие в работе I Российского конгресса с международным участием

«МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ОСНОВЫ КЛИНИЧЕСКОЙ МЕДИЦИНЫ — ВОЗМОЖНОЕ И РЕАЛЬНОЕ»

6–9 июня 2010 года, Санкт-Петербург, отель PARK INN PULKOVSKAYA

Мы надеемся, что Белые ночи, традиционное гостеприимство петербуржцев и вся атмосфера этого прекрасного города на Неве с его знаменитыми архитектурными ансамблями, удивительными музеями и замечательными театрами будут способствовать продуктивным дискуссиям и лучшему пониманию механизмов наследственных заболеваний.

Конгресс проходит при поддержке:

- Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации;
- Российской академии медицинских наук;
- Правительства Санкт-Петербурга.

В рамках конгресса будут организованы школы для врачей различных специальностей по диагностике редких наследственных заболеваний, по специализированному питанию детей с обменной патологией. Участникам будут вручены сертификаты.

ОРГАНИЗАТОРЫ КОНГРЕССА:

- Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова;
- Санкт-Петербургская государственная педиатрическая медицинская академия;
- Союз педиатров России;
- Российское общество медицинских генетиков;
- Научный центр здоровья детей РАМН;
- Федеральный центр сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова;
- Российская ассоциация медицинской лабораторной диагностики;
- Санкт-Петербургская ассоциация общественных объединений родителей детей-инвалидов «ГАООРДИ»;
- МОО «Человек и его здоровье».

ТЕМЫ КОНГРЕССА:

- Образование и интеграция специалистов в области медицинской генетики и молекулярной медицины, проблемы терминологии;
- Диагностика, профилактика и лечение наследственных болезней;
- Преконцепционная и предимплантационная диагностика;
- Пренатальная диагностика;
- Генетическая архитектура фенотипов распространенных синдромов;
- Генетика репродуктивной функции;
- Клиническая эпигенетика и неканоническое наследование;
- Методы оценки мутагенных эффектов ксенобиотиков;
- Болезни нестабильности генома;
- Клеточные технологии, генная терапия;
- Молекулярная кардиология; неврология, аллергология, пульмонология; стоматология; гематология; нефрология, онкогематология, онкология;
- Молекулярные основы нарушения липидного обмена и метаболизма костной ткани;

- Протеомика и метаболомика, фармакогенетика;
- Спортивная генетика;
- Этические проблемы молекулярной медицины;
- Проблемы метрологии, сертификации и стандартизации в молекулярной диагностике;
- Молекулярная эпидемиология;
- Информационные технологии и математическое моделирование в молекулярной медицине.

7-812-542 7291, 7-812-542 3591,

7-812-542 2225, 7-812-541 8893

e-mail: ph@peterlink.ru

Контактное лицо: Ольга Кан



Мы сделаем Вашу рукопись книгой!

Издательско-полиграфическая компания "КОСТА"
(812) 445-1002 www.kostaprint.ru

Издательско-полиграфический отдел фирмы "КОСТА" с 1993 года занимается подготовкой и изданием книг.

За эти годы мы приобрели большой опыт подготовки специальной и, в частности, медицинской литературы.

Среди подготовленных нами книг — работы в области кардиологии, неврологии, хирургии, генетики и других областях медицины.

Мы будем рады помочь Вам подготовить к печати юбилейный сборник, монографию, брошюру, методические рекомендации, автореферат.

Собственная полиграфическая база позволяет оперативно отпечатать любую полиграфическую продукцию.

Кроме того, наши дизайнеры разработают для Вас визитки, наклейки, рекламные листовки, обложки книг.

Не тратьте драгоценное время Ваших специалистов — приходите к нам.

Сделать Вашу рукопись книгой — наша специальность.