

САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
им. акад. И. П. ПАВЛОВА

УЧЕНЫЕ ЗАПИСКИ

Санкт-Петербургского государственного
медицинского университета им. акад. И. П. Павлова

Главный редактор
Н. А. ЯИЦКИЙ

том XVI · № 2 · 2009

ИЗДАТЕЛЬСТВО СПбГМУ
САНКТ-ПЕТЕРБУРГ
2009

РЕДКОЛЛЕГИЯ

Главный редактор –
Н. А. Яицкий – акад. РАМН
Зам. главного редактора –
Е. В. Соколовский – д. м. н., проф.
Ответственный секретарь –
Л. А. Алексина – д. м. н., проф.
Б. В. Афанасьев – д. м. н., проф.
Р. В. Бабаханян – д. м. н., проф.
Е. Р. Баранцевич – д. м. н., проф.
А. П. Бобров – д. м. н., проф.
Н. И. Вишняков – д. м. н., проф.
А. Я. Гриненко – д. м. н., проф.
В. В. Гриценко – д. м. н., проф.
Ю. Д. Игнатов – акад. РАМН
М. М. Илькович – д. м. н., проф.
А. И. Крылова – к. м. н., доцент
Н. Г. Незнанов – д. м. н., проф.
Н. Н. Петрищев – д. м. н., проф.
Ю. С. Полушин – д. м. н., проф.
М. Г. Рыбакова – д. м. н., проф.
С. А. Симбирцев – д. м. н., проф.
А. В. Смирнов – д. м. н., проф.
В. В. Тец – д. м. н., проф.
В. В. Томсон – д. м. н., проф.
А. А. Тотолян – д. м. н., проф.
В. Н. Трезубов – д. м. н., проф.
Е. В. Шляхто – чл.-корр. РАМН

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Э. К. Айламазян – акад. РАМН (Санкт-Петербург)
С. Х. Аль-Шукри – проф. (Санкт-Петербург)
Ю. С. Астахов – проф. (Санкт-Петербург)
В. Л. Быков – проф. (Санкт-Петербург)
А. А. Воробьев – акад. РАМН (Москва)
Г. И. Воробьев – акад. РАМН (Москва)
А. М. Дыгай – проф. (Томск)
Н. В. Корнилов – чл.-корр. РАМН (Санкт-Петербург)
М. Т. Луценко – проф. (Благовещенск)
Л. В. Поташов – чл.-корр. РАМН (Санкт-Петербург)
М. Р. Сапин – акад. РАМН (Москва)
В. М. Седов – проф. (Санкт-Петербург)
С. Б. Середенин – акад. РАМН (Москва)
А. А. Скоромец – акад. РАМН (Санкт-Петербург)
М. М. Соловьев – проф. (Санкт-Петербург)
А. С. Тиганов – акад. РАМН (Москва)
Б. И. Ткаченко – акад. РАМН (Санкт-Петербург)
Г. Б. Федосеев – чл.-корр. РАМН (Санкт-Петербург)
И. С. Фрейдлин – чл.-корр. РАМН (Санкт-Петербург)
Н. А. Яицкий – акад. РАМН (Санкт-Петербург)
Э. С. Габриелян – акад. (Ереван)
В. Н. Гурин – акад. БАН (Минск)
Г. Г. Лежава – проф. (Тбилиси)
Jan M. van Ree (Нидерланды)
F. De Rosa (Италия)
George E. Woody (США)
James A. Hoxie (США)
Ian Frank (США)
A. Zander (Германия)

Редактор Л. А. Алексина

Обложка и художественное оформление Е. В. Корнилова

Компьютерная верстка и подготовка оригинал-макета А. А. Чиркова

Корректор В. А. Черникова

Журнал зарегистрирован
Государственным комитетом Российской Федерации по печати.
Свидетельство № 017631 от 22 мая 1998 г.
Подписано в печать 20.05.09. Формат бумаги 60×90^{1/8}.
Бумага офсетная. Печать офсетная. Тираж 1000 экз. № 850/2009. Заказ .
Издательство СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова,
197089, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, 6/8.

СОДЕРЖАНИЕ

Обзоры и лекции

Т. Ф. Субботина, А. В. Тимофеев, А. А. Жлоба

КАРБОКСИПЕПТИДАЗНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ФИБРИНА КАК ФАКТОР РИСКА ТРОМБОЗА 5

М. А. Кучер, О. В. Голощапов, Б. А. Ганапиев, Б. В. Афанасьев

НУТРИТИВНАЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ
ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК 10

Организация здравоохранения

Д. А. Лиознов

ОПЫТ РАБОТЫ КОНСУЛЬТАТИВНО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ЦЕНТРА
ДЛЯ ПОДРОСТКОВ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ 18

С. А. Балохина, Н. Г. Петрова, Л. С. Слесаревская, Э. В. Комличенко, М. М. Мартиросян

УПРАВЛЕНИЕ МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКИМИ РЕСУРСАМИ КАК НЕОБХОДИМОЕ УСЛОВИЕ
ОКАЗАНИЯ КАЧЕСТВЕННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ 21

Н. Г. Петрова, Л. С. Слесаревская, С. А. Балохина, Э. В. Комличенко, М. М. Мартиросян, М. В. Петров

ВНЕДРЕНИЕ НОВЫХ ОРГАНИЗАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ КАК УСЛОВИЕ ПОВЫШЕНИЯ
КАЧЕСТВА МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ 23

Г. А. Хацкевич, К. И. Шапиро, М. Г. Булгаков

ОРГАНИЗАЦИЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ДЕТЯМ С ЧЕЛЮСТНО-
ЛИЦЕВОЙ ПАТОЛОГИЕЙ (КЛИНИКО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ) 25

Н. В. Туркина, Н. П. Марчук, Т. В. Рыжонина

КАДРОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ СЛУЖБЫ РОДОВСПОМОЖЕНИЯ 30

Оригинальные работы

М. Л. Поспелова, О. Д. Барнаулов, И. Г. Крупоткина, М. И. Кадинская

ВЛИЯНИЕ ФИТОТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ
БРАХЕОЦЕФАЛЬНЫХ АРТЕРИЙ 34

Л. В. Бурухина, А. Е. Ширинкина, А. А. Шурыгин, М. С. Ждакаев

РОЛЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЭФФИЦИЕНТА АДЕНОЗИН ДЕЗАМИНАЗЫ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ
ДИАГНОСТИКЕ ПЛЕВРИТОВ 36

Л. А. Александрова, И. В. Александров, Г. В. Папаян, А. А. Жлоба, Н. Н. Петрищев,

ВЛИЯНИЕ СВЕТА ОПТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА НА ДЕКОМПОЗИЦИЮ S-НИТРОЗОГЛЮТАТИОНА 38

Н. А. Бархатова

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ И РЕЦЕП-
ТОРНОГО АНТАГОНИСТА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ И ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ
ФОРМАХ ИНФЕКЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ 41

М. И. Зарайский, Д. Ю. Семенов, М. Е. Борискова, И. Ю. Сабурова, П. А. Панкова, Н. С. Фещенко, В. Г. Чаусова,
У. В. Фарафонова, О. А. Пестерова

ЗНАЧЕНИЕ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ ГЕНА BRAF В ДООПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА
ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ 45

З. Г. Тадгаева, А. А. Скоромец, Ю. Л. Кацадзе

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ МИГРЕНИ С АУРОЙ У ДЕТЕЙ 48

| | |
|--|----|
| В. Ю. Вальгрэн, Е. М. Крупицкий, Э. Э. Звартау, Д. В. Масалов, А. М. Бураков, М. В. Цой-Подосенин, Е. В. Вербицкая, Д. А. Лиознов | |
| НАЛТРЕКСОН КАК СРЕДСТВО ПОВЫШЕНИЯ ПРИВЕРЖЕННОСТИ К АРВ-ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ С СОПУТСТВУЮЩЕЙ ГЕРОИНОВОЙ НАРКОМАНИЕЙ | 51 |
| П. П. Бельтюков, И. Н. Абдурасулова, Е. И. Тарасова, А. Н. Суворов, Е. Т. Захарова, А. В. Соколов, М. Н. Карпенко, Е. И. Ермоленко | |
| ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЭШЕРИХИЙ И ЭНТЕРОКОККОВ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ЗДОРОВЫХ КРЫС | 54 |
| И. Б. Савин | |
| ПРИМЕНЕНИЕ ОСТЕОСЦИНТИГРАФИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ МЕТАБОЛИЗМА В КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗНОМ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ КРУПНЫХ СУСТАВОВ ДО И ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ | 58 |
| Ю. В. Гайдук | |
| КЛИНИКО-НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ ПОЗВОНОЧНИКА И ДИСПЛАСТИЧЕСКИМИ СКОЛИОЗАМИ | 61 |
| В. А. Балясная | |
| НАРУШЕНИЯ СЕКРЕТОРНОЙ ФУНКЦИИ ТОНКОЙ КИШКИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРИ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ | 64 |
| Л. Ю. Гривцова | |
| ЭКСПРЕССИЯ ОБЩЕЛЕЙКОЦИТАРНОГО АНТИГЕНА CD45 НА МОБИЛИЗОВАННЫХ (CD34+) СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ | 69 |
| В. А. Ершов, К. В. Федосенко | |
| К ВОПРОСУ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПЕРВИЧНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПЕЧЕНИ | 74 |
| Ю. А. Хрусталева | |
| АНАЛИЗ ПРИЧИН СМЕРТИ ПОСТРАДАВШИХ В СЛУЧАЯХ УСТАНОВЛЕНИЯ ЭКСПЕРТАМИ ПРИЧИННО-СЛЕДСТВЕННЫХ СВЯЗЕЙ | 77 |
| О. М. Фандеева | |
| НАСЛЕДОВАНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ НА ПАЛЬЦАХ РУК И НОГ В СЕМЕЙНЫХ ГРУППАХ | 79 |
| Краткие сообщения | |
| Л. А. Алексина, А. Л. Фандеев, В. И. Ригонен, О. М. Фандеева | |
| АНАЛИЗ ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЖИТЕЛЕЙ ЮГА РОССИИ | 83 |
| Ю. С. Астахов, С. Н. Тульцева | |
| РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ ФАКТОРОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА БОЛЬНЫХ С ТРОМБОЗОМ ВЕН СЕТЧАТКИ | 84 |
| Е. В. Крылова | |
| ВОЗМОЖНОСТИ АУТОФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДЕРМАТОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ | 85 |
| А. Е. Мотушук, Н. А. Грудинина, В. В. Рахманов, М. Ю. Мандельштам, Ю. С. Астахов, В. Б. Васильев | |
| НОВАЯ МУТАЦИЯ R369INS В ГЕНЕ <i>CRY11</i> У ПАЦИЕНТА С ПЕРВИЧНОЙ ВРОЖДЕННОЙ ГЛАУКОМОЙ ИЗ САНКТ-ПЕТЕРБУРГА | 88 |

© Т. Ф. Субботина, А. В. Тимофеев, А. А. Жлоба, 2009 г.
УДК 616-005.6-02:612.115.1

**Т. Ф. Субботина, А. В. Тимофеев,
А. А. Жлоба**

КАРБОКСИПЕПТИДАЗНАЯ МОДИФИКАЦИЯ ФИБРИНА КАК ФАКТОР РИСКА ТРОМБОЗА

Отдел биохимии НИЦ Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова

Баланс между свертыванием крови и фибринолизом обеспечивает поддержание реологических характеристик крови – многокомпонентной дисперсной системы, циркулирующей в сосудистом русле всех позвоночных и некоторых беспозвоночных животных. Итогом свертывания является отложение стабилизированного фибрин-полимера в формирующийся кровяной тромб. Последующий фибринолиз разрушает фибриновую сеть. Как свертывание, так и фибринолиз в своей основе имеют каскады ферментативных реакций, центральными участниками которых выступают фибриноген и фибрин, ферменты (преимущественно семейства сериновых протеиназ), а также их ингибиторы. Основными компонентами системы фибринолиза, направленной на ограничение «роста» и расщепление фибринового сгустка до растворимых продуктов, являются пламиноген, плазмин, тканевой активатор пламиногена (тАП), фибрин и фибриноген на разных уровнях деградации, а также ингибиторы плазмينا.

Пламиноген – гликопротеин, не обладающий ферментативной активностью. Вырабатываемые в процессе активации фибринолиза факторы, в первую очередь, тАП, вызывают превращение пламиногена в плазмин путем расщепления пептидной связи Arg560 – Val561 [31]. Можно выделить три основных уровня регуляции фибринолиза.

1. *Регуляция на уровне активации тАП.* тАП синтезируется эндотелиоцитами [28] и циркулирует в крови [12]. Опосредованная тАП активация пламиногена ускоряется в присутствии фибрина, но практически не стимулируется фибриногеном [6, 8, 24, 34]. Существуют данные, предполагающие, что пламиноген, связанный с α C-доменом фибрин(оген)а, может регулировать фибринолиз [45, 51]. Опосредуемая тАП активация пламиногена значительно усиливается фибрин-полимерами [13, 19, 41]. Сначала тАП связывается с фибрином, а последующее присоединение пламиногена формирует тройной комплекс [19, 35]. Дальнейшее протеолитическое расщепление фибрина пламином открывает дополнительные лизинозные сайты связывания [38, 39], тем самым усиливая фибринолиз за счет присоединения новых молекул пламиногена [52].

2. *Модуляция активности плазмينا.* Известно несколько идентифицированных белков плазмы, угнетаю-

щих образование плазмина или его действие на фибрин. Наиболее важным из них является α 2-антиплазмин (α 2АП) [17, 26, 43]. α 2АП может ковалентно присоединяться к α -цепям фибрина в положении A α 303 [26, 36], тем самым повышая устойчивость фибрина к протеолитической деградации пламином [36].

3. *Регуляция путем изменения количества сайтов связывания пламиногена, фибрина и продуктов его деградации.* Компонентами, способными регулировать фибринолиз, являются липопротеин α и богатый гистидином гликопротеин [23, 29].

В начале 90-х гг. прошлого столетия было показано, что в регуляции фибринолиза через изменение мест связывания плазмина существенную роль играет карбоксипептидазная активность плазмы крови, обеспечиваемая при физиологических условиях известной в настоящее время карбоксипептидазой U (CPU) (КФ 3.4.17.20). В соответствии с современной номенклатурой, CPU рассматривается как основная карбоксипептидаза, принадлежащая к семейству металлопептидаз и в качестве кофактора содержащая ион цинка [47].

Нарушение тонкого равновесия в системе «протеолиз – его ингибирование» при свертывании и/или разрушении тромба может приводить к возникновению таких патологических состояний, как тромбоз и/или аномальное (избыточное) кровотечение. Наследственные дефекты факторов фибринолиза, а также некоторые дисфибриногенемии вызывают предрасположенность к тромбозам.

История открытия и изучения CPU. Первое описание новой основной карбоксипептидазы, выделенной из сыворотки крови человека и отличной от карбоксипептидазы N (CPN) (КФ 3.4.17.3), было представлено в 1988 г. коллективом клинических биохимиков из Антверпенского университета [20]. Они показали, что вновь открытый фермент способен гидролизовать C-концевые основные аминокислоты и проявляет нестабильность, обладая временем полужизни около 15 минут при 37 °С, поэтому фермент обозначили как «нестабильная карбоксипептидаза» (carboxypeptidase unstable, CPU) [20, 21]. В 1991 г. при использовании аффинной хроматографии с иммобилизованным на сефарозе пламиногеном в плазме человека была идентифицирована некая ранее неизвестная карбоксипептидаза, которой присвоили имя «плазменная карбоксипептидаза В» (pCPB), по своим характеристикам идентичная выделенной ранее CPU. Также было высказано предположение о вероятной роли pCPB в физиологическом фибринолизе и клонирован участок ДНК, ответственный за гепатоспецифичную транскрипцию данной карбоксипептидазы [14]. Два года спустя группа исследователей [3], работающих в области гемостазиологии и сосудистой биологии, задалась вопросом: каким образом тромбин пролонгирует время лизиса фибринового сгустка, наблюдаемое в бесклеточной плазменной системе? Потенциальный механизм, раскрывающий ответ на поставленный вопрос, был получен авторами, когда они попытались в системе «чистых компонентов» воспроизвести профибринолитический эффект активированного

белка С. При этом выяснилось, что обедненная плазминогеном плазма, дополненная чистым плазминогеном, сохраняла профибринолитический эффект, в то время как тот же самый плазминоген в системе «чистых компонентов» не показывал его. Так стало очевидным, что расхождения обусловлены использованием различных препаратов плазминогена. Все это привело к предположению, что тромбин ингибирует фибринолиз не самостоятельно, а через активацию некоего вещества, содержащегося в некоторых препаратах плазминогена, а также в плазме. Исходя из данной гипотезы авторы назвали данное вещество ингибитором фибринолиза, активируемым тромбином (thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, TAFI). Таким образом, препараты CPU были получены и охарактеризованы несколькими биохимическими лабораториями, поэтому к настоящему времени она известна под рядом названий – CPU, pCPB, TAFI.

Молекулярная генетика CPU. Ген, кодирующий CPU человека (CPB2), расположен на 13-й хромосоме [44]. Дальнейшее картирование локализовало ген CPU на длинном плече 13-й хромосомы: 13q14.11 [48]. Ген CPU человека содержит 11 экзонов и занимает приблизительно 48 кб геномной ДНК. Расположение интрон/экзонных переходов неизменно среди генов: CPU человека, панкреатических карбоксипептидаз A1, A2 и B крысы, а также базофильноклеточной карбоксипептидазы A человека, что указывает на возможность происхождения всех перечисленных генов от единого предкового участка ДНК. Промотор CPU-гена содержит последовательность (70 п. о.), ответственную за печеночную экспрессию данного гена. Кроме того, 5'-фланкирующий регион CPU-гена не обладает ТАТА-последовательностью, и транскрипция инициируется в нескольких сайтах. Полиаденилирование образующегося транскрипта CPU-гена может происходить в трех различных местах [5]. К настоящему времени обнаружены и изучены три однонуклеотидных полиморфизма в кодирующем регионе CPU-гена:

- 1) полиморфизм 678 C/T, являющийся молчащей мутацией;
- 2) полиморфизм 505 A/G, приводящий к аминокислотной замене аланина 147 на треонин (Ala147Thr) [5];
- 3) полиморфизм 1040 C/T, реализующийся на уровне белка в замене треонина 325 на изолейцин (Thr325Ile) [5, 7, 53].

Все описанные в литературе полиморфизмы CPU-гена ассоциированы с уровнями CPU-антигена в плазме. При изучении полиморфизмов 678 C/T и 505 A/G не было выявлено никаких функциональных различий экспрессируемых белков [5]. Остатки аминокислот 325 расположены в домене белка, ответственном за температурную стабильность. Ile325-изоформы CPU имеют удлиненное время полужизни в сравнении с Thr325-белками, независимо от характера аминокислотного остатка в 147-м положении. Полученные в исследованиях данные указывают на то, что полиморфизм остатка 325 – общий для человеческой популяции [27]. Таким образом, возможность существования высокого риска тромбоза, вероятнее всего, ас-

социирована с уровнями Ile325-аллельных вариантов CPU в плазме крови [40]. Гомозиготы CPB21040T (из аборигенов Канады) имеют статистически достоверную ассоциацию более низкого диастолического артериального давления в сравнении с другими популяциями [27]. Также описаны полиморфизмы в нетранслируемых областях гена 5'- и 3'-концов [15, 22], что доказывает факт строгого генетического контроля уровней CPU в плазме. В последние годы искусственно получены (с использованием сайтнаправленного мутагенеза) мутанты CPU, обладающие повышенной в сравнении с дикими типами стабильностью (Ser305Cys, Thr329Ile): сочетая данные мутации в Ala147Ile325-варианте, были экспрессированы высокостабильные формы, наиболее стабильные из которых имеют время полужизни около 70 минут, тогда как время полужизни наиболее часто встречающегося варианта Ala147Thr325 составляет всего 6 минут при 37 °C [11].

Структурная биохимия CPU. CPU образуется внутриклеточно в виде препрофермента длиной в 423 а. о. и состоящего из сигнального пептида (22 а. о.), активационного пептида (92 а. о.) и каталитического домена (309 а. о.). Сигнальный пептид обладает многими общими характеристиками сигнальных пептидов, в том числе гидрофобным характером и концевым аланином. Сигнальный пептид отщепляется внутриклеточно, и в циркулирующую кровь поступает профермент CPU (proCPU), включающий активационный и каталитический пептиды. Активационный пептид proCPU является уникальным среди гомологичных прокариотических карбоксипептидаз, поскольку, в отличие от тканевых форм карбоксипептидаз (tCPA, tCPB), он подвергается сильному N-гликозилированию. В нем обнаружено четыре потенциальных Asn-связанных сайта гликозилирования [14]. Каталитический домен имеет 50% идентичности с таковыми у tCPA, tCPB и включает семь цистеиновых остатков, ответственных за каталитическую активность, связывание субстрата и координацию активного сайта цинкового иона. Asp257, Gly245 и Ser208 указывают на основную активность (специфичность CPU к C-концевым аргинину и лизину) [14]. Каталитический домен также несет один сайт потенциального гликозилирования [47]. Возможно, высокая степень гликозилирования CPU выполняет некую функцию при фолдинге образующегося на рибосомах белка. Большая плотность связанных углеводов в активационном пептиде может влиять на вторичную структуру и конформационную подвижность полипептидной цепи, что представляет особый интерес, поскольку активационный пептид прокариотических карбоксипептидаз стерически преграждает доступ в активный центр, контролируя вход молекул субстрата в каталитическую область. Эти предположения позволяют объяснить показанную в недавние годы каталитическую активность proCPU по отношению к пептидам длиной в 10–20 а. о. [47]. Существуют высказывания, приписывающие гликозилированию функцию стабилизации молекулы и тем самым увеличения времени жизни профермента CPU [14]. Активационный и каталитический пептиды содержат Gln2-, Gln5- и Gln292-остатки, выступающие в качестве главных

аминоакцепторов при трансглутаминировании, катализируемом ф. XIIIa. CPU экспонирует области высокой аффинности для $\alpha 2$ -макроглобулина. Связывание с этим ингибитором, возможно, является механизмом «чистки» от CPU и proCPU, ковалентно присоединившихся к фибриновому сгустку при участии трансглутаминаз во время свертывания [46].

In vitro CPU ингибируется специфическим ингибитором tCPB – DL-5-гуанидиноэтилмеркаптоантарной кислотой, однако естественного ингибитора выявить пока не удалось.

Физиология и патофизиология CPU. Активация proCPU может катализироваться как плазмином, так и тромбином; при этом отщепляется активационный пептид и образуется активный фермент CPU. В литературе описана возможность активации proCPU нейтрофильной эластазой. Циркулирующая активная форма CPU проявляет термоллабильность и может в результате спонтанных конформационных изменений переходить в неактивную форму CPU – более чувствительную к тромбину. Данная инактивация обратима и зависит от концентрации субстрата. Воздействие тромбина на инактивированную форму приводит к необратимой протеолитической деградации белка. Чистый тромбин является «плохим» активатором CPU, но в комплексе с тромбомодулином активация усиливается в 1250 раз (аналогичные параметры кинетики наблюдаются при активации белка C комплексом тромбин-тромбомодулин (Т-Тм)). И клеточная, и растворимая формы тромбомодулина ингибируют фибринолиз, потенцируя активацию CPU [4]. Данные, полученные на основе анализа аминокислотных последовательностей, участвующих в связи с Т-Тм, свидетельствуют, что места связывания Т-Тм с белком С и CPU различны [18]. Анализ кристаллической структуры и данные компьютерного моделирования показывают, что сайты расщепления белка С и CPU становятся оптимально доступными для тромбина, когда он находится в комплексе с тромбомодулином [16, 18, 50].

Согласно современным представлениям, сначала формируется комплекс Т-Тм либо комплекс тромбин-субстрат (CPU), а далее к ним добавляется третий компонент. Таким образом, в соответствии с общепринятыми представлениями, активная форма CPU генерируется комплексом Т-Тм, выступающим в роли основного физиологического активатора proCPU. Существует возможность активации proCPU ф. XIa, что объясняет его антифибринолитический эффект [9]. Физиологическая активация плазмином также возможна, но в 8 раз медленнее [30]. Нефракционированный гепарин увеличивает каталитическую эффективность плазмينا по отношению к CPU почти на два порядка, что свидетельствует в пользу использования гепарина и как агента, предотвращающего образование фибрина, и как агента, препятствующего растворению фибрина за счет стимуляции CPU-зависимого фибринолиза [30].

CPU способна прямо инактивировать плазмин, но ее физиологическая концентрация не обеспечивает катализ

данной реакции. При соотношении CPU к proCPU, равном 1:10, достигается максимально возможное время удлинения лизиса фибринового сгустка. CPU способна ингибировать только Glu-плазминогенопосредованный фибринолиз. Основной механизм пролонгирования фибринолиза CPU заключается в отщеплении С-концевых лизиновых и аргининовых остатков от частично деградированного плазмина фибрина, что лишает продукты деградации фибрина возможности стимулировать активацию Glu-плазминогена, тем самым снижая кофакторную способность фибрина.

Сведения о наличии аминокислотных участков в CPU (proCPU) предполагают, что молекулы карбоксипептидазы U могут быть включены в фибрин во время свертывания и функционировать в содружестве с другими белками (в том числе $\alpha 2$ АП), предотвращая растворение «незрелого» фибринового сгустка [46].

Кроме регуляции фибринолиза, CPU выступает в роли модулятора воспаления при различных ответах макроорганизма как инфекционного, так и неинфекционного генеза. CPU инактивирует анафилоксины С3а и С5а, отщепляя их С-концевые аргининовые остатки и тем самым снижая их провоспалительную функцию [10, 32]. CPU вовлечена в превращение фибринопептида В, являющегося потенциальным нейтрофильным хемоаттрактантом, конвертируя фибринопептид В в дезArg-метаболит [33, 42]. CPU отщепляет концевые аргининовые остатки от процессированного тромбином остеопонтинина, чем влияет на адгезивную функцию белка. CPU способна катализировать превращение брадикинина в дез⁹ Arg-брадикинин – селективный агонист рецептора кинина В1, играющего роль в хронических воспалительных процессах [33]. Некоторые авторы рассматривают ген CPU в качестве кандидата гена кровяного давления [27], а также белка острой фазы и стрессового ответа [25, 37]. Стрептококки *S. pyogenes* группы А M41 серотипа способны взаимодействовать с помощью своих поверхностных адгезиновых комплексов (SclA и SclB) с CPU, прикрепляя его к собственной поверхности и активируя одним из физиологических активаторов, тем самым защищая фибриновую сеть, с помощью которой бактерии присоединяются к эндотелиоцитам, от фибринолиза. Тем самым бактерия способствует замедлению растворения «фибринового сгустка», за которым она «скрывается» от иммунной системы макроорганизма [33].

Методы лабораторной оценки CPU. CPU представляет клинический интерес в связи с тем, что, обладая антифибринолитическим эффектом, высокие концентрации proCPU или повышенная стабильность некоторых изоформ активного CPU могут являться фактором риска тромбоза. Кроме того, высокие концентрации proCPU (CPU) могут выступать как маркер очагов бактериальной инфекции.

Плазменные концентрации CPU существенно варьируют у различных индивидуумов. В настоящее время в качестве референтного интервала рассматривается концентрация proCPU в плазме крови человека 75–250 нМ

[49]. Исходя из того, что эта концентрация значительно ниже K_m для активации Т-Тм комплексом, образование CPU будет зависеть как от концентрации Т-Тм комплекса, так и от концентрации ргоCPU. Антифибринолитический эффект CPU составляет половину от максимального при концентрации CPU 1 нМ. Таким образом, лишь незначительная часть плазменной ргоCPU необходима для проявления максимального удлинения времени лизиса фибринового сгустка, наблюдаемого при 20 нМ. Следовательно, повышение концентрации CPU выше 20 нМ не отражается на увеличении времени фибринолиза. Последующее увеличение времени лизиса возможно только за счет повышения стабильности молекулы CPU [11].

Концентрация ргоCPU в плазме может быть измерена двумя принципиально отличающимися группами методов.

1. Методы иммунологической детекции базируются на различных модификациях техники иммуноферментного анализа (ИФА) [49]. Данная группа методов проста и удобна в исполнении, не требует предварительной активации профермента и не перекрывается с конститутивно активной плазменной основной карбоксипептидазой N. Трудностью при использовании ИФА-методов является наличие полиморфизмов: каждая из полиморфных аминокислот влияет на иммунореактивность препарата. Поэтому CPU в исследуемом образце крови всегда необходимо хорошо охарактеризовать генотипически. Также антитела к проферменту могут проявлять различную реактивность по отношению к свободной ргоCPU, CPU, ргоCPU, связанной с плазминогеном, конформационно и протеолитически измененным формам CPU. Хотя в плазме белок представлен в основном в своей зимогенной форме, относительно небольшие количества активной и по-разному инактивированной форм могут встречаться у пациентов с расстройствами системы гемостаза.

2. Методы, основанные на детекции ферментативной активности, можно разделить на ЖХВД-сопровождаемые и спектрофотометрические. Данные группы методов оценивают только энзиматически активную форму CPU [49]. Поскольку все описанные полиморфизмы не имеют различий в кинетиках активации, а активированные ферменты проявляют одинаковую активность, это является безусловным преимуществом. К основным недостаткам методов ферментативной детекции можно отнести необходимость полной количественной активации профермента ввиду его нестабильности, а как следствие этого – необходимость использования большого избытка субстрата для стабилизации фермента. Также большинство этих методов в качестве субстрата используют малые (преимущественно дипептидные) молекулы, которые являются неселективными для CPU, и поэтому возможно перекрытие ее активности с активностью CPN.

Не преуменьшая значимость методов точного количественного определения CPU, следует отметить, что при одной и той же концентрации функциональные последствия его активации могут быть весьма различными в зависимости от многих факторов, в числе которых концентрации тромбомодулина, белка С, фибриногена, ско-

рость генерации тромбина, стабильность самой молекулы CPU. В связи с этим необходима разработка методов функциональной оценки ингибирующего вклада карбоксипептидазной активности плазмы в процесс фибринолиза. В данное время общепринятого метода подобной оценки нет. Следует обратить внимание на возможность турбидиметрической регистрации процесса фибринолиза в результате активации имеющегося в крови плазминогена стандартным количеством его активатора [1]. Положительной стороной данного подхода является то, что метод турбидиметрической регистрации позволяет дифференцировать фазы инициации и распространения фибринолиза, поскольку известно, что карбоксипептидазная активность вносит решающий вклад в процесс фибринолиза именно на его заключительном этапе. Приведенные данные [2] позволяют считать, что метод турбидиметрического анализа – технически простой, воспроизводимый и доступный – может быть использован для скрининговой оценки возможного вклада карбоксипептидазной активности крови в процесс торможения фибринолиза.

ЛИТЕРАТУРА

1. Субботина, Т. Ф. Сорбция плазминогена на фибрине как одно из условий эффективного фибринолиза / Т. Ф. Субботина // Вопросы биол., мед. и фармацевт. химии. – 2006. – № 1. – С. 24–29.
2. Субботина, Т. Ф. Ингибирование фибринолиза при метаболическом синдроме – методы выявления и возможные причины / Т. Ф. Субботина, А. В. Тимофеев, А. А. Жлоба // Пушкинские чтения: IV науч.-практ. геронтолог. конф. с междунар. участием, посвященная памяти Э. С. Пушкиной. 20–21 нояб. 2008: тезисы докл. – СПб., 2008. – С. 144–146.
3. Bajzar, L. The effect of activated protein C on fibrinolysis in cell-free plasma can be attributed specifically to attenuation of prothrombin activation / L. Bajzar, M. E. Nesheim // J. Biol. Chem. – 1993. – № 268. – P. 8608–8616.
4. Bajzar, L. Both cellular and soluble forms of thrombomodulin inhibit fibrinolysis by potentiating the activation of thrombin-activable fibrinolysis inhibitor / L. Bajzar [et al] // J. Biol. Chem. – 1998. – № 273. – P. 2792–2798.
5. Boffa, M. B. Characterization of the gene encoding human TAFI (thrombin-activable fibrinolysis inhibitor; plasma procarboxypeptidase B) / M. B. Boffa [et al] // Biochemistry. – 1999. – № 38. – P. 6547–6558.
6. Bok, R. A. Quantitative characterization of the binding of plasminogen to intact fibrin clots, lysine-sepharose, and fibrin cleaved by plasmin / R. A. Bok, W. F. Mangel // Biochemistry. – 1985. – № 24. – P. 3279–3286.
7. Brouwers, G. J. A novel, possibly functional, single nucleotide polymorphism in the coding region of the thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) gene is also associated with TAFI levels / G. J. Brouwers [et al] // Blood. – 2001. – № 98. – P. 1992–1993.
8. Bosma, P. J. Binding of tissue-type plasminogen activator to fibrinogen fragments / P. J. Bosma, D. C. Rijken, W. Nieuwenhuizen // Eur. J. Biochem. – 1988. – № 172. – P. 399–404.
9. Bouma, B. N. Factor XI dependent and independent activation of thrombin activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) in plasma associated with clot formation / B. N. Bouma [et al] // Thromb Haemost. – 1999. – № 82. – P. 1703–1708.
10. Campbell, W. D. Inactivation of C3a and C5a octapeptides by carboxypeptidase R and carboxypeptidase N / W. D. Campbell [et al] // Microbiol. Immunol. – 2002. – № 46. – P. 131–134.
11. Ceresa, E. Generation of a stable activated thrombin activatable fibrinolysis inhibitor variant / E. Ceresa [et al] // J. Biol. Chem. – 2006. – № 281. – P. 15878–15883.

12. *Collen, D.* On the regulation and control of fibrinolysis / D. Collen // *Thromb Haemost.* – 1980. – № 43. – P. 77–89.
13. *de Munk, G. A.* Binding of tissue-type plasminogen activator to lysine, lysine analogues, and fibrin fragments / G. A. de Munk [et al] // *Biochemistry.* – 1989. – № 28. – P. 7318–7325.
14. *Eaton, D. L.* Isolation, molecular cloning, and partial characterization of a novel carboxypeptidase B from human plasma / D. L. Eaton [et al] // *J. Biol. Chem.* – 1991. – № 269. – P. 21833–21838.
15. *Franco, R. F.* Identification of polymorphisms in the 5' untranslated region of the TAFI gene : relationship with TAFI levels and risk of venous thrombosis / R. F. Franco [et al] // *Haematologica.* – 2001. – № 86. – P. 510–517.
16. *Fuentes-Prior, P.* Structural basis for the anticoagulant activity of the thrombin-thrombomodulin complex / P. Fuentes-Prior [et al] // *Nature.* – 2000. – № 404. – P. 518–525.
17. *Grailhe, P.* Study of tissue-type plasminogen activator binding sites on fibrin using distinct fragments of fibrinogen / P. Grailhe, W. Nieuwenhuizen, E. Angles-Cano // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – № 219. – P. 961–967.
18. *Hall, S. W.* Thrombin interacts with thrombomodulin, protein C, and thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor via specific and distinct domains / S. W. Hall [et al] // *J. Biol. Chem.* – 1999. – № 274. – P. 25510–25516.
19. *Harpel, P. C.* Tissue plasminogen activator and urokinase mediate the binding of Glu-plasminogen to plasma fibrin I. Evidence for new binding sites in plasmin-degraded fibrin I / P. C. Harpel, T. S. Chang, E. Verderber // *J. Biol. Chem.* – 1985. – № 260. – P. 4432–4440.
20. *Hendriks, D.* Partial characterization of a new arginine carboxypeptidase from human serum / D. Hendriks, S. Scharpe, M. van Sande // *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* – 1988. – № 26. – P. 305.
21. *Hendriks, D.* Characterisation of a carboxypeptidase in human serum distinct from carboxypeptidase N / D. Hendriks [et al] // *J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* – 1989. – № 27. – P. 277–285.
22. *Henry, M.* Identification of polymorphisms in the promoter and the 3' region of the TAFI gene : evidence that plasma TAFI antigen levels are strongly genetically controlled / M. Henry [et al] // *Blood.* – 2001. – № 97. – P. 2053–2058.
23. *Hervio, L.* Multiple binding with identical linkage : a mechanism that explains the effect of lipoprotein(a) on fibrinolysis / L. Hervio [et al] // *Biochemistry.* – 1995. – № 34. – P. 13353–13358.
24. *Hoylaerts, M.* Kinetics of the activation of plasminogen by human tissue plasminogen / M. Hoylaerts [et al] // *J. Biol. Chem.* – 1982. – № 257. – P. 2912–2919.
25. *Kato, K.* Changes in arginine carboxypeptidase (CPR) activity in stressed rats / K. Kato [et al] // *Pathophysiology.* – 1994. – № 1. – P. 131–136.
26. *Kimura, S.* Cross-linking site in fibrinogen for alpha 2-plasmin inhibitor / S. Kimura, N. Aoki // *J. Biol. Chem.* – 1986. – № 261. – P. 15591–15595.
27. *Koschinsky, M. L.* Association of a single nucleotide polymorphism in CPB2 encoding the thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) with blood pressure / M. L. Koschinsky [et al] // *Clin. Genet.* – 2001. – № 60. – P. 345–349.
28. *Levin, E.* Latent tissue plasminogen activator produced by human endothelial cells in culture : evidence for an enzyme-inhibitor complex / E. Levin // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* – 1983. – № 80. – P. 6804–6808.
29. *Lijnen, H. R.* Isolation and characterization of a human plasma protein with affinity for the lysine binding sites in plasminogen. Role in the regulation of fibrinolysis and identification as histidine-rich glycoprotein / H. R. Lijnen, M. Hoylaerts, D. Collen // *J. Biol. Chem.* – 1980. – № 255. – P. 10214–10222.
30. *Mao, S. S.* Characterization of plasmin-mediated activation of plasma procarboxypeptidase B / S. S. Mao [et al] // *J. Biol. Chem.* – 1999. – № 274. – P. 35046–35052.
31. *Mosesson, M. W.* Evaluation of the factors contributing to fibrin-dependent plasminogen activation / M. W. Mosesson [et al] // *Thromb Haemost.* – 1998. – № 79. – P. 796–801.
32. *Myles, T.* Thrombin activatable fibrinolysis inhibitor, a potential regulator of vascular inflammation / T. Myles [et al] // *J. Biol. Chem.* – 2003. – № 278. – P. 51059–51067.
33. *Pahlman, L. I.* Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor binds to *Streptococcus pyogenes* by interacting with collagen-like proteins A and B / L. I. Pahlman [et al] // *J. Biol. Chem.* – 2007. – № 282. – P. 24873–24881.
34. *Ranby, M.* Studies on the kinetics of plasminogen activation by tissue plasminogen activator / M. Ranby // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1982. – № 704. – P. 461–469.
35. *Ritchie, H.* Monocyte plasminogen activator inhibitor 2 (PAI-2) inhibits u-PA-mediated fibrin clot lysis and is cross-linked to fibrin / H. Ritchie [et al] // *Thromb. Haemost.* – 1999. – № 81. – P. 96–103.
36. *Sakata, Y.* Significance of cross-linking of α_2 -plasmin inhibitor to fibrin in inhibition of fibrinolysis and in hemostasis / Y. Sakata, H. Aoki // *J. Clin. Invest.* – 1982. – № 69. – P. 536–542.
37. *Sato, T.* Procarboxypeptidase R is an acute phase protein in mouse, whereas carboxypeptidase N is not / T. Sato [et al] // *J. Immunol.* – 2000. – № 165. – P. 1053–1058.
38. *Schielen, W. J.* The sequence gamma-(312–324) is a fibrin-specific epitope / W. J. Schielen [et al] // *Blood.* – 1991. – № 77. – P. 2169–2173.
39. *Schielen, W. J. G.* The sequence A α -(154–159) of fibrinogen is capable of accelerating the tPA catalyzed activation of plasminogen / W. J. G. Schielen [et al] // *Blood Coagul Fibrinolysis.* – 1991. – № 2. – P. 465–70.
40. *Schneider, M.* Two naturally occurring variants of TAFI (Thr-325 and Ile-325) differ substantially with respect to thermal stability and antifibrinolytic activity of the enzyme / M. Schneider [et al] // *J. Biol. Chem.* – 2002. – № 277. – P. 1021–1030.
41. *Suenson, E.* Initial plasmin-degradation of fibrin as the basis of a positive feed-back mechanism in fibrinolysis / E. Suenson, O. Lutzen, S. Thorsen // *Eur. J. Biochem.* – 1984. – № 140. – P. 513–522.
42. *Swaigood, C. M.* *In vivo* regulation of plasminogen function by plasma carboxypeptidase B / C. M. Swaigood [et al] // *J. Clin. Invest.* – 2002. – № 110. – P. 1275–1282.
43. *Tamaki, T.* Cross-linking of α_2 -plasmin inhibitor and fibronectin to fibrin by fibrin-stabilizing factor / T. Tamaki, H. Aoki // *Biochim. Biophys. Acta.* – 1981. – № 661. – P. 280–286.
44. *Tsai, S. P.* The gene encoding human plasma carboxypeptidase B (CPB2) resides on chromosome 13 / S. P. Tsai, D. Drayna // *Genomics.* – 1992. – № 14. – P. 549–550.
45. *Tsurupa, G.* Identification and characterization of novel tPA- and plasminogen-binding sites within fibrin(ogen) alpha C-domains / G. Tsurupa, L. Medved // *Biochemistry.* – 2001. – № 40. – P. 801–808.
46. *Valnickova, Z.* Human procarboxypeptidase U, or thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor, is a substrate for transglutaminases / Z. Valnickova, J. J. Enghild // *J. Biol. Chem.* – 1998. – № 273. – P. 27220–27224.
47. *Valnickova, Z.* Thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) zymogen is an active carboxypeptidase / Z. Valnickova [et al] // *J. Biol. Chem.* – 2007. – № 282. – P. 3066–3076.
48. *Vanhoof, G.* The gene for human carboxypeptidase U (CPU) – a proposed novel regulator of plasminogen activation – maps to 13q14.11 / G. Vanhoof [et al] // *Genomics.* – 1996. – № 38. – P. 454–455.
49. *Willemse, J. L.* Measurement of procarboxypeptidase U (TAFI) in human plasma : a laboratory challenge / J. L. Willemse, D. F. Hendriks // *Clin. Chem.* 2006. – № 52. – P. 30–36.
50. *Xu, H.* Thrombomodulin changes the molecular surface of interaction and the rate of complex formation between thrombin and protein C / H. Xu [et al] // *J. Biol. Chem.* – 2005. – № 280. – P. 7956–7961.
51. *Yakovlev, S.* Conversion of fibrinogen to fibrin : mechanism of exposure of tPA- and plasminogen-binding sites / S. Yakovlev [et al] // *Biochemistry.* – 2000. – № 39. – P. 15730–15741.
52. *Yonekawa, O.* Localization in the fibrinogen gamma-chain of a new site that is involved in the acceleration of the tissue-type plasminogen activator-catalyzed activation of plasminogen / O. Yonekawa, M. Voskuilen, W. Nieuwenhuizen // *Biochem. J.* – 1992. – № 283. – P. 187–191.
53. *Zhao, L.* Identification and characterization of two thrombin-activatable fibrinolysis inhibitor isoforms / L. Zhao [et al] // *Thromb. Haemost.* – 1998. – № 80. – P. 949–955.

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 612.119-089.843-08:615.874

**М. А. Кучер, О. В. Голощاپов,
Б. А. Ганапиев, Б. В. Афанасьев**

НУТРИТИВНАЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ТЕРАПИЯ У ПАЦИЕНТОВ С ТРАНСПЛАНТАЦИЕЙ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Кафедра гематологии, трансфузиологии и трансплантологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова

ТГСК – это современное и эффективное лечение гематологических, аутоиммунных, генетических заболеваний и солидных опухолей, основанное на проведении высокодозной химиолучевой терапии и последующей инфузии гемопоэтических стволовых клеток [45, 63].

Основной механизм терапевтического эффекта ТГСК заключается в способности стволовой плюрипотентной клетки к самообновлению и дифференцировке, что приводит к созданию нового полноценного костномозгового кровотока в случаях его повреждения или дефектов.

В последние 20 лет метод ТГСК активно развивается и в настоящее время является хорошо организованной процедурой, проводимой в мире тысячам больных ежегодно, естественно, со своим набором неизбежных и возможных осложнений [45]. В табл. 1 представлены заболевания, при которых показано проведение ТГСК [15, 61, 63].

ВИДЫ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

На сегодняшний день основными видами ТГСК являются аллогенная (аллоТГСК) и аутологичная (аутоТГСК)

трансплантации. Проведение аллоТГСК предполагает трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) донора пациенту. Наилучшие результаты достигаются при трансплантации от родственного HLA-совместимого донора, но только 30% пациентов имеют таких доноров. При отсутствии родственного донора (сиблинга) может применяться трансплантация от HLA-совместимого неродственного донора.

При аутоТГСК в качестве источника ГСК применяются собственные аутологичные ГСК после проведения высокодозной химиолучевой терапии (режима кондиционирования). Основным преимуществом аутоТГСК является отсутствие иммунологических осложнений в виде «реакции трансплантат против хозяина» (РТПХ), что ведет к более низкой смертности и низким финансовым затратам при лечении [15, 18]. Недостатками метода являются возможность контаминации трансплантата опухолевыми клетками, более высокий риск рецидивов и отсутствие эффекта «трансплантат против опухоли» [3, 38, 61]. Нерешенной на сегодняшний день проблемой является отсутствие эффективного метода эрадикации опухолевых клеток из трансплантата. В последние годы активно развиваются еще два вида трансплантации – использование пуповинной крови и гаплоидентичная ТГСК, которые могут быть методом выбора при отсутствии возможности проведения аллоТГСК от родственного или неродственного донора [20, 22, 60]. В табл. 2 представлены характеристика и критерии проведения аллоТГСК и аутоТГСК [45, 61].

ИСТОЧНИКИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК

Главным условием проведения ТГСК является выбор источника и получение стволовых клеток. В настоящее время используются ГСК костного мозга, периферической крови и ГСК пуповинной крови.

Классическим источником ГСК является костный мозг, который получают путем множественных аспираций из

Таблица 1

Показания к проведению трансплантации гемопоэтических стволовых клеток

| Онкогематологические заболевания | Онкологические заболевания | Другие заболевания |
|---|--|--|
| Острый миелобластный лейкоз Хронический миелобластный лейкоз Острый лимфобластный лейкоз Хронический лимфолейкоз Миелопролиферативные заболевания Миелодиспластический синдром Множественная миелома Неходжкинская лимфома Лимфома Ходжкина | Рак молочной железы Карцинома яичка Рак яичника Рак шейки матки Глиома Мелкоклеточный рак легкого Немелкоклеточный рак легкого Сольдные опухоли: нейробластома; опухоль Вильмса; саркома Юинга; мягкотканая саркома; опухоли мозга | Неонкологические заболевания: апластическая анемия Иммунодефицитные нарушения: тяжелый комбинированный иммунодефицит; синдром Вискотта-Олдрича; синдром Чидиака-Хигаси Врожденные и наследственные заболевания: серповидно-клеточная анемия; бета-талассемия; инфантильный злокачественный остеопетроз; болезнь Гоше; инфантильная метахроматическая лейкодиетрофия; X-сцепленная адренолейкодиетрофия; анемия Фанкони; анемия Блэкфана-Даймонда; ночная пароксизмальная гемоглобинурия; врожденные метаболические нарушения; Другие: амилоидоз; рассеянный склероз; аутоиммунные расстройства |

Таблица 2

Сравнительная характеристика аллогенной и аутологичной ТГСК

| Критерий | АллоТГСК | АутоТГСК |
|---|--|--|
| Ограничение по возрасту | 40-55 лет | 60-70 лет |
| Первичные трудности при получении трансплантата | Поиск наиболее HLA-совместимого сиблинга или неродственного донора | Миелоэкспузия достаточного количества ГСК и неконтаминированных опухолю клеток |
| Наиболее серьезное осложнение | РТПХ | Рецидив основного заболевания |
| Применение при неонкологических заболеваниях | Потенциально излечимы генетические и иммунологические заболевания | Неэффективна без генной терапии |
| Противоопухолевый эффект вводимых клеток | Доказано или возможно в большинстве случаев | Не доказано, но возможен циклоспорининдуцированный эффект "трансплантат против лимфомы" или "антилимфома эффект" периферических стволовых клеток |

крыльев подвздошных костей под местной, перидуральной или общей анестезией [52].

Сбор ГСК периферической крови осуществляется в результате их мобилизации с помощью колоннестимулирующих факторов (филграстим, ленограстим) или химиопрепаратов (циклофосфан и др.) или их комбинации с последующей процедурой афереза [39].

Трансплантация пуповинной крови (ТПК) – это инфузия ГСК реципиенту, собранных из пуповинной и плацентарной крови непосредственно сразу после процесса родов. По сравнению с ГСК костного мозга, клетки пуповинной крови являются менее зрелыми, имеют более высокую пролиферативную активность и менее выраженную экспрессию антигенов HLA-системы [66]. Клетки пуповинной крови в качестве источника стволовых клеток используются в случаях, когда нет совместимого донора, а трансплантация срочно необходима из-за прогрессии заболевания [54]. Сравнительная характеристика различных источников ГСК для проведения ТГСК представлена в табл. 3.

ОСЛОЖНЕНИЯ ТГСК, ОКАЗЫВАЮЩИЕ ВЛИЯНИЕ НА НУТРИТИВНЫЙ СТАТУС

Одним из наиболее значимых факторов, оказывающих негативное влияние на анатомическую целостность и функциональные способности желудочно-кишечного тракта, является предтрансплантационный режим кондиционирования (высокодозная химиолучевая подготовка). Установлено, что при этом важную роль играет нутритивная поддержка, которая в существенной степени зависит как от режима кондиционирования, так и от вида трансплантации – при аутоТГСК необходимость в парентеральном питании возникает у 37% больных, при аллоТГСК – у 92% [14]. Это связано с тем, что при проведении аутоТГСК отмечаются только токсические осложнения режима кондиционирования – мукозит, желудочно-кишечная токсичность, веноокклюзионная болезнь печени и др. При аллоТГСК, наряду с токсическими, присоединяется большое количество побочных эффектов, связанных с иммунологическим конфликтом между организмом реципиента и клетками трансплантата, проведением мощной иммуносупрессивной терапии, различными инфекционными осложнениями на фоне иммунодефицита.

Мукозит и желудочно-кишечная токсичность

Мукозит и желудочно-кишечная токсичность возникают в среднем на 7–10-й день после химиолучевой терапии у 99% больных, а мукозит 3–4 стадии – у 70% пациентов с ТГСК, что является

основанием для назначения искусственного питания [12, 45, 69]. Несмотря на то, что проявления мукозита варьибельны, прием и усвоение пищи страдают максимально в течение 2–3 недель после ТГСК за счет возникновения анорексии, болевого синдрома, тошноты, рвоты, диареи, сниженной абсорбции питательных веществ, их потери через кишечник за счет нарушенного трансмембранного транспорта, особенно аминокислот и макро- (магний) и микронутриентов (цинк, селен) [12, 36, 45, 69].

Определены наиболее значимые факторы риска возникновения мукозита, к которым относятся режимы кондиционирования с тотальным облучением тела, высокодозным мелфаланом, бусульфаном и этопозидом, индекс массы тела более 25, наличие генотипа МТНFFR677ТТ, который ассоциируется с более выраженной токсичностью при терапии метотрексатом [41]. Факт наличия мукозита способствует повышению риска возникновения инфекционных осложнений, увеличению продолжительности лихорадки, длительности использования парентерального питания, наркотических анальгетиков, увеличению смертности в первые 100 дней после ТГСК и затрат на лечение [33].

Профилактика мукозита сводится к гигиене полости рта и применению местных антисептиков для предупреждения инфекционных осложнений, тогда как с лечебной целью используются препараты с анальгетическим эффектом, антиоксиданты, антиэметики и в последние годы – простогландин Е2, глутамин и фактор роста кератиноцитов [42, 72].

Таблица 3

Сравнительная характеристика стволовых клеток костного мозга (СККМ), периферических стволовых клеток крови (ПСКК), клеток пуповинной крови (ККП)

| Показатель | СККМ | ПСКК | ККП |
|--|--|--|--|
| Среднее время приживления [38] | 21-е сутки | 14-е сутки | 28-е сутки |
| Риск и тяжесть РТПХ | Высокий | Высокий | Снижен [14, 54] |
| Риск контаминации трансплантата опухолевыми клетками | Повышенный [34] | Сниженный [34] | Отсутствует |
| Прочее | Более трудная и травматичная методика забора костного мозга [52] | Более быстрое восстановление мегакариоцитарного роста [40] | Малое количество стволовых клеток [54] |

Острая «реакция трансплантат против хозяина»

Острая РТПХ является одним из главных осложнений, которое развивается у 30–60 % пациентов с аллоТГСК и возникает в среднем на 7–10-й день после трансплантации. При этом иммунокомпетентные клетки трансплантата поражают антигены, представленные на клетках реципиента. В результате преимущественно страдают эпителиальные клетки кожи, слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта и мелкие желчные протоки печени [18]. Реже вовлекаются в патологический процесс слизистая рта, конъюнктивы, роговица, легкие и экзокринные железы. Несмотря на то, что возникновение РТПХ считается благоприятным в плане эффекта «трансплантат против опухоли», это состояние характеризуется высокой летальностью [18].

Наиболее драматичные изменения нутритивного статуса наблюдаются при наличии острой РТПХ с поражением кишечника, печени и хронической РТПХ, которые характеризуются повышенными потребностями в энергии, недостаточностью функции желудочно-кишечного тракта в виде синдрома мальабсорбции и мальдигестии, сниженными детоксикационной и синтетической функциями печени.

Факторы риска развития РТПХ определяются степенью генетического различия между донором и реципиентом, несовместимостью по полу (донор – женщина, реципиент – мужчина), наличием аллоиммунизации (богатый трансфузионный анамнез), источником стволовых клеток [31].

Профилактика и лечение РТПХ осуществляется с помощью различных комбинаций иммуносупрессантов (глюкокортикостероиды, ингибиторы кальциневрина – циклоспорин А, такролимус; ингибиторы интерлейкина 2 – даклизумаб (зенапакс); ингибиторы фактора некроза опухоли альфа – этанерцепт (энбрел), инфликсимаб (ремикейд) и цитостатиков (метотрексат).

Веноокклюзионная болезнь печени (ВБП)

ВБП – это серьезное, а порой фатальное осложнение, возникающее в среднем на 14–28-й день после ТГСК в 20 % случаев и проявляющееся желтухой, увеличением веса, асцитом, задержкой натрия и жидкости, болезненной гепатомегалией, гипербилирубинемией, повышением уровня трансаминаз, печеночной недостаточностью и энцефалопатией [28, 74]. ВБП гистологически характеризуется сужением и окклюзией печеночных венул, наряду с повреждением гепатоцитов в результате токсического эффекта химиотерапии [10]. Ряд авторов считают, что в основе симптоматики ВБП лежит истощение антиоксидантной системы и токсическое действие метаболитов цитостатиков на синусоидальные эндотелиальные клетки, которые более чувствительны к лекарственным эффектам, чем гепатоциты, в то время как окклюзии венул может и не наблюдаться [28, 64].

Метаболические нарушения

ТГСК может оказывать негативное влияние на энергетический обмен, метаболизм белков, микро- и макронутриентов. Основными проявлениями метаболических сдвигов у пациентов с ТГСК являются снижение общей кле-

точной массы тела, перераспределение жидкости за счет увеличения внеклеточной жидкости и уменьшения внутриклеточной, отрицательный азотистый баланс, нарушение толерантности к глюкозе, нарушение липидного обмена, недостаточность витаминов и микроэлементов [50].

Установлено, что при ТГСК потребность в энергии значительно возрастает и составляет 130–150 % от энергии основного обмена, однако точные уровни определить сложно, и у отдельных авторов они значительно разнятся [43, 46, 55]. Отрицательный азотистый баланс практически всегда сопровождает ТГСК и бывает обусловлен кишечными потерями белка при рвоте и диарее, катаболическими процессами в скелетных мышцах на фоне основного заболевания, режимом кондиционирования и такими осложнениями, как сепсис и РТПХ [9, 46]. Изменения углеводного обмена сводятся к нарушению толерантности к глюкозе при использовании глюкокортикостероидов и циклоспорина, септических осложнениях, нарушении функции поджелудочной железы [3].

Нарушения липидного обмена в раннем посттрансплантационном периоде после ТГСК связаны с токсическим и иммуногенным поражением печени, неадекватной нутритивной поддержкой. Длительное использование циклоспорина и хроническая РТПХ с поражением печени часто приводят к повышению уровней холестерина и триглицеридов в позднем посттрансплантационном периоде [2, 5, 75]. Частой проблемой при ТГСК является дефицит микро- и макроэлементов, витаминов из-за сниженного поступления, повышенного расхода и потерь, являющихся эссенциальными для процессов репарации тканей, иммунных функций, гемопоэза [7, 47, 59].

Показано, что недостаток цинка и меди – признак неблагоприятного прогноза у пациентов с ТГСК, большей вероятности и длительности эпизодов фебрильной лихорадки и частоты различных осложнений [9, 32, 46, 53, 58, 73, 78, 79].

НУТРИТИВНАЯ И МЕТАБОЛИЧЕСКАЯ ПОДДЕРЖКА

Некоторые осложнения режима кондиционирования (мукозит желудочно-кишечного тракта, веноокклюзионная болезнь печени, панцитопения и др.) и непосредственно ТГСК (РТПХ) связаны с высвобождением свободных радикалов, провоспалительных цитокинов и истощением запаса антиоксидантов. Вышеуказанное, наряду с инфекционными осложнениями, часто провоцирует развитие дефицита, дисбаланса питательных веществ и формирование белково-энергетической недостаточности, что ведет к более медленному выздоровлению, угрозе развития различных осложнений, увеличению летальности, увеличению расходов на лечение [1, 29, 38, 44, 48, 61]. Таким образом, проведение адекватного энтерального и парентерального питания является неотъемлемой частью лечения больных при ТГСК и, в конечном итоге, направлено как на снижение осложнений, связанных с проведением режима кондиционирования, так и самой ТГСК [38, 45].

Оценка нутритивного статуса

Для выбора наиболее подходящей стратегии искусственного питания необходимым условием является проведение комплексной оценки нутритивного статуса: анамнез и физикальное обследование, антропометрия (рост, масса тела, окружность плеча, толщина кожно-жировой складки над трицепсом, окружность мышц плеча), лабораторные (азотистый баланс, общий белок, альбумин, трансферрин, витамины, макро- и микроэлементы) и инструментальные исследования (измерение биоэлектрического импеданса, непрямая калориметрия) [8, 16]. Однако в настоящее время наиболее информативным методом является непрямая калориметрия, которая позволяет объективно и точно оценить энергетические потребности организма.

Потребности в энергии и нутриентах

Индивидуальный расход энергии зависит от уровня основного обмена, температуры окружающей среды, физической активности, термогенного эффекта пищи. Расчет энергетических потребностей у взрослых пациентов осуществляется с помощью уравнения Харриса–Бенедикта и непрямой калориметрии [6]. Хотя считается, что при разных видах трансплантации потребности в энергии различны, общепринято, что при ТГСК потребность возрастает на 130–150 % от основного расхода энергии и приблизительно составляет 30–35 ккал/кг/сутки для обеспечения адекватной жизнедеятельности организма [4, 43, 55]. Суточный рацион должен включать 15–20 % белков, жиров – около 30 % и не более 50 % углеводов от суточной энергетической потребности [48, 55, 79]. Важным обстоятельством является обеспечение повышенного уровня белка в схемах нутритивной поддержки – 1,5–2,0 г/кг/сут [48, 55]. С качестве источника небелковых калорий при парентеральном питании безопасно могут применяться жировые эмульсии, причем предпочтение отдается смеси средне- и длинноцепочечных триглицеридов [45, 55]. Для детей и подростков младше 15 лет существует уравнение Сишо для расчета потребности в энергии [27]. К. А. Ringwald-Smith et al. впервые применил метод непрямой калориметрии у детей

с ТГСК, внедрение этой технологии позволит проводить более точную оценку энергетических потребностей, учитывая различный расход калорий в зависимости от возраста и отклонений в нутритивном статусе [6]. В табл. 4 представлена потребность в основных нутриентах у детей и взрослых при проведении ТГСК [19, 48, 55].

Виды нутритивной поддержки

Основные виды искусственного питания, которые могут обеспечить положительный нутритивный баланс при проведении ТГСК, в настоящее время составляют энтеральное (включая сипинг) и парентеральное питание отдельно или в различных сочетаниях и низкомикробную диету.

В настоящее время существуют различные подходы к проведению нутритивной поддержки, особенно при возникновении кишечной формы РТПХ, учитывая риск инфекционных осложнений, диареи и травматизации слизистой оболочки. Большинство отделений и клиник трансплантации костного мозга придерживаются тактики «отдыхающего кишечника», однако имеются сведения об успешных результатах при сохранении энтерального питания, естественно, при соблюдении строгих правил [35, 51]. Полная отмена естественного питания имеет ряд недостатков в виде риска развития атрофии слизистой и дисфункции желудочно-кишечной системы [71].

На сегодняшний день общепринятым методом является применение парентерального питания у пациентов с ТГСК, однако в попытках осуществить более физиологичное питание, улучшить метаболизм клеток организма, функцию желудочно-кишечного тракта и уменьшить стоимость лечения все более широкое распространение получает метод энтерального питания. Потенциальные достоинства энтерального питания включают предотвращение атрофии слизистой и поддержание барьерной функции кишки, что приводит к уменьшению колонизации патогенами и снижению риска возникновения сепсиса; улучшение интестинальной перфузии; стимуляцию перистальтики; уменьшение стоимости лечения [13, 38, 78, 80]. В табл. 5 представлены преимущества и недостатки различных видов питания [33, 71, 80].

Таблица 4

Потребность в основных нутриентах у взрослых и детей при проведении ТГС

| Показатель | Взрослые | | Дети | | |
|-------------------------|-----------------------------|---------------|------------------------------|---------------|---------------|
| | | | 0 1,5 года | 1,5 7 лет | 7 15 лет |
| Жидкость, мл/кг | 35 45 | | 100 | 70 100 | 30 70 |
| Энергия, ккал/кг | 30 35 | | 80 100 | 50 75 | 45 65 |
| | Уравнение Харриса Бенедикта | | Уравнение Сишо | | |
| Белки, г/кг | 1,5 2,0 | | 2,5 3,0 | 1,5 2,0 | 1,5 2,0 |
| Жиры, г/кг | 30 % от суточной энергии | | 1,0 4,0 | 2,0 4,0 | до 4,0 |
| Углеводы, г/кг | до 50 % от суточной энергии | | 12,0 | 10,0 12,0 | 10,0 |
| Азот/небелковые калории | 1:150 | | 1:150 | | |
| | Энтерально | Парентерально | Энтерально (вес менее 15 кг) | Парентерально | |
| | | | | <10кг | >10кг |
| Цинк, мг/сут. | 11 | 2,5 5,0 | 0,6 | 0,6 мкмоль/кг | 0,4 мкмоль/кг |
| Медь, мг/сут. | 0,9 | 0,3 0,5 | 0,087 | 0,3 мкмоль/кг | 0,1 мкмоль/кг |
| Селен, мкг/сут. | 55 | 20 60 | 2,33 | | |

Таблица 5

Сравнительная характеристика видов нутритивной поддержки: диета, энтеральное и парентеральное питание

| Низкомикробная диета | Энтеральное питание/сипинг | Парентеральное питание |
|--|--|---|
| <p>Преимущества: предотвращение атрофии слизистой и поддержание барьерной функции кишки; поддержание ферментативной оси ЖКТ; психологический фактор естественного питания</p> <p>Недостатки: травматизация слизистой при поражении ЖКТ; риск инфекционных осложнений; риск развития диарей</p> | <p>Преимущества: предотвращение атрофии слизистой и поддержание барьерной функции кишки; поддержание ферментативной оси ЖКТ; стимуляция перистальтики; меньшие финансовые затраты;</p> <p>Недостатки: развитие дефицита магния, фосфатов, цинка, селена; трудности применения при повреждении ЖКТ, диспепсии</p> | <p>Преимущества: метод выбора при РТПХ кишечника III IV, ВВП; точный контроль вводимых нутриентов; простота применения для медперсонала</p> <p>Недостатки: нефизиологичное питание; быстрое развитие метаболических осложнений при отсутствии мониторинга; депрессия аппетита, работы ферментных систем, моторики ЖКТ; риск печеночной дисфункции при длительности питания более 30 суток; большие финансовые затраты</p> |

Основные методы оценки эффективности искусственного питания

Оценка эффективности искусственного питания представляется крайне затруднительной: иммунологические показатели неадекватны из-за основного заболевания и проведения химиотерапии, биохимические (общий белок, альбумин, трансферрин) недостаточно точно отражают изменения питательного статуса, антропометрические измерения могут подвергаться воздействию нарушений обмена жидкости и электролитов [49, 56, 67]. Оценка азотистого баланса затруднена в связи частым наличием рвоты и диарей [17]. Считаемые относительно объективными быстро превращающиеся белки преальбумин и ретинолсвязывающий белок могут рассматриваться как мониторы питательного статуса, однако следует учитывать их нестабильность при различных клинических состояниях (стресс, воспаление, повреждение печени и почек) [45].

Таким образом, в настоящее время не существует патогномичного маркера определения эффективности нутритивной поддержки, и только оценка комплекса антропометрических и лабораторных показателей более или менее способна дать четкую картину проводимой терапии.

Специфические компоненты нутритивной поддержки

Наряду с основными компонентами искусственного питания, к которым относятся белки, жиры и углеводы, необходимо учитывать роль отдельных факторов, которые имеют специфическое значение при проведении ТГСК. К ним, в частности, относятся некоторые липиды и глутамин, которые в раннем посттрансплантационном периоде оказывают влияние на вероятность приживания трансплантата, частоту и тяжесть мукозита, РПТХ, ВВП – важных факторов, коррелирующих с общей выживаемостью после ТГСК. Эссенциальные жирные кислоты участвуют в синтезе биологических эффекторов иммунитета и воспаления, таких как простагландины и лей-

котриены [23, 35, 51, 65]. Можно предположить, что повышенный уровень арахидоновой кислоты и ее метаболитов – простагландина E2 – плюс воздействии 6-триацилглицерола приводит к уменьшению интерлейкина 1 и фактора некроза опухоли, продуцируемого макрофагами, снижению синтеза антигенов основных комплексов гистосовместимости, снижению Т-клеточной активности, а также продукции интерлейкина 2 [23, 35, 51, 65].

Установлено, что жировые эмульсии обогащенные омега-3-жирными кислотами могут способствовать уменьшению осложнений в виде РТПХ и ВВП и снижают степень воспалительного ответа при сепсисе. Их эффекты основаны на уменьшении вазоконстрикции, агрегации тромбоцитов, влиянии на

межклеточные сигнальные контакты, приводящие к ингибированию секреции цитокинов и ингибированию активации и дифференцировки лимфоцитов [23].

Принципы назначения искусственного питания содержащего глутамин основаны на том, что он является основным источником «топлива» для энтероцитов, кишечникассоциированной лимфоидной ткани, других тканезависимых и циркулирующих иммунных клеток, а также предотвращает или снижает токсическое воздействие на желудочно-кишечный тракт за счет поддержания концентрации глутатиона [51]. Глутамин – классическая неэссенциальная аминокислота, которая является ключевым субстратом в метаболических процессах, включающих межорганый транспорт азота, синтез белков и нуклеиновых кислот, глюконеогенез и кислотно-основной гомеостаз [57, 67]. В норме глутамин синтезируется в мышечной ткани из заменимых аминокислот, большей частью разветвленных и глюкозы. Известно, что глутамин влияет на более быстрое восстановление лимфоцитов после ТГСК, тем не менее увеличения частоты острой РТПХ не установлено. Кроме того, в его присутствии наблюдается более эффективный ответ на использование колониестимулирующих факторов, что способствует снижению периода нейтропении и риска возникновения инфекционных осложнений [33].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, нутритивная поддержка является неотъемлемой частью в терапии пациентов с ТГСК. Обусловленные режимами кондиционирования и иммунологическим конфликтом при алло ТГСК метаболические нарушения и желудочно-кишечной токсичности, наряду с инфекционными осложнениями, часто провоцируют развитие дефицита и дисбаланса питательных веществ, витаминов, макро- и микронутриентов. Также способствуют формированию белково-энергетической недостаточности, что, в конечном итоге, ведет к более медленному

выздоровлению и угрозе развития различных осложнений, снижению общей выживаемости, увеличению расходов на лечение.

Не решенной на данный момент проблемой остается мониторинг эффективности питательной поддержки. Однако с внедрением в общую практику метода непрямого калориметрии для оценки необходимого количества энергии станет возможным осуществлять более точный контроль за процессами метаболизма и адекватно проводить нутритивную терапию. Особое внимание должно уделяться обмену макро- (магний) и микронутриентов (цинк, медь, селен), веществ, которые участвуют в работе антиоксидантной системы, процессах репарации и регенерации тканей.

Парентеральное питание остается в настоящее время основным методом терапии, однако отмечается тенденция увеличения применения естественного и энтерального питания в схемах нутритивной поддержки, проведения лечебной физкультуры в наиболее раннем периоде после ТГСК.

Перспективным направлением является также использование препаратов, которые обладают специфическими свойствами, к ним относятся глутамин, омега-3-жирные кислоты, аргинин, таурин, которые способны моделировать процессы цитопротекции и воспаления при сепсисе и РТПХ.

Таким образом, применение различных программ энтерального и парентерального питания, мониторинг и коррекция состава микро- и макроэлементов являются важными составляющими в улучшении переносимости ТГСК и отдаленных результатов лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Австрийское общество клинического питания. Рекомендации по парентеральному и энтеральному питанию для взрослых. – 2003. – С. 37–57.
2. Бахман, А. Искусственное питание : Справочное руководство по энтеральному и парентеральному питанию / А. Бахман. – М., 2001. – С. 11–21.
3. Волкова, М. А. Клиническая онкогематология : рук-во для врачей / М. А. Волкова. – М., 2007. – С. 912–958.
4. Луфт, В. М. Клиническое питание в интенсивной медицине. Практическое руководство / В. М. Луфт, А. Л. Костюченко. – СПб., 2002. – С. 6–173.
5. Парентеральное питание в интенсивной терапии и хирургии : метод. реком. Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – М., 2006. – С. 3–45.
6. Протокол трансплантации гемопоэтических клеток у детей / НИИ Детской гематологии. Российская детская клиническая больница. – М., 2000. – С. 1–54.
7. Сobotка, Л. Материалы лекций для курсов Европейской ассоциации парентерального и энтерального питания. Основы клинического питания / Л. Сobotка. – Петрозаводск, 2004. – С. 34–45.
8. Aggett, P. J. A. Trace elements in human health / P. J. A. Aggett // Practitioner. – 1984. – Vol. 228. – P. 935–938.
9. Antila, H. M. Serum trace element concentrations and iron metabolism in allogeneic bone marrow transplant recipients / H. M. Antila [et al] // Ann Med. – 1992. – Vol. 24. – P. 55–59.
10. Apperly, J. The EBMT handbook. Hematopoietic stem cell transplantation / J. Apperly [et al]. – 5th ed. – 2008. – P. 164–171.
11. Armitage, J. O. Bone marrow transplantation / J. O. Armitage // N. Engl. J. Med. – 1994. – Vol. 330. – P. 827–838.
12. Ballen, K. K. New trends in umbilical cord blood transplantation / K. K. Ballen // Blood. – 2005. – Vol. 105. – P. 3786–3792.
13. Bearman, S. I. Toxicity of drugs used in stem cell transplantation regimens / S. I. Bearman // K. Atkinson. Clinical Bone Marrow and Blood Stem Cell Transplantation. – Boston, 2000. – P. 829.
14. Blijlevens, N. M. Mucosal barrier injury : biology, pathology, clinical counterparts and consequences of intensive treatment for haematological malignancy : an overview / N. M. Blijlevens [et al] // Bone Marrow Transplant. – 2000. – Vol. 25. – P. 1269–1278.
15. Bociek, R. G. Bone marrow transplantation – current concepts / R. G. Bociek, D. A. Stewart, J. O. Armitage // J. Investig. Med. – 1995. – Vol. 43. – P. 127–135.
16. Bogden, J. D. Zinc and immunocompetence in the elderly : baseline data on zinc nutriture and immunity in unsupplemented subjects / J. D. Bogden [et al] // Am. J. Clin. Nutr. – 1987. – Vol. 46. – P. 101–109.
17. Buehman, A. The role of glutamine : counterpoint / A. Buehman // Nutr. Clin. Pract. – 2003. – Vol. 18. – P. 391–396.
18. Cairo, M. S. Placental and/or umbilical cord blood : an alternative source of hematopoietic stem cells for transplantation into unrelated recipients / M. S. Cairo, J. E. Wagner // Blood. – 1997. – Vol. 90. – P. 4665–4678.
19. Charuhas, P. M. Hematopoietic Stem Cell Transplantation : Nutrition Care Criteria / P. M. Charuhas. – 2nd ed. – Seattle, 2002. – P. 195–197.
20. Cheney, C. L. Body composition changes in marrow transplant recipients receiving total parenteral nutrition / C. L. Cheney [et al] // Cancer. – 1987. – Vol. 59. – P. 1515–1519.
21. Deeg, H. J. Graft versus host disease : patho-physiological and clinical aspects / H. J. Deeg, R. Storb // Annu Rev Med. – 1984. – Vol. 35. – P. 11–24.
22. DeLeve, L. D. Dacarbazine toxicity in murine liver cells. A model of hepatic endothelial injury and glutathione defense / L. D. DeLeve // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 1994. – Vol. 268. – P. 1261–1270.
23. Fischer, A. Role of prostaglandin E₂ in the induction of non-specific T lymphocyte suppressor activity / A. Fischer, A. Durandy, C. Griscelli // J. Immunol. – 1982. – Vol. 126. – P. 1452–1455.
24. Forchielli, M. L. Total parenteral nutrition in bone marrow transplant : what is the appropriate energy level? / M. L. Forchielli [et al] // Oncology. – 2003. – Vol. 64. – P. 7–13.
25. Gianni, A. M. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor to harvest circulating hematopoietic stem cells for autotransplantation / A. M. Gianni [et al] // Lancet. – 1989. – Vol. 2. – P. 580–585.
26. Gluckman, E. Outcome of cord blood transplantation from related and unrelated donors. Eucord Transplant Group and the European Blood and Marrow Transplantation group / E. Gluckman [et al] // N. Engl. J. Med. – 1997. – Vol. 337. – P. 373–381.
27. Guidelines for Preventing Opportunistic Infections Among Hematopoietic Stem Cell Transplant Recipients Recommendations of CDC, the Infectious Disease Society of America, and the American Society of Blood and Marrow Transplantation October 20, 2000. – 2000. – № 49 (RR10). – P. 1–128.
28. Guiot, H. F. L. Protein loss during acute graft versus host disease : diagnostic and clinical significance / H. F. L. Guiot [et al] // Eur. J. Haematol. – 1987. – Vol. 24. – P. 55–67.
29. Hallbook, T. Serum zinc and healing of venous leg ulcers / T. Hallbook, E. Lanner // Lancet. – 1972. – Vol. 2. – P. 780–782.
30. Harris, K. P. G. Alterations in lipid and carbohydrate metabolism attributable to cyclosporin A in renal transplant patients / K. P. G. Harris [et al] // Br. Med. J. (Clin. Res. Ed). – 1986. – Vol. 292. – P. 16.
31. Herrmann, V. M. Nutrition support in bone marrow transplant recipients / V. M. Herrmann, P. J. Petruska // Nutr. Clin. Pract. – 1993. – Vol. 8. – P. 19–27.
32. Imataki, O. Nutritional support for patients suffering from intestinal graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem

- cell transplantation / O. Imataki [et al] // *Am. J. Hematol.* – 2006. – Vol. 81. – P. 747–752.
33. Jones, R. J. Venooclusive disease of the liver following bone marrow transplantation / R. J. Jones [et al] // *Transplantation.* – 1987. – Vol. 44. – P. 778–783.
34. Keenan, A. M. Nutritional support of the bone marrow transplant patient / A. M. Keenan // *Nurs. Clin. North. Am.* – 1989. – Vol. 24. – P. 383–393.
35. Kunkel, S. L. Modulation of macro-phage-derived interleukin-1 and tumor necrosis factor by prostaglandin E₂ / S. L. Kunkel [et al] // *Adv. Prostaglandin. Thromboxane Leukot. Res.* – 1982. – Vol. 9. – P. 331–339.
36. Levine, J. E. Etanercept plus methylprednisolone as initial therapy for acute graft-versus-host disease / J. E. Levine [et al] // *Blood.* – 2008. – Vol. 111. – P. 2470–2475.
37. Lipkin, A. C. Nutrition issues in hematopoietic stem cell transplantation : state of the art : Invited Review / A. C. Lipkin, P. Lenssen, B. S. Dickson // *Nutrition in clinical practice.* – 2005. – Vol. 20. – № 4. – P. 423–439.
38. Locatelli, F. Factors associated with outcome after cord blood transplantation in children with acute leukemia / F. Locatelli [et al] // *Blood.* – 1999. – Vol. 93. – P. 3662–3671.
39. Luger, S. M. Noninfectious complications of bone marrow transplantation / S. M. Luger, E. A. Stadmauer // *Acute rheumatic and immunological diseases. Management of the critically ill patient.* – N.-Y., 1994. – P. 239–256.
40. McDonald, G. B. The human gastrointestinal tract after allogeneic marrow transplantation / G. B. McDonald, G. E. Sale // *The pathology of bone marrow transplantation.* – N.-Y., 1984. – P. 77–103.
41. McDonald, G. B. Liver disease after human marrow transplantation / G. B. McDonald [et al] // *Semin Liver Dis.* – 1987. – Vol. 7. – P. 210–229.
42. McDonald, G. B. Cyclophosphamide metabolism, liver toxicity, and mortality following hematopoietic cell transplantation / G. B. McDonald [et al] // *Blood.* – 2003. – Vol. 101. – № 5. – P. 2043–2048.
43. Milligan, D. W. Vitamin B12 absorption after allogeneic bone marrow transplantation / D. W. Milligan, A. Quick, D. L. Barnard // *J. Clin. Pathol.* – 1987. – Vol. 40. – P. 1472–1474.
44. Muscaritoli, M. Biochemical indices may not accurately reflect changes in nutritional status after allogeneic bone marrow transplantation / M. Muscaritoli [et al] // *Nutrition.* – 1995. – Vol. 11. – P. 433–436.
45. Muscaritoli, M. Nutritional and metabolic support on patients undergoing bone marrow transplantation : review article / M. Muscaritoli [et al] // *Am. Jour. of Clinical Nutrition (Bethesda MD).* – 2002. – Vol. 75. – № 2. – P. 183–190.
46. Nemunaitis, J. High cyclosporin concentrations after bone marrow transplantation associated with hypertriglyceridaemia / J. Nemunaitis, H. J. Deeg, G. C. Yee // *Lancet.* – 1986. – Vol. 2. – P. 744–745.
47. Papadopoulou, A. Enteral nutrition after bone marrow transplantation / A. Papadopoulou [et al] // *Archives of disease in childhood.* – 1997. – Vol. 77. – № 2. – P. 131–136.
48. Papadopoulou, A. Diagnosis and clinical associations of zinc depletion following bone marrow transplantation / A. Papadopoulou [et al] // *Arch Dis Child.* – 1996. – Vol. 74. – P. 328–331.
49. Piccirillo, N. Glutamine-enriched parenteral nutrition after autologous peripheral blood stem cell transplantation : effect on immune reconstitution and mucositis / N. Piccirillo [et al] // *Hematologica.* – 2003. – Vol. 88. – P. 192–200.
50. Raine, A. E. G. Increased plasma LDL cholesterol after renal transplantation associated with cyclosporin immunosuppression / A. E. G. Raine [et al] // *Transplant Proc.* – 1987. – Vol. 19. – P. 1820–1821.
51. Rappaport, R. S. Prostaglandin E inhibits the production of human interleukin 2 / R. S. Rappaport, G. R. Dodge // *J. Exp. Med.* – 1982. – Vol. 155. – P. 943–948.
52. Rieter, A. Chemotherapy in 998 unselected childhood acute lymphoblastic leukemia patients. Results and conclusions of the multicenter trial ALL-BFM 86 / A. Rieter [et al] // *Blood.* – 1994. – Vol. 84. – P. 3122–3133.
53. Ringwald-Smith, K. A. Transplantation in children. Energy expenditure in children undergoing hematopoietic stem cell transplantation / K. A. Ringwald-Smith // *Bone Marrow Transplantation (Basingstoke).* – 2002. – Vol. 30. – № 2. – P. 125–130.
54. Robien, K. Predictors of oral mucositis in patients receiving hematopoietic cell transplants for chronic myelogenous leukemia / K. Robien [et al] // *J. Clin. Oncol.* – 2004. – Vol. 22. – P. 1268–1275.
55. Rovelli, A. Severe lactic acidosis due to thiamine deficiency after bone marrow transplantation in a child with acute monocytic leukemia / A. Rovelli [et al] // *Haematologica.* – 1989. – Vol. 7. – P. 227–232.
56. Sanders, T. Molecular basis of human nutrition / T. Sanders, P. Emery. – 2003. – P. 68–71.
57. Schloerb, P. R. Total parenteral nutrition with glutamine in bone marrow transplantation and other clinical applications (a randomized double blind study) / P. R. Schloerb, M. Amare // *J. Parenter. Enteral. Nutr.* – 1993. – Vol. 17. – P. 407–413.
58. Seashore, J. H. Nutritional support of children in the intensive care unit / J. H. Seashore // *Yale J. Biol. Med.* – 1984. – Vol. 57. – P. 111–134.
59. Sefcick, A. Naso-jejunal feeding in allogeneic bone marrow transplant recipients : results of a pilot study / A. Sefcick [et al] // *Bone Marrow Transplant.* – 2001. – Vol. 28. – P. 1135–1139.
60. Sharp, J. G. Outcome of high-dose therapy and autologous transplantation in non-Hodgkin's lymphoma based on the presence of tumor in the marrow or infused hematopoietic harvest / J. G. Sharp [et al] // *J. Clin. Oncol.* – 1996. – Vol. 14. – P. 214–219.
61. Sheridan, W. P. Effects of peripheral blood cells mobilized by filgrastim (G-CSF) on platelet recovery after high dose chemotherapy / W. P. Sheridan [et al] // *Lancet.* – 1992. – Vol. 339. – P. 640–649.
62. Shimazaki, C. Non-T-cell-depleted HLA haploidentical stem cell transplantation in advanced hematologic malignancies based on the feto-maternal microchimerism / C. Shimazaki [et al] // *Blood.* – 2003. – Vol. 101. – P. 3334–3336.
63. Slavin, S. New strategies for bone marrow transplantation / S. Slavin // *Curr Opin Immunol.* – 2000. – Vol. 12. – P. 542–551.
64. Smedmyr, B. Impaired glucose tolerance after autologous bone marrow transplantation / B. Smedmyr [et al] // *Bone Marrow Transplant.* – 1990. – Vol. 6. – P. 89–92.
65. Snyder, D. S. Prostaglandins modulate macrophage la expression / D. S. Snyder, D. I. Beller, E. R. Unanue // *Nature.* – 1982. – Vol. 299. – P. 163–165.
66. Sonis, S. T. Oral mucositis and the clinical and economic outcomes of hematopoietic stem-cell transplantation / S. T. Sonis [et al] // *J. Clin. Oncol.* – 2001. – Vol. 19. – P. 2201–2205.
67. Souba, W. W. Intestinal glutamine metabolism and nutrition / W. W. Souba // *J. Nutr. Biochem.* – 1993. – Vol. 4. – P. 2–9.
68. Spielberger, R. Palifermin for oral mucositis after intensive therapy for hematologic cancers / R. Spielberger [et al] // *N. Engl. J. Med.* – 2004. – Vol. 351. – P. 2590–2598.
69. Spitzer, T. R. Haploidentical stem cell transplantation : the always present but overlooked donor / T. R. Spitzer // *Hematology.* – 2005. – P. 390–395.
70. St. Jude Children's Research Hospital / *Clinical Practice Guidelines.* – 2003 ; 2005 ; 2006.
71. Strasser, S. I. Gastrointestinal and hepatic complications / S. I. Strasser, G. B. McDonald // K. G. Blume, S. J. Forman, F. R. Applebaum. *Thomas Hematopoietic Cell Transplantation.* – 3rd ed. – Oxford, 2004. – P. 769–810.
72. Subbarao, G. Incidence, etiology, and risk factors for liver dysfunction in children following hematopoietic stem cell transplantation / G. Subbarao [et al] // *Pediatric Transplantation.* – 2006. – Vol. 10. – P. 682–689.

73. *Szeluga, D. J.* Energy requirements of parenterally fed bone marrow transplant recipients / D. J. Szeluga [et al] // *J. Parenter. Enteral. Nutr.* – 1985. – Vol. 9. – P. 139–143.

74. *Tartarone, A.* Role of parenteral nutrition in cancer patients undergoing high-dose chemotherapy followed by autologous peripheral blood progenitor cell transplantation / A. Tartarone [et al] // *Tumori.* – 2005. – Vol. 91. – P. 237–240.

75. *Taskinen, M.* Skeletal muscle protein reserve after bone marrow transplantation in children / M. Taskinen, U. M. Saarinen // *Bone Marrow Transplantation.* – 1996. – Vol. 18. – P. 937–941.

76. *Thomas, E. D.* Technique for human marrow grafting / E. D. Thomas, R. Storb // *Blood.* – 1970. – Vol. 36. – P. 507–515.

77. *Uckan, D.* Serum zinc and alkaline phosphatase values in pediatric bone marrow transplantation patients / D. Uckan [et al]

// *Pediatr. Hematol. Oncol.* – 2003. – Vol. 20. – № 4. – P. 265–271.

78. *Uderzo, C.* Total parenteral nutrition and nutritional assessment in leukaemic children undergoing bone marrow transplantation / C. Uderzo [et al] // *Eur. J. Cancer.* – 1991. – Vol. 27. – P. 758–762.

79. *Weisdorf, S.* Total parenteral nutrition in bone marrow transplantation: a clinical evaluation / S. Weisdorf [et al] // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* – 1984. – Vol. 3. – P. 95–100.

80. *Weisdorf, S. A.* Graft versus host disease of the intestine: a protein losing enteropathy characterized by fecal alpha-1-antitrypsin / S. A. Weisdorf [et al] // *Gastroenterology.* – 1983. – Vol. 85. – P. 1076–1081.

81. *Ziegler, T. R.* Glutamine supplementation in bone marrow transplantation / T. R. Ziegler // *Br. J. Nutr.* – 2002. – Vol. 87. – P. 9–15.

Издательство СПбГМУ

имени академика И. П. Павлова

специализируется на издании медицинской, научной
и учебной литературы

Имея в своем составе квалифицированных художественных и научных редакторов, располагая современной полиграфической базой, издательство СПбГМУ может подготовить к печати и издать монографии, брошюры, медицинские журналы, буклеты и другую полиграфическую продукцию, подготовить оригинал-макет любой сложности.

Издательство СПбГМУ принимает заказы на публикацию рекламных объявлений в медицинских журналах и книгах, выпускаемых издательством.

Выпускаемая литература реализуется через магазин и киоск издательства.

Предварительную информацию об условиях оформления, выполнения
и оплаты заказов можно получить по адресу:

197089, Санкт-Петербург,
улица Льва Толстого, 6/8

Издательство СПбГМУ имени академика И. П. Павлова

Телефон: (812) 234-27-78

© Д. А. Лиознов, 2009 г.
УДК 616.988-036.12-07-084]-053.2

Д. А. Лиознов

ОПЫТ РАБОТЫ КОНСУЛЬТАТИВНО-ДИАГНОСТИЧЕСКОГО И ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ЦЕНТРА ДЛЯ ПОДРОСТКОВ, БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМИ ВИРУСНЫМИ ИНФЕКЦИЯМИ

Кафедра инфекционных болезней и эпидемиологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова

Среди наиболее актуальных инфекционных заболеваний, учитывая их эпидемиологическое, клиническое, демографическое и экономическое значение, остаются вирусные гепатиты с гемоконтактным механизмом передачи и ВИЧ-инфекция. Именно для этих хронических вирусных инфекций в настоящее время характерен наиболее интенсивный рост заболеваемости и распространенности в нашей стране [3].

Санкт-Петербург относится к регионам с высокой распространенностью вирусных гепатитов. Заболеваемость хроническим вирусным гепатитом В (ХГВ) в 2007 г. увеличилась по сравнению с 2006 г. на 7,5%, заболеваемость хроническим вирусным гепатитом С (ХГС) – на 6,3% и составила 56,5 и 101,1 на 100 тысяч населения соответственно. Показатель заболеваемости ВИЧ-инфекцией в Санкт-Петербурге в 2007 г. составил 75,1 на 100 тысяч населения (среднероссийский показатель – 19,9), распространенность заболевания – 686,8 на 100 тысяч населения, что почти в 2,5 раза превышает аналогичный показатель по Российской Федерации (277,9 на 100 тысяч населения) [2].

Ведущая роль в развитии эпидемии ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов в России и Санкт-Петербурге по-прежнему принадлежит внутривенному потреблению наркотических веществ, что определяет высокую частоту сочетания инфекционных и наркотических заболеваний. Вместе с тем в последнее время возрастает значение полового пути передачи ВИЧ вследствие пренебрежения моральными нормами, отсутствия половой культуры, недостаточной осведомленности о способах профилактики ИППП и их несоблюдения [4, 5].

Важнейшей особенностью современной ситуации является вовлечение в эпидемический процесс в основном молодежи. Это обусловлено преимущественным распространением наркомании именно среди молодых людей. Наиболее «пораженной» оказалась возрастная группа 15–29 лет. Например, в 2007 г. в Санкт-Петербурге среди выявленных ВИЧ-инфицированных пациентов в возрасте 15–18 и 19–29 лет показатель распространенности заболевания на 100 тысяч человек данного возраста составил 1912,8 и 2861,6 соответственно.

Подростковый период развития соответствует возрастному кризису – происходит быстрая и бурная морфофункциональная перестройка организма. Особенности возрастной физиологии (в частности, гормональная перестройка) сочетаются с особенностями высшей нервной деятельности и психосоциальным созреванием, определяющими поведение, модели межличностного общения. Стремление к независимости, экспериментированию, ориентация на мнение и поведение сверстников – это хорошо известные признаки подросткового периода, которые объясняют так называемое рискованное поведение: незащищенный секс, употребление наркотиков и алкоголя.

Молодой человек часто не осознает необходимости обследования, лечения, наблюдения у врача, у него нет мотивации к лечению, соблюдению режима приема лекарств. С другой стороны, выявление хронического вирусного гепатита и, особенно, ВИЧ-инфекции, осознание перспективы неблагоприятного исхода заболевания воспринимается многими больными как приговор. Психологическая травма оказывает влияние не только на отношение к болезни, но и на основные жизненные установки, становится причиной стигматизации, развития депрессии, психологических и социальных проблем пациента, которые, в свою очередь, непосредственно влияют на эффективность медицинской помощи.

Можно констатировать новый, особый вариант хронической инфекционной патологии у лиц молодого возраста, обусловленный взаимным влиянием инфекционных, наркотических, психосоматических и социальных факторов, что определяет необходимость разработки специфического подхода к оказанию помощи таким пациентам [1].

Основным положением такого подхода является тесная кооперация нескольких специалистов, оказывающих помощь пациенту. Фактически речь идет о диспансерном наблюдении, к которому необходимо привлекать специалистов, призванных совместно решать не только медицинские, но также психологические и социальные проблемы. Таким образом, диспансерное наблюдение следует дополнять психосоциальным сопровождением больных.

Непременным условием успешного ведения больных являются доверительные отношения между пациентом и теми, кто участвует в оказании ему помощи. Больной должен чувствовать не осуждение, а желание помочь ему в решении медицинских, психологических, социальных и, может быть, личных проблем.

В 2002 г. Детский Фонда ООН (ЮНИСЕФ) поддержал создание в СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Консультативно-диагностического и профилактического центра для подростков, больных хроническими вирусными инфекциями. Признавая приоритетность профилактики ВИЧ-инфекции, оказания помощи больным хроническими вирусными инфекциями, а также исследований в этой области, Университет выделил помещения для организации лаборатории хронических вирусных инфекций Научно-исследовательского центра и отделения хронических вирусных инфекции Консультативно-диагностического центра поликлиники, в рамках которых функциони-

ровал Консультативно-диагностический и профилактический центр для подростков, больных хроническими вирусными инфекциями. В помещениях Лаборатории и Отделения был проведен ремонт, создана уютная обстановка и доброжелательная атмосфера, недопускающая формализма и тем более равнодушия. С января 2004 г. начался прием больных в Центре.

По окончании финансирования Центра Детским Фондом ООН в октябре 2006 г. консультативный прием продолжался на волонтерской основе и с привлечением средств других грантодателей.

Целью настоящего исследования был анализ работы Консультативно-диагностического и профилактического центра для подростков, больных хроническими вирусными инфекциями в 2004–2008 гг.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Обследование и ведение пациентов в Центре осуществлялось в соответствии с внутренними алгоритмами оказания специализированной помощи, основанными на приказах, инструкциях и рекомендациях Министерства здравоохранения и социального развития РФ, Комитета по здравоохранению Администрации Санкт-Петербурга, СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова и имеющихся ресурсах Центра.

Потоки пациентов в Центр формировались за счет направления их лечебно-профилактическими учреждениями и общественными организациями Санкт-Петербурга и Ленинградской области, оказывающими различные виды помощи наркопотребителям, больным хроническими вирусными инфекциями (вирусные гепатиты, ВИЧ-инфекция), группам риска инфицирования возбудителями гемоконтактных гепатитов и ВИЧ (безнадзорные и беспризорные дети, наркопотребители, проститутки). Кроме того, большую роль сыграли так называемые социальные связи, когда пациент направлял в Центр кто-то из его окружения. Координация деятельности Центра и клинической базы Университета в Клинической инфекционной больнице им. С. П. Боткина обеспечивали преемственность в оказании помощи больным.

В разные годы существования Центра в зависимости от финансирования оказывался различный спектр услуг. В штате Центра работали врачи-инфекционисты (сотрудники кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии), нарколог, психолог, медицинская сестра, социальный работник. Помощь в профилактической работе Центра оказывали волонтеры из числа студентов Университета.

Для обследования пациентов и динамического наблюдения за течением заболевания в Центре использовали современные лабораторные методики: ПЦР-диагностику, включая генотипирование вируса гепатита С и определение уровня вирусной нагрузки, определение числа CD4-лимфоцитов.

Всех обратившихся в Центр пациентов консультировал врач-инфекционист, который определял объем необходимых лабораторных и инструментальных диагности-

ческих мероприятий для уточнения диагноза, фазы и степени тяжести заболевания, решал вопрос о необходимости и объеме терапевтических мероприятий и тактике дальнейшего диспансерного наблюдения.

Кроме того, с каждым больным проводили беседу об образе жизни и питании при хронических заболеваниях печени, изменении небезопасного поведения, способствующего инфицированию возбудителями вирусных гепатитов, ВИЧ-инфекции, ЗППП. Объясняли необходимость приема лекарственных препаратов и соблюдения других врачебных рекомендаций, давали советы по приверженности терапии. Среди пациентов распространяли информационные профилактические материалы и презервативы.

По желанию пациента или рекомендации врача консультировали родителей или других членов семьи больного. При согласии пациента направляли на консультацию к наркологу и психологу. Прием специалистов проводился в Центре по расписанию.

Обратившимся пациентам предлагали диспансерное наблюдение в Центре с последующим динамическим наблюдением за течением заболевания (консультативная помощь, регулярное лабораторное обследование, терапия заболевания). Больных ВИЧ-инфекцией направляли в городской и областной Центры по профилактике и борьбе со СПИДом. Вместе с тем они могли получать консультативную и диагностическую помощь в Центре.

Центр взаимодействовал с клиниками Университета, лечебно-профилактическими учреждениями и негосударственными организациями города, оказывающими различные виды помощи лицам молодого возраста и группам риска заражения ВИЧ. В случае необходимости пациентов госпитализировали в Клиническую инфекционную больницу им. С. П. Боткина, направляли на консультацию к другим специалистам и в общественные организации для включения в программы социальной и психологической поддержки, программы реабилитации для наркозависимых. За время работы Центра 111 пациентов включены в различные бесплатные программы терапии вирусных гепатитов, реализуемые в Университете и других ЛПУ города.

Совместно с сообществом людей, живущих с ВИЧ, на базе Центра проводили встречи с ВИЧ-инфицированными пациентами. В формате беседы обсуждали актуальные для участников вопросы ВИЧ-инфекции и сопутствующих ей заболеваний, образ жизни с данной патологией. Подобные мероприятия помогают пациентам в социально-психологической реабилитации, понимании сути болезни, формировании образа жизни, способствующего сохранению здоровья, профилактике инфекционных заболеваний, в том числе оппортунистических, и приверженности терапии.

Научно-практическим центром медицинской профилактики Университета были подготовлены волонтеры из числа студентов, которые проводили занятия по профилактике наркомании и связанных с ней заболеваний в школах и приютах Санкт-Петербурга. Другим направлением профилактической работы стала организация кур

Таблица 1

| Год | Абс. число | Отн. число, % |
|-------|------------|---------------|
| 2004 | 351 | 44 |
| 2005 | 160 | 20 |
| 2006 | 89 | 11 |
| 2007 | 99 | 13 |
| 2008 | 94 | 12 |
| Всего | 793 | 100 |

са «Профилактика ВИЧ-инфекции и ЗППП» для студентов вузов и ссузов города. С 2005 г. более 500 человек посетили 2-недельный семинар, проводимый врачами, психологами, социологами, цель которого – не только обучить молодых людей методам профилактики заболеваний, передающихся преимущественно половым путем, но и дать навыки общения на эту тему со сверстниками.

Результаты клинической и научно-исследовательской работы Центра отражены более чем в 30 публикациях сотрудников лаборатории хронических вирусных инфекций НИЦ и кафедры инфекционных болезней и эпидемиологии. Членами СНО кафедры инфекционных болезней опубликованы 18 тезисов на конференциях молодых ученых различных уровней. С использованием клинического материала Центра защищено 2 кандидатских диссертации по специальности «Инфекционные болезни» и кандидатская диссертация по специальности «Психология».

С января 2004 по январь 2009 гг. зарегистрировано более 7000 обращений пациентов, получивших консультативно-диагностическую помощь в рамках грантов ЮНИСЕФ и других организаций, из них первичных обращений – 793. В табл. 1 представлено распределение обращений первичных пациентов по годам. По контакту с лицами из групп риска обследованы 55 обратившихся (7%).

Мужчины составили 60%, средний возраст наблюдаемых пациентов составил 24,7±5,4 года. Отмечали следующее возрастное распределение больных: до 14 лет – 3%, 15–18 лет – 6%, 19–25 лет – 49%, 26–29 лет – 24,5%, 29 лет и старше – 17,5%. Пациентам старше 25 лет помощь в Центре оказывали по определенным медицинским и психосоциальным показаниям (активным наркопотребителям, больным ВИЧ-инфекцией, родителям несовершеннолетних детей, половым партнерам наблюдаемых паци-

Таблица 3

| Генотип | Частота | % |
|-----------------|---------|-------|
| 1b | 98 | 27,6 |
| 1a | 22 | 6,2 |
| 2a | 17 | 4,8 |
| 2b | 3 | 0,8 |
| 3a | 191 | 53,8 |
| 1b+2a | 1 | 0,3 |
| 1b+3a | 8 | 2,3 |
| 1a+2 | 4 | 1,1 |
| Не определяется | 11 | 3,1 |
| Всего | 355 | 100,0 |

Таблица 2

Этиологическая структура заболеваний у пациентов Центра в 2004–2008 гг.

| Диагноз | Абс. число | Отн. число, % |
|-----------------------------|------------|---------------|
| ОВГА | 3 | 0,4 |
| ОВГВ | 6 | 0,9 |
| ХВГВ | 41 | 6,0 |
| ХВГС | 377 | 55,3 |
| ХВГС+В | 55 | 8,1 |
| ХВГС+В+D | 1 | 0,1 |
| ВИЧ-инфекция+ХВГС | 105 | 15,4 |
| ВИЧ-инфекция+ХВГС+ХВГВ | 69 | 10,1 |
| ВИЧ-инфекция+ХВГС+ХВГВ+ХВГD | 4 | 0,6 |
| Неверифицированный гепатит | 6 | 0,9 |
| Токсический гепатит | 6 | 0,9 |
| Синдром Жильбера | 9 | 1,3 |
| Всего | 682 | 100 |

ентов). По контакту с лицами из групп риска обследованы 55 обратившихся (7%).

Данные об этиологической структуре заболеваний у пациентов Центра представлены в табл. 2. Наиболее часто у больных регистрировали вирусный гепатит С (89,6%) в вариантах моно- и микстинфекции. Обращает на себя внимание, что у всех больных ВИЧ-инфекцией отмечалось коинфицирование вирусами гепатитов С и/или В.

Генотипирование вируса гепатита С методом полимеразной цепной реакции проведено 355 больным. Наиболее часто выявляли генотипы 3a и 1b (табл. 3).

Об опыте внутривенного потребления наркотических веществ сообщили 56% наблюдаемых пациентов, из них 67% находились в ремиссии различной степени длительности. Вместе с тем нельзя исключить внутривенное потребление наркотических веществ как причину инфицирования вирусами гепатитов и ВИЧ у большего числа больных.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Опыт СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова демонстрирует эффективность подразделений, способных оказывать комплексную медицинскую помощь и психологическую поддержку лицам молодого возраста, больным хроническими вирусными гепатитами и ВИЧ-инфекцией.

Потенциал учебных медицинских заведений (клинический, научный) может способствовать существующей службе оказания помощи ВИЧ-инфицированным больным через кооперацию их деятельности с Центрами по профилактике и борьбе со СПИДом и общественными организациями.

ЛИТЕРАТУРА

1. Антонова, Т. В. Вирусные гепатиты у подростков: трудные пациенты / Т. В. Антонова, Д. А. Лиознов // Практическая медицина. – 2006. – № 4 (18). – С. 24–25.
2. Колосовская, Е. Н. Анализ заболеваемости госпитальными инфекциями и организация профилактических и противоэпидемических мероприятий в стационарах Санкт-Петербурга в 2007 году / Е. Н. Колосовская [и др.]. – СПб, 2008. – 56 с.

3. О санитарно-эпидемиологической обстановке в Российской Федерации в 2007 году : гос. докл. – М. : Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора, 2008. – 397 с.

4. *Онищенко, Г. Г.* Проблема ВИЧ-инфекции в Российской Федера-

ции / Г. Г. Онищенко // *Здравоохранение РФ*. – 2005. – № 5. – С. 19–25.

5. *Покровский, В. В.* Когда наступит перелом в борьбе с ВИЧ/СПИДом? / В. В. Покровский // *Эпидемиология и инфекционные болезни*. – 2006. – № 6. – С. 4–9.

© Коллектив авторов 2009 г.
УДК 616-082:615.47

**С. А. Балохина, Н. Г. Петрова,
Л. С. Слесаревская, Э. В. Комличенко,
М. М. Мартиросян**

УПРАВЛЕНИЕ МАТЕРИАЛЬНО-ТЕХНИЧЕСКИМИ РЕСУРСАМИ КАК НЕОБХОДИМОЕ УСЛОВИЕ ОКАЗАНИЯ КАЧЕСТВЕННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова

В период реформирования системы здравоохранения стоящие перед органами управления и лечебно-профилактическими учреждениями задачи повышения качества и эффективности медицинской помощи требуют постоянного поиска путей решения [1]. При этом качество медицинской помощи обеспечивается всеми составляющими элементами системы здравоохранения: материально-техническим обеспечением, кадровыми, научными, организационными, финансовыми, интеллектуальными и информационными ресурсами [2].

Деятельность медицинских учреждений (организаций) в условиях формирования рыночных отношений в здравоохранении повысила ответственность руководителей при принятии управленческих решений по рациональному использованию материально-технических ресурсов.

Следует отметить, что, с позиции экономической эффективности, именно материально-технические ресурсы являются основными видами ресурсов, используемых учреждениями здравоохранения в процессе их экономической деятельности. При этом под материальными ресурсами здравоохранения подразумевается совокупность зданий, сооружений, оборудования, транспорта, горюче-смазочных материалов, лекарственных средств и изделий медицинского назначения, расходных материалов, запасных частей, инструментария, мягкого инвентаря, хозяйственных товаров, сырья и других материальных ценностей, которые находятся в распоряжении организаций здравоохранения и используются при производстве товаров и услуг.

Большую часть материальных ресурсов в здравоохранении составляют основные фонды, являющиеся составной частью активов учреждений и используемые для про-

изводства товаров и услуг, которые постепенно переносят на них свою стоимость.

В системе здравоохранения к основным средствам (фондам) относятся здания, сооружения, оборудование, транспорт, измерительные приборы и устройства и другие объекты бухгалтерского учета и отчетности в соответствии с «Общероссийским классификатором основных фондов» со сроком полезного использования более 12 месяцев.

Статистика оценки основных средств строится на основании следующих групп показателей:

- показатели стоимости и состояния основных средств;
- показатели движения основных средств;
- показатели использования основных средств.

При этом в условиях ограниченных финансовых ресурсов многие медицинские учреждения (преимущественно государственной формы собственности) во многом исчерпали заложенные в них материально-технические ресурсы, а эксплуатируемое в них медицинское оборудование как морально, так и физически устарело.

Учитывая вышеизложенное, на основании имеющихся данных годового статистического отчета «Сведения о сети и деятельности учреждений здравоохранения» (ф. 47) за 2007 г. нами было изучено состояние зданий лечебно-профилактических учреждений города.

По представленным отчетным данным на конец 2007 г., на балансе учреждений здравоохранения состояло 370 зданий больничных учреждений, 397 зданий амбулаторно-поликлинических учреждений и 62 здания поликлиник, входящих в состав больничных учреждений. Из общего числа зданий лечебно-профилактических учреждений 9 (1,0%) находятся в аварийном состоянии и требуют сноса; 51 (6,2%) требуют реконструкции и 165 (19,9%) нуждаются в капитальном ремонте. Настораживает тот факт, что в некоторых зданиях медицинских учреждений до настоящего времени отсутствуют необходимые виды (элементы) благоустройства: в 24 (2,9%) зданиях отсутствует водопровод; в 47 (5,7%) зданиях – горячее водоснабжение, в 24 (2,9%) – центральное отопление и канализация и в 34 (4,1%) – телефонная связь.

Для повышения качества и эффективности оказываемой медицинской помощи существенное значение имеет оснащение лечебно-профилактических учреждений медицинской техникой. При существующей системе экономических отношений медицинские учреждения (организации) в большей степени заинтересованы в использовании нового оборудования, так как повышается качество диагностического процесса и появляется возможность расширить спектр предоставляемых услуг.

Анализ работы медицинского оборудования базируется на системе показателей, характеризующих использование его численности, времени работы и мощности. В целом аппаратное оснащение кабинетов функциональной диагностики представлено 1643 электрокардиографами, из которых 496 (30,2%) трехканальные и 399 (24,3%) имеют возможность мониторинга более трех каналов электрокардиограмм. Из общего числа электрокардиографов 179 единиц (10,9%) имеют систему съема электрокардиограмм на базе компьютера. Помимо этого, кабинеты функциональной диагностики также оснащены 224 системами холтеровского мониторинга электрокардиограмм, 111 – системой суточного мониторинга артериального давления, 125 – комплексами для дозированной физической нагрузки (в том числе 90 велоэргометрами), 10 – поликардиографами, 100 – реографами, 153 – электроэнцефалографами (из которых 115 (75,2%) – с компьютерной обработкой данных), 205 – спирографами и 344 – приборами для индивидуального контроля дыхания.

Оснащение рентгеновской службы включает 1277 рентгеновских аппаратов и единиц оборудования, из которых 693 (54,3%) со сроком эксплуатации свыше 10 лет, 372 проявочных автоматов, 753 аппаратов ультразвукового исследования, 16 магнитно-резонансных томографов и 64 эхоэнцефалографа.

В структуре рентгеновского оборудования наибольший удельный вес приходится на рентгенодиагностические комплексы на 3 рабочих места (19,6%). Дентальные аппараты (18,7%), палатные аппараты (18,5%) и рентгенодиагностические комплексы для рентгенографии (15,9%), наименьший – на рентгеноурологические аппараты (0,2%), остеоденситометры (0,6%) и ангиографические аппараты (1,2%). Удельный вес других видов рентгеновских аппаратов и оборудования колебался от 2,3% (телеуправляемые поворотные столы-штативы) до 8,3% (плёночные флюорографы).

При анализе использования медицинской техники настораживает тот факт, что практически по всем видам рентгеновской аппаратуры срок ее эксплуатации превышает десять лет. В наибольшей степени это относится

к использованию плёночных флюорографов, из которых 75,5% с более чем длительным сроком эксплуатации; рентгенодиагностическим комплексам на 3 рабочих места (72,8% из них); рентгеноурологическим и палатным аппаратам (66,7% и 55,1% соответственно) (таблица).

Оснащение лабораторной службы оборудованием включает 2784 микроскопа, в том числе 693 (24,9%) монокулярных, 1906 (68,5%) бинокулярных и 185 (6,6%) люминесцентных. Достаточно широко в оснащении лаборатории представлены анализаторы (гематологические для подсчета форменных элементов крови, биохимические, для иммуноферментного анализа, анаэробного культивирования, идентификации микроорганизмов и определения их чувствительности к антибактериальным препаратам и т. д.) общим числом 972 единицы. Кроме того, имеется 767 фотоэлектрических колориметра, 168 коагулометров, 154 гемоглобинометров, 128 рН-метров, 88 многокомпонентных отражательных фотометров для анализа мочи, 84 аппарата для полимеразой цепной реакции и прочие виды лабораторно-диагностического оборудования.

Изложенные статистические данные по состоянию материально-технической базы коррелируют с результатами социологического опроса, проведенного в многопрофильном стационаре и поликлинике Санкт-Петербурга.

В большинстве случаев (65,5%) в своей работе респонденты использовали оборудование, отвечающее современным требованиям, причем использовали его достаточно эффективно; в 1,2% случаев они указали, что при наличии современного оборудования оно используется недостаточно; в 4,6% оборудование было устаревшим, хотя и не требовавшим ремонта; в 28,7% – не только устаревшим, но и нуждавшимся в ремонте. Среди лиц до 35 лет 72,4% указали, что эффективно работают на современном оборудовании; в возрасте 36–45 лет показатель составил 60%; в 46–55 лет – 28,6%; в возрасте старше 55 лет – 38,4%. Удельный вес указавших, что работают на оборудовании, нуждающемся в ремонте, был наиболее высок (65%) среди среднего медперсонала. Все руководители были уверены, что в их учреждении современное, высокоэффективно работающее оборудование.

Важно отметить, что работающие в стационаре (государственной формы собственности) лишь в 42,8% случаев отметили, что работают на современном оборудовании, которое эффективно используется; в 8,2% они считали, что работают на устаревшем, не требующем ремонта оборудовании, в 49% – на устаревшем, требующем ремонта оборудовании. В то же время в учреждениях негосударственной формы собственности доля высказавших первый ответ составила 94,7%. Среди врачей разных отделений стационара, работающих в отделениях портальной гипертензии, хозрасчетном, неврологиче-

Доля рентгеновского оборудования, имеющего длительные сроки эксплуатации, %

| № п/п | Оборудование | % |
|-------|---|------|
| 1. | Телеуправляемые поворотные столы-штативы | 20,7 |
| 2. | Рентгенодиагностические комплексы на 3 рабочих места | 72,8 |
| 3. | Рентгенодиагностические комплексы для рентгенографии | 43,3 |
| 4. | Цифровые аппараты для исследований органов грудной клетки | 3,8 |
| 5. | Плёночные флюорографы | 75,5 |
| 6. | Палатные аппараты | 55,1 |
| 7. | Передвижные рентгенотелевизионные установки типа С-дуга | 33,3 |
| 8. | Рентгеноурологические аппараты | 66,7 |
| 9. | Маммографические аппараты | 13,8 |
| 10. | Дентальные аппараты | 44,8 |
| 11. | Ангиографические аппараты | 20,0 |
| 12. | Рентгеноконтрастные томографы | 29,4 |
| 13. | В целом | 54,3 |

ском, в 100% ответили, что пользуются достаточно эффективным современным оборудованием. В гинекологическом же на долю такого ответа пришлось лишь 7,7%; хирургическом – 36,4%; на травматологическом такие ответы вообще отсутствовали (преобладающим в этих отделениях был следующий ответ: «Оборудование устаревшее и нуждающееся в ремонте»).

Таким образом, как результаты анализа официальных статистических данных, так и данные социологического опроса врачей свидетельствуют о том, что материально-техническая база учреждений здравоохранения, являясь важной структурной составляющей качества медицинской помощи, требует существенного обновления и улучшения. Неудовлетворительное состояние аппаратуры, полностью исчерпавшей свой ресурс, и, как следствие, отставание материально-технической базы в целом связано со слабыми финансовыми возможностями систе-

мы здравоохранения, что не способствует повышению качества медицинской помощи и тормозит развитие ее высокотехнологичных видов. Решение и устранение указанной проблемы является актуальной задачей управления здравоохранением на современном этапе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кича, Д. И. Стандартизация медицинской помощи – основа повышения ее эффективности и качества / Д. И. Кича [и др.] // Проблемы городского здравоохранения : сб. науч. тр. Вып. 11 / под ред. засл. деятеля наук РФ, д-ра мед. наук, проф. Н. И. Вишнякова, д-ра мед. наук О. В. Емельянова. – СПб., 2006. – С. 166–169.

2. Стародубов, В. И. Основные предпосылки формирования политики качества в здравоохранении / В. И. Стародубов [и др.] // Материалы науч.-практ. конф. «Экономическая эффективность и развитие регионального здравоохранения» (М., 28–30 мая 2002 г.). – М., 2002. – С. 3–6.

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 616-082:658.512

**Н. Г. Петрова, Л. С. Слесаревская,
С. А. Балохина, Э. В. Комличенко,
М. М. Мартиросян, М. В. Петров**

ВНЕДРЕНИЕ НОВЫХ ОРГАНИЗАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ КАК УСЛОВИЕ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ

Кафедра общественного здоровья и здравоохранения Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова

Реализация принципа «TQM» (total quality management – тотальное управление качеством) невозможна без выработки единой стратегии, подразумевающей системное воздействие на структурную, технологическую составляющую, что, как следствие, ведет к улучшению результирующих критериев.

Управление данным процессом и его совершенствование возможны при условии целенаправленной реализации научно-обоснованных (и показанных в том или ином учреждении, что может быть решено только на основе глубокого анализа макро- и микросреды), организационных (направленных на структурный компонент качества) технологий.

Как известно, технология – это определенная последовательность действий, направленных на решение конкретных задач, а также (или включая) совокупность методов, процедур, технических приемов и инструментов [1].

Традиционно применительно к медицине и здравоохранению под словом «технология» подразумевались специфические действия, направленные на диагностику и лечение (т. е. медицинские технологии). Однако в конце XX в. все больше внимания стало уделяться необходимости создания (совершенствования, приведения в целостную систему) организационных технологий. Это было обусловлено:

– последствиями социально-экономического кризиса, приведшего к резкому снижению ресурсной обеспеченности отрасли и актуализировавшего проблему поиска и наиболее оптимального использования всех видов ресурсов;

– развитием рыночных отношений, появлением новых типов медицинских организаций с развитием конкурентных отношений между ними и необходимостью поиска (создания) конкурентных преимуществ в «борьбе» за пациента, что требует совершенно иных подходов в менеджменте и маркетинге;

– расширением спектра задач, стоящих перед руководителями в ЛПУ, как в связи с вышеуказанным, так и вследствие, с одной стороны, расширения их прав, а с другой, усиления ответственности за принимаемые решения; из-за усложнения взаимоотношений между различными контрагентами (в том числе другими ЛПУ), которые все в большей степени носят экономический характер; сложности и многоканальности системы финансирования учреждений здравоохранения, а также из-за необходимости в условиях кадрового дефицита поиска новых форм взаимоотношений с сотрудниками, направленных на привлечение и удержание кадров;

– существенным изменением (в сторону усложнения и определенной систематизации) подходов к контролю и обеспечению качества медицинской помощи.

Рассматривая организационные технологии в здравоохранении как совокупность структур, механизмов, про-

цессов организации оказания медицинской помощи населению [2], можно отметить, во-первых, что они могут (и должны) отличаться в зависимости от уровня управления (от подразделения ЛПУ до Министерства здравоохранения). Во-вторых, каждый руководитель должен иметь четкое представление об их сущности и возможном (существующем) и потенциальном «наборе». И первое, и второе малореализуемо в настоящее время на практике, так как фактически отсутствует единая классификация (или какая-либо систематизация) существующих организационных технологий и даже их единое понимание. Кроме того, практически разрушена стройная система подготовки (и выдвижения) кадров-руководителей, которые должны получать системное образование в области менеджмента, в том числе знания, касающиеся организационных технологий вообще и в здравоохранении в частности. В-третьих, несмотря на постоянное (объективно обусловленное, как отмечалось выше) развитие и совершенствование организационных технологий (в том числе проявляющееся в новых теоретических предпосылках, излагаемых в различных концептуальных документах, новых нормативных актах, обоснованиях, содержащихся в многочисленных научных исследованиях), их внедрение в практическую деятельность руководителей (а тем более инициирование ими новых) идет крайне медленно и малоощутимо для практического здравоохранения. Это связано со многими причинами, в числе которых:

- отсутствие системности в разрабатываемых и рекомендуемых технологиях (в том числе в обязательных для исполнения нормативных документах), которые нередко противоречат сложившейся практике, друг другу, а также реалиям функционирования того или иного ЛПУ (с его особенностями инфраструктуры и макросреды);
- отсутствие объективных условий для реализации той или иной технологии (необходимого оборудования, подготовленных кадров, адекватного финансирования и др.);
- наличие факторов субъективного характера со стороны руководителей и подчиненных.

В силу вышеуказанных причин, многие руководители не знают и не умеют строить свою работу с ориентацией на новые прогрессивные организационные технологии. К тому же отсутствует какая-либо экономическая заинтересованность и руководителей, и исполнителей к их внедрению. Любая деятельность, связанная с инновациями, ведет к росту нагрузки, уровня ответственности и определенному риску при недостаточно четких перспективах и результатах. К тому же люди (в большинстве своем) интуитивно опасаются нового, пассивно, а иногда и активно противостоят ему. Поэтому руководителю, решившемуся на нововведения, требуется приложить дополнительные усилия не только для самоактивации, но и для

преодоления сопротивления и активного вовлечения в процесс самих подчиненных.

Таким образом, складывается ситуация, когда объективное развитие медицинской науки и здравоохранения, рост возможностей для повышения качества медицинской помощи и требований к нему пациентов входят в противоречие с реальной ситуацией. Указанное делает достаточно труднореализуемой задачу системного внедрения оптимальных для современного этапа функционирования здравоохранения организационных технологий. В частности, на наш взгляд, первоочередными из них должны быть:

- повсеместное внедрение автоматизированных систем управления;
- переход на финансирование по медико-экономическим стандартам;
- внедрение экономических методов управления (включающих, среди прочего, дифференциацию оплаты труда персонала в соответствии с его объемом и качеством);
- переход на программно-целевое планирование с использованием в качестве базового аналитического метода планирования;
- приведение норм нагрузки медицинского персонала в соответствие с современными требованиями;
- системность в контроле качества и переход на модель «всеобщего управления качеством»;
- реальная реструктуризация коечного фонда с его дифференциацией по степени интенсивности лечения и ухода в соответствии с нуждаемостью пациентов во всех видах лечения (по степени его интенсивности);
- возобновление в полном объеме системы динамического диспансерного наблюдения;
- развитие телемедицины.

Наряду с указанными общими задачами, существуют конкретные направления по отдельным видам помощи, требующие специального рассмотрения и анализа.

При этом главной задачей федеральных органов здравоохранения является обеспечение системности данных процессов и постоянный контроль за их поэтапной реализацией.

Без решения указанных задач преодоление системного кризиса, в котором в настоящее время находится отечественное здравоохранение, вряд ли возможно.

ЛИТЕРАТУРА

1. Безроков, О. Т. Организационные технологии повышения эффективности деятельности ЛПУ (комплексное социально-гигиеническое исследование) : автореф. дисс. ... канд. мед. наук / О. Т. Безроков. – М., 1998. – 24 с.
2. Организационные технологии в здравоохранении / под науч. ред. В. Б. Филатова. – М. : НИИ им. Н.А. Семашко РАМН, 2001. – 108 с.

© Г. А. Хацкевич, К. И. Шапиро, М. Г. Булгаков, 2009 г.
УДК 616.716.1+616.833.17]-053.32-082:519.24/.27

**Г. А. Хацкевич, К. И. Шапиро,
М. Г. Булгаков**

ОРГАНИЗАЦИЯ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОЙ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ ДЕТЯМ С ЧЕЛЮСТНО-ЛИЦЕВОЙ ПАТОЛОГИЕЙ (КЛИНИКО-СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ)

Кафедра челюстно-лицевой хирургии детского возраста Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова

Разработка региональных программ, направленных на совершенствование хирургической помощи детям с врожденными и приобретенными заболеваниями челюстно-лицевой области, значительно затруднена из-за отсутствия официальных статистических данных о распространенности этой патологии и показателей амбулаторно-поликлинического обслуживания.

Нами проведен анализ стационарной помощи, оказанной детям с патологией челюстно-лицевой помощи в специализированном отделении Ленинградской областной клинической больницы. Для того чтобы изучить влияние новых форм организации в современных условиях, взяты истории болезни лечившихся в 1997 г. (89 больных) и 2007 г. (231 больной). Данные из историй болезни копировались на специально разработанные карты исследования.

Всего изучены данные о 320 больных.

Проведенный анализ показал, что среди госпитализированных преобладали больные с воспалительными заболеваниями челюстей – 12,8 %, расщелинами губы и неба – 10 %, другими врожденными аномалиями языка, рта, глотки – 9,7 % и другими врожденными аномалиями лица и шеи, доброкачественными новообразованиями мягких тканей лица – по 8,8 %. На эти 5 групп приходится 50,1 % всех лечившихся в отделении (табл. 1).

В 2007 г. значительно вырос удельный вес плановых больных с болезнями слюнных желез, сосудистыми образованиями, врожденными аномалиями лица и шеи, расщелинами губы и неба, и уменьшился удельный вес пациентов с воспалительными заболеваниями: воспалительными заболе-

ваниями челюстей, флегмонами, острым лимфаденитом, а также с врожденными аномалиями языка, рта, глотки (табл. 1).

За исследуемый период значительно меняются средние сроки стационарного лечения в детском челюстно-лицевом отделении (табл. 2). Удельный вес больных, госпитализированных на срок менее одной недели, вырос вдвое – с 5,6 до 12,6 %, а лечившихся до двух недель – с 67,4 до 83,5 %. При этом число больных, лечившихся более чем две недели, снизился почти в 7 раз – с 27,0 до 3,9 %. Особенно много (25 % и более) больных с краткосрочным (менее 7 дней) пребыванием в стационаре отмечено при доброкачественных новообразованиях костей и хрящей, кариесе и пульпите, остром лимфадените, расщелинах неба, переломах черепа и лицевых костей (табл. 2). Подобные тенденции связаны с особенностями пребывания в стационаре по системе ОМС и относятся к удалению доброкачественных новообразований небольших размеров, больным с ушибами мягких тканей лица либо переломам костей лицевого скелета без смещения по типу «зеленой ветки», а также к больным врожденными пороками развития, требующими короткого обследования перед операцией.

Третьей особенностью явилось значительное уменьшение числа больных, госпитализированных в порядке экстренной помощи, – с 70,8 % в 1997 г. до 22,5 % в 2007 г. (табл. 3) и, соответственно, рост госпитализации плановых больных. В определенной мере это связано с тем, что за последние 10 лет появились детские стоматологи в районных больницах

Таблица 1

Состав больных в стационаре (% к итогу)

| Диагноз | В среднем | 1997 г. | 2007 г. |
|--|-----------|---------|---------|
| 1. Доброкачественные новообразования рта, глотки | 1,9 | 1,1 | 2,2 |
| 2. Доброкачественные новообразования костей, хрящей | 1,3 | 1,1 | 1,3 |
| 3. Болезни слюнных желез | 1,9 | 0 | 2,6 |
| 4. Сосудистые образования | 5,3 | 1,1 | 6,9 |
| 5. Другие доброкачественные новообразования мягких тканей лица | 4,7 | 2,3 | 5,6 |
| 6. Нарушения развития и ретенция зубов | 8,8 | 10,1 | 8,2 |
| 7. Кариес, пульпит | 1,3 | 0 | 1,7 |
| 8. Воспалительные заболевания челюстей | 12,8 | 10,1 | 13,9 |
| 9. Абсцесс кожи, фурункул, карбункул | 1,3 | 1,1 | 1,3 |
| 10. Флегмона | 2,2 | 7,9 | 0 |
| 11. Острый лимфаденит | 1,3 | 3,4 | 0,4 |
| 12. Гипертрофические изменения кожи | 1,6 | 0 | 2,2 |
| 13. Другие врожденные аномалии лица и шеи | 8,8 | 5,6 | 10,0 |
| 14. Другие врожденные аномалии языка, рта, глотки | 9,7 | 25,8 | 3,5 |
| 15. Расщелина верхней губы | 2,2 | 3,4 | 1,7 |
| 16. Расщелина неба | 6,3 | 7,9 | 5,6 |
| 17. Другие врожденные аномалии черепа и лица | 1,6 | 2,3 | 1,3 |
| 18. Переломы черепа и лицевых костей | 2,8 | 0 | 3,9 |
| 19. Поверхностные раны головы | 2,5 | 1,1 | 3,0 |
| 20. Другие и неуточненные травмы головы | 2,8 | 2,3 | 3,0 |
| 21. Последствия термических и химических ожогов | 5,3 | 5,6 | 5,2 |
| 22. Расщелины губы и неба | 10,0 | 5,6 | 14,7 |
| 23. Прочие | 3,6 | 2,2 | 1,8 |
| Итого | 100,0 | 100,0 | 100,0 |

Таблица 2

| Диагноз | | Сгруппированные (% к итогу) | | | | Средние |
|-----------|---|-----------------------------|------|--------|-------|-----------|
| | | 1 7 | 8 14 | 15 и > | Всего | |
| 1. | Доброкачественные новообразования рта, глотки | 16,7 | 83,3 | | 100 | |
| 2. | Д-оброкачественные новообразования костей, хрящей | 25,0 | 75,0 | | 100 | |
| 3. | Болезни слюнных желез | 16,7 | 83,3 | | 100 | |
| 4. | Сосудистые образования | 17,7 | 76,5 | 5,8 | 100 | |
| 5. | Другие доброкачественные новообразования мягких тканей лица | 13,3 | 80,0 | 6,7 | 100 | |
| 6. | Нарушения развития и ретенция зубов | 7,1 | 85,7 | 7,2 | 100 | |
| 7. | Кариес, пульпит | 25,0 | 75,0 | | 100 | |
| 8. | Воспалительные заболевания челюстей | | 95,1 | 4,9 | 100 | |
| 9. | Абсцесс кожи, фурункул, карбункул | | 100 | | 100 | |
| 10. | Флегмона | | 100 | | 100 | |
| 11. | Острый лимфаденит | 25,0 | 75,0 | | 100 | |
| 12. | Гипертрофические изменения кожи | | 100 | | 100 | |
| 13. | Другие врожденные аномалии лица и шеи | 14,3 | 71,4 | 14,3 | 100 | |
| 14. | Другие врожденные аномалии языка, рта, глотки | 6,5 | 93,5 | | 100 | |
| 15. | Расщелина верхней губы | | 57,1 | 42,9 | 100 | |
| 16. | Расщелина неба | 30,0 | 35,0 | 35,0 | 100 | |
| 17. | Другие врожденные аномалии черепа и лица | 20,0 | 60,0 | 20,0 | 100 | |
| 18. | Переломы черепа и лицевых костей | 33,3 | 66,7 | | 100 | |
| 19. | Поверхностные раны головы | | 100 | | 100 | |
| 20. | Другие и неуточненные травмы головы | 11,1 | 88,9 | | 100 | |
| 21. | Последствия термических и химических ожогов | 11,8 | 64,7 | 23,5 | 100 | |
| 22. | Расщелины губы и неба | 3,1 | 75,0 | 21,9 | 100 | |
| 23. | Прочие | 33,3 | 66,7 | | 100 | |
| Итого | | 10,6 | 79,1 | 10,3 | 100 | |
| в 1997 г. | | 5,6 | 67,4 | 27,0 | 100 | 14,0±0,53 |
| в 2007 г. | | 12,6 | 83,5 | 3,9 | 100 | 11,2±1,1 |

Таблица 3

| Диагноз | | Удельный вес экстренной госпитализации (% к итогу) | | |
|-----------|---|--|---------|---------|
| | | В среднем | 1997 г. | 2007 г. |
| 1. | Доброкачественные новообразования рта, глотки | 33,3 | | 40,0 |
| 2. | Доброкачественные новообразования костей, хрящей | | | |
| 3. | Болезни слюнных желез | | | |
| 4. | Сосудистые образования | 23,5 | | 25,0 |
| 5. | Другие доброкачественные новообразования мягких тканей лица | 6,7 | | 7,7 |
| 6. | Нарушения развития и ретенция зубов | 7,1 | 11,1 | 5,3 |
| 7. | Кариес, пульпит | | | |
| 8. | Воспалительные заболевания челюстей | 78,1 | 100,0 | 71,9 |
| 9. | Абсцесс кожи, фурункул, карбункул | 75,0 | | 100,0 |
| 10. | Флегмона | 100,0 | 100,0 | 100,0 |
| 11. | Острый лимфаденит | 75,0 | 100,0 | 85,0 |
| 12. | Гипертрофические изменения кожи | 20,0 | | 20,0 |
| 13. | Другие врожденные аномалии лица и шеи | 10,7 | 20,0 | 8,7 |
| 14. | Другие врожденные аномалии языка, рта, глотки | | | |
| 15. | Расщелина верхней губы | | | |
| 16. | Расщелина неба | | | |
| 17. | Другие врожденные аномалии черепа и лица | | | |
| 18. | Переломы черепа и лицевых костей | 44,4 | | 44,4 |
| 19. | Поверхностные раны головы | 50,0 | 100,0 | 42,9 |
| 20. | Другие и неуточненные травмы головы | 77,8 | 100,0 | 71,4 |
| 21. | Последствия термических и химических ожогов | 11,8 | 40,0 | |
| 22. | Расщелины губы и неба | | 100,0 | |
| В среднем | | 24,4 | 70,8 | 22,5 |

Таблица 4

Удельный вес операций (% к итогу)

| Диагноз | Не оперированы | Характер операции | | | | | | | | | | | Всего больных |
|---------|----------------|--------------------|------------------------|----------|----------------------------|------------------------------|------------------------|------------------------------------|---------|---|------------------------------|-------------------|---------------|
| | | хейлоуранопластика | риноотоблефаропластика | ПХО раны | иссечение свища, кисты шеи | РВК зуба, компакт-остеотомия | дренирование, удаление | остеосинтез шинирование, репозиция | биопсия | иссечение доброкачественных новообразований | пластика уздечек губы, языка | аутодермопластика | |
| | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | |
| 1 | 16,7 | | | | | | | | | 66,7 | | 16,7 | 100 |
| 2 | | | | | | | | | | 100 | | | 100 |
| 3 | 16,7 | | | | | | | | | 83,3 | | | 100 |
| 4 | 11,8 | | | | | | | | | 76,5 | | 11,7 | 100 |
| 5 | 20,0 | | | | | | | | | 80,0 | | | 100 |
| 6 | | | | | | 53,6 | 46,4 | | | | | | 100 |
| 7 | 25,0 | | | | | | 75,0 | | | | | | 100 |
| 8 | 26,8 | | | | | 2,5 | 70,7 | | | | | | 100 |
| 9 | | | | | | | 100 | | | | | | 100 |
| 10 | | | | | | | 100 | | | | | | 100 |
| 11 | 75,0 | | | | | | 25,0 | | | | | | 100 |
| 12 | | | | | 40,0 | | | | | 20,0 | | 40,0 | 100 |
| 13 | 14,3 | | | | 64,3 | | 7,1 | | | 14,3 | | | 100 |
| 14 | 6,5 | | | | | | | | | | 93,5 | | 100 |
| 15 | 14,3 | 71,4 | | | | | | | | | 14,3 | | 100 |
| 16 | 20,0 | 80,0 | | | | | | | | | | | 100 |
| 17 | 40,0 | 30,0 | 30,0 | | | | | | | | | | 100 |
| 18 | 44,5 | | | 22,2 | | | 11,1 | 22,2 | | | | | 100 |
| 19 | 25,0 | | 12,5 | 62,5 | | | | | | | | | 100 |
| 20 | 44,5 | | 11,1 | 22,2 | | | | 22,2 | | | | | 100 |
| 21 | 11,8 | | | | 5,9 | | | | | | | 82,3 | 100 |
| 22 | 3,1 | 84,4 | | | | | | | | | | 12,5 | 100 |
| Итого | 15,6 | 15,3 | 2,2 | 2,8 | 6,6 | 5,0 | 19,0 | 1,3 | 0,3 | 14,7 | 9,7 | 7,5 | 100 |
| 1997 г. | 12,0 | 13,5 | | 1,1 | 6,8 | 5,6 | 23,3 | | | 5,5 | 26,7 | 5,5 | 100 |
| 2007 г. | 17,3 | 16,0 | 3,0 | 3,5 | 6,5 | 4,8 | 17,3 | 1,7 | 0,4 | 18,2 | 3,0 | 8,3 | 100 |

цах области, которые своевременно и квалифицированно оказывают специализированную помощь при острых заболеваниях, а в областную больницу направляют пациентов с более сложной патологией. В зависимости от характера патологии удельный вес госпитализированных для оказания экстренной помощи колеблется от 100% при флегмоне до полного отсутствия таких больных при некоторых новообразованиях, болезнях слюнных желез, врожденных заболеваниях челюстно-лицевой области (табл. 3).

Значительный интерес представляет анализ хирургической работы специализированного отделения. Нами установлено, что лечились консервативно 15,6% больных, причем удельный вес таких больных увеличился с 12% в 1997 г. до 17,3% в 2007 г.

Анализ характера операций, проводимых в отделении, показал, что среди операций преобладали дренирование очагов воспаления и удаление зубов – 19,0%, хейлоуранопластика – 15,3%, иссечение новообразований – 14,7%, пластика уздечек губы, языка – 9,7% и аутодермопластика – 8,3% (табл. 4).

Значительно увеличилось число операций по иссечению доброкачественных новообразований, уменьшилось число пластик уздечек губы, языка, операций дренирования очагов воспаления и удаления зубов (табл. 4).

Общая анестезия, преимущественно эндотрахеальное обезболивание, а именно – с интубацией трахеи и ларингеальная маска, потребовалась 67,7% больных, в 2007 г. под общей анестезией оперированы 70,5% больных, в то время как в 1997 г. – 60,8% (табл. 5).

В связи с изменением возрастных групп до 18 лет можно ожидать изменения поступающих больных по нозологическим формам – увеличение травматических повреждений, увеличение количества операций по ортодонтическим показаниям. В этой связи следует рассмотреть вопрос о технике обезболивания, сокращая показания для интубационной анестезии с возможностью перехода на комбинированные методы обезболивания.

Большое значение для оказания специализированной помощи имеет полноценное диагностическое обследование пациентов (табл. 6). Большинство больных поступали уже обследованными на предыдущих этапах, однако часть из них обследованы в стационаре. Основным видом исследования была рентгенография, она проведена 18,4% случаев (в 1997 г. – 21,3%, в 2007 г. – 17,3%).

Значительно реже проводилось УЗИ – 3,7% (в 1997 г. – 4,5%, в 2007 г. – 3,5%).

Интенсивность обследования определялась характером патологии (табл. 6).

Таблица 5

Удельный вес различных видов анестезии (% к итогу оперированных больных)

| Диагноз | Анестезия | | |
|--|-----------|---------|-------|
| | общая | местная | всего |
| 2. Доброкачественные новообразования рта, глотки | 80,0 | | 100 |
| 3. Доброкачественные новообразования костей, хрящей | | | |
| 4. Болезни слюнных желез | | | |
| 5. Сосудистые образования | 73,4 | | 100 |
| 6. Другие доброкачественные новообразования мягких тканей лица | 50,0 | | 100 |
| 9. Нарушения развития и ретенция зубов | 57,9 | 32,1 | 100 |
| 10. Кариес, пульпит | | | |
| 13. Воспалительные заболевания челюстей | 55,2 | 44,8 | 100 |
| 14. Абсцесс кожи, фурункул, карбункул | | | 100 |
| 15. Флегмона | 100,0 | | 100 |
| 16. Острый лимфаденит | 100,0 | | 100 |
| 17. Гипертрофические изменения кожи | 80,0 | | 100 |
| 18. Другие врожденные аномалии лица и шеи | 95,8 | 4,2 | 100 |
| 20. Другие врожденные аномалии языка, рта, глотки | | | |
| 21. Расщелина верхней губы | | | |
| 22. Расщелина неба | | | |
| 23. Другие врожденные аномалии черепа и лица | | | |
| 24. Переломы черепа и лицевых костей | 60,0 | | 100 |
| 25. Поверхностные раны головы | 66,7 | 33,3 | 100 |
| 27. Другие и неуточненные травмы головы | 60,0 | 40,0 | 100 |
| 28. Последствия термических и химических ожогов | 73,3 | 26,7 | |
| 31. Расщелины губы и неба | | | |
| В среднем | 67,7 | 32,3 | 100 |
| В 1997 г. | 60,8 | 39,2 | |
| В 2007 г. | | 29,5 | |

Таблица 6

Удельный вес больных, охваченных разными видами обследования (% к общему числу больных с данным заболеванием)

| Диагноз | ЭХО ЭГ (28) | ЭХО КГ (29) | Рентгенография (30) | УЗИ (31) | КТ (32) |
|--|-------------|-------------|---------------------|----------|---------|
| 1. Доброкачественные новообразования рта, глотки | | | 16,7 | | |
| 2. Доброкачественные новообразования костей, хрящей | | | | | |
| 3. Болезни слюнных желез | | | | | |
| 4. Сосудистые образования | | | 11,8 | | |
| 5. Другие доброкачественные новообразования мягких тканей лица | | | 6,7 | | |
| 6. Нарушения развития и ретенция зубов | | | 32,1 | 3,6 | |
| 7. Кариес, пульпит | | | | | |
| 8. Воспалительные заболевания челюстей | | | 20,0 | 2,4 | |
| 9. Абсцесс кожи, фурункул, карбункул | | | | | |
| 10. Флегмона | | | 14,3 | 14,3 | |
| 11. Острый лимфаденит | | | 25,0 | | |
| 12. Гипертрофические изменения кожи | | | | | |
| 13. Другие врожденные аномалии лица и шеи | | | 21,4 | 3,6 | |
| 14. Другие врожденные аномалии языка, рта, глотки | | | | | |
| 15. Расщелина верхней губы | | | | | |
| 16. Расщелина неба | | | | | |
| 17. Другие врожденные аномалии черепа и лица | | | | | |
| 18. Переломы черепа и лицевых костей | | | 50,0 | | |
| 19. Поверхностные раны головы | | | 14,3 | | |
| 20. Другие и неуточненные травмы головы | 12,5 | | 25,0 | | |
| 21. Последствия термических и химических ожогов | | | | | |
| 22. Расщелины губы и неба | | | | 6,3 | |
| 23. Прочие | | | | | |
| Итого | 0,4 | | 18,4 | 3,7 | |
| В 1997 г. | | | 21,3 | 4,5 | |
| В 2007 г. | 0,5 | | 17,3 | 3,5 | |

Таблица 7

Удельный вес больных, охваченных разными видами лечения (% к общему числу больных)

| Диагноз | Виды лечения | | | | |
|--|------------------------|--------------------------|------|-----|---------------|
| | антибакте- риальное | десенсибили- зирующее | УВЧ | ГБО | хирургическое |
| 2. Доброкачественные новообразования рта, глотки | 83,3 | 83,3 | | | |
| 3. Доброкачественные новообразования костей, хрящей | 100,0 | 75,0 | | | |
| 4. Болезни слюнных желез | 83,3 | 66,4 | | | |
| 5. Сосудистые образования | 82,4 | 64,7 | | | |
| 6. Другие доброкачественные новообразования мягких тканей лица | 86,7 | 86,7 | | | |
| 9. Нарушения развития и ретенция зубов | 96,4 | 92,9 | 10,7 | | |
| 10. Кариес, пульпит | 50,0 | 25,0 | | | |
| 13. Воспалительные заболевания челюстей | | 100,0 | 48,8 | | |
| 14. Абсцесс кожи, фурункул, карбункул | | 100,0 | | | |
| 15. Флегмона | | 100,0 | | | |
| 16. Острый лимфаденит | 100,0 | 100,0 | | | |
| 17. Гипертрофические изменения кожи | | 100,0 | | | |
| 18. Другие врожденные аномалии лица и шеи | 85,7 | 85,7 | 7,1 | | |
| 20. Другие врожденные аномалии языка, рта, глотки | 87,1 | 16,7 | | | |
| 21. Расщелина верхней губы | | 83,3 | - | | |
| 22. Расщелина неба | 84,2 | 84,2 | 15,0 | | |
| 23. Другие врожденные аномалии черепа и лица | 60,0 | 60,0 | 20,0 | | |
| 24. Переломы черепа и лицевых костей | 88,9 | 100,0 | | | |
| 25. Поверхностные раны головы | | 87,5 | | | |
| 27. Другие и неуточненные травмы головы | 100,0 | 100,0 | | | |
| 28. Последствия термических и химических ожогов | 95,7 | 93,7 | 11,8 | | |
| 31. Расщелины губы и неба | 100,0 | 93,7 | 15,6 | | |
| Прочие | 69,2 | 61,5 | | | |
| В среднем | 90,2 | 80,7 | 16,3 | | |
| в 1997 г. | 94,3 | 68,2 | 20,2 | | |
| в 2007 г. | 88,6 | 85,5 | 14,7 | | |

Помимо хирургического (оперативного) лечения, больные с челюстно-лицевой патологией нуждались в использовании других методов лечения: антибактериального – 90,2 %, десенсибилизирующего – 80,7 %, УВЧ – 16,3 % (табл. 7). За последние годы увеличилось число больных, нуждающихся в гипосенсибилизирующей терапии.

Проведенный анализ может послужить основой для разработки медико-экономических стандартов для оказания специализированной помощи детям с патологией че-

люстно-лицевой области в учреждениях здравоохранения, предоставляющих медицинскую помощь в соответствии с Территориальной программой государственных гарантий оказания гражданам Российской Федерации бесплатной медицинской помощи в Санкт-Петербурге в рамках программы ОМС. Примером могут служить медико-экономические стандарты, разработанные для оказания скорой неотложной помощи («Менеджер здравоохранения», 2008. № 2. С. 33–38), что свидетельствует об актуальности данной проблемы по улучшению здоровья детей.

© Н. В. Туркина, Н. П. Марчук, Т. В. Рыжонина, 2009 г.
УДК 618.4:331.7

**Н. В. Туркина, Н. П. Марчук,
Т. В. Рыжонина**

КАДРОВЫЕ ПРОБЛЕМЫ СЛУЖБЫ РОДОВСПОМОЖЕНИЯ

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

Дефицит специалистов здравоохранения ощущается повсеместно как в России, так и во всех странах мира. По данным ВОЗ, дефицит медицинских работников исчисляется четырьмя миллионами специалистов. Вопросы кадровых ресурсов являются самыми приоритетными в укреплении национальной системы здравоохранения. Между тем, отмечается тенденция к текучести кадров и уходу опытных специалистов из сферы здравоохранения в другие отрасли народного хозяйства. Проблема дефицита медицинских работников все более становится проблемой государственной.

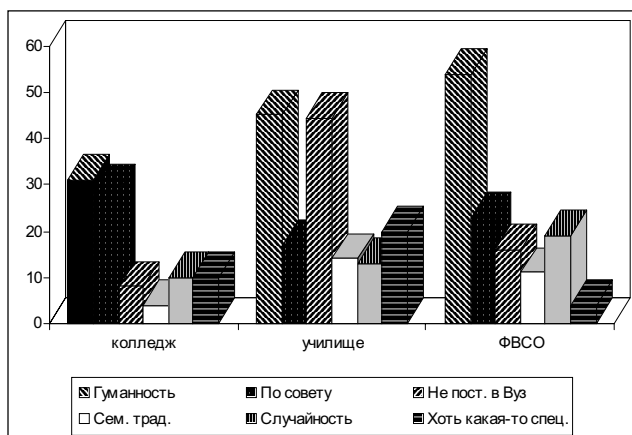


Рис. 1. Приоритеты в выборе профессии

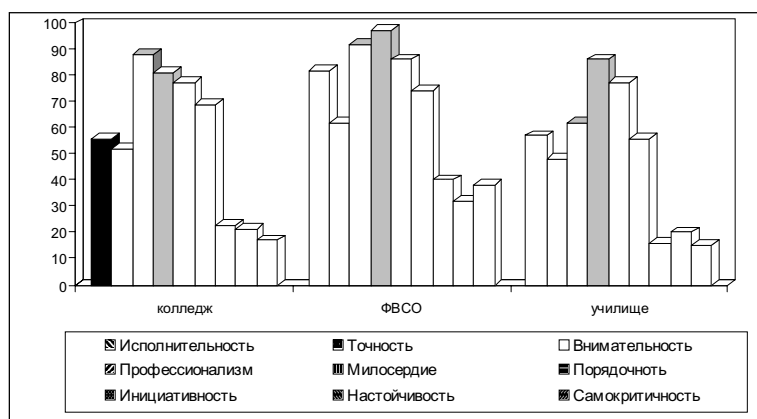


Рис. 2. Качества, которыми должна обладать медсестра

Основные этапы и причины кадровых потерь: абитуриент – студент – выпускник – молодой специалист – опытный профессионал.

Абитуриент:

- снижающееся число желающих получить профессию медсестры (демографические проблемы, низкий престиж);
- отсутствие системы отбора профессионально ориентированных абитуриентов;

- отсутствие практики психологического отбора.

Студент – выпускник – молодой специалист:

- несовершенство базового образования, недостаток практических, коммуникативных навыков;

- проблемы адаптации на рабочем месте;

- низкий престиж профессии в обществе;

- неадекватная система оплаты труда;

- отсутствие перспективы профессионального роста.

Опытный профессионал:

- несостоятельность последиplomного образования;

- несовершенство оплаты квалифицированного труда;

- низкий социальный статус профессии в обществе;

- факторы профессионального стресса, приводящие к СЭВ.

Уменьшающееся число желающих получить профессию медсестры, акушерки вынуждает медицинские учебные заведения отказаться от набора профессионально ориентированных абитуриентов, виной тому и демографический кризис, продолжающийся с 1991 г. Психологический отбор для обучения по специальностям «Сестринское дело», «Акушерское дело» не практиковался никогда. Из каждых семи поступивших в медицинское учебное заведение один бросает обучение. По нашим данным, каждый пятый выпускник не придет в ЛПУ, по данным других авторов, треть выпускников не приходят в лечебные учреждения или уходят в течение первого года работы [8].

Данное обстоятельство определило **цель** исследования: мотивы профессионального самоопределения, условия, характер и содержание труда медсестер и акушерок и различные аспекты эмоционального выгорания как возможные причины проблем в закреплении молодых специалистов на рабочем месте и способствующие оттоку квалифицированных кадров.

За период 2005–2006 гг. было анкетировано 368 студентов медицинского колледжа, училища и факультета высшего сестринского образования; практикующих медсестер и акушерок в количестве 186 человек, руководителей первичного звена – 51 человек; опрошено 284 специалиста по опроснику В. В. Бойко на наличие и выраженность синдрома эмоционального выгорания в различных группах специалистов.

Социологический опрос студентов дал следующие результаты (рис. 1).

На вопрос о причинах выбора профессии все три группы студентов на 1 месте позиционируют «гуманность» как ведущую и важнейшую характеристику выбранной профессии.

Стойкую профессиональную ориентацию имеют большинство студентов, между тем часть из них имеют низкую мотивацию к обучению по специальности. Хотели стать врачами 86% обучающихся в училище, из них 46% потерпели неудачу при поступлении в вуз и обучаются сейчас по специальности «Сестринское дело». Для большинства из них это первая ступень к достижению поставленной цели, это транзитные специалисты. Менее мотивированы к обучению студенты колледжа из-за ограниченного выбора учебных заведений в городе. Неориентированные студенты есть во всех группах, они учатся только потому, чтобы иметь хоть какую-нибудь специальность.

На вопрос: «Кем вы себя ощущаете?» – большинство студентов училища отметили в себе задатки лидеров и руководителей.

Студентам был задан вопрос о качествах, которыми, по их мнению, должна обладать медсестра. Приоритет всеми отдан профессионализму, внимательности и милосердию – определяющим качествам медицинского работника (рис. 2).

Достижение поставленных целей, профессиональный рост и самосовершенствование специалистов невозможны без таких качеств, как настойчивость, самокритичность и инициативность. Наиболее показательна целеустремленность студентов ФВСО, студенты училища менее мотивированы к обучению по специальности.

Из перечисленных трудностей в начале профессиональной деятельности каждый пятый назвал неуважительное отношение к себе и своей профессии, а среди практикующих сестер это одна из лидирующих проблем, у студентов училища она на II месте (рис. 3).

Это подтверждает низкий статус медицинских работников в нашем обществе и определяет низкую привлекательность уже выбранной специальности. Кроме того, складывается ощущение, что студенты ориентированы не на качественное и грамотное оказание медицинской помощи, а на мужественное преодоление трудностей практического здравоохранения.

Характеристика студентов базового уровня образования по результатам анонимного анкетирования (%):

- не готовы к самостоятельной деятельности – 52;
- испытывают неуверенность при самостоятельной деятельности – 29;
- считают необходимым увеличить количество часов практических занятий – 33;
- ввести дополнительные часы по психологии – 21;
- не придут на рабочие места по специальности – 21.

По данным одного из колледжей, из выпускников по целевому набору пришли на рабочие места в 2005 г. 40%; в 2006 г. – 53%; в 2007 г. – 13%.

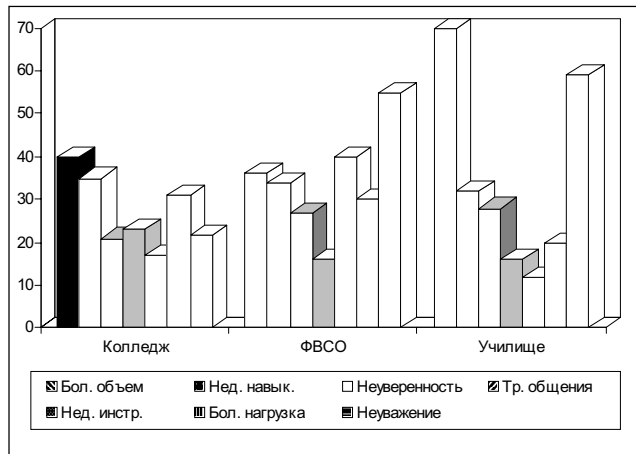


Рис. 3. Трудности в начале профессиональной деятельности

Кроме того, нами проведен опрос студентов и практикующих специалистов по опроснику В. В. Бойко с целью выявить наличие и выраженность у них признаков эмоционального выгорания (рис. 4).

Динамика развития синдрома эмоционального выгорания по В. В. Бойко [2, 3].

I фаза напряжения:

- 1) переживание психотравмирующих обстоятельств;
- 2) неудовлетворенность собой;
- 3) загнанность в клетку;
- 4) тревога и депрессия.

II фаза резистенции (сопротивления):

- 1) неадекватное избирательное эмоциональное реагирование;
- 2) эмоционально-нравственная дезориентация;
- 3) расширение сферы экономии эмоций;
- 4) редукция профессиональных обязанностей.

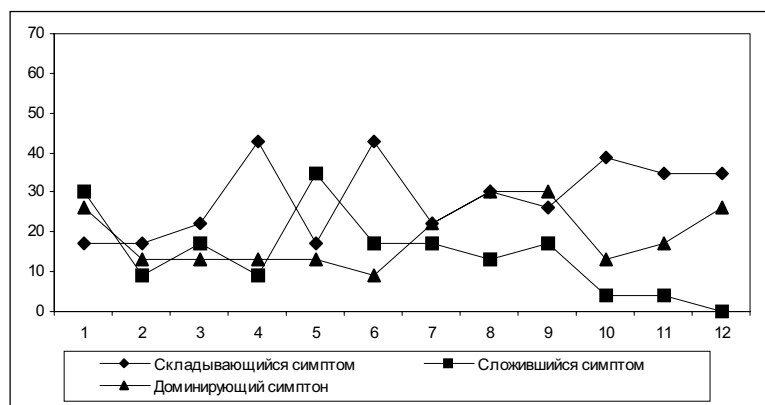


Рис. 4. Результаты анкетирования студентов по опроснику В. В. Бойко:

1 – переживание психотравмирующих обстоятельств; 2 – неудовлетворенность собой; 3 – загнанность в клетку; 4 – тревога и депрессия; 5 – неадекватное избирательное эмоциональное реагирование; 6 – эмоционально-нравственная дезориентация; 7 – расширение сферы экономии эмоций; 8 – редукция профессиональных обязанностей; 9 – эмоциональный дефицит; 10 – эмоциональная отстраненность; 11 – личностная отстраненность или деперсонализация; 12 – психосоматические и психовегетативные нарушения

III фаза истощения:

- 1) эмоциональный дефицит;
- 2) эмоциональная отстраненность;
- 3) личностная отстраненность;
- 4) психосоматические и психовегетативные нарушения.

Развитие СЭВ протекает в 3 фазы. Длительное воздействие факторов профессионального стресса способствует появлению ощущения неуверенности, отчаяния и безысходности, чувства тревоги и тупика, достигая апогея напряженности.

При невозможности повлиять или устранить психотравмирующие обстоятельства каждый человек пытается строить психологическую защиту. Это проявляется стремлением формализовать свою работу, уменьшить или исключить эмоциональную отдачу в общении с пациентами и сотрудниками. Окружающие и пациенты воспринимают это как черствость, неучтивость и равнодушие.

Название 3-й фазы говорит само за себя. Это фаза профессиональной и личностной деформации специалистов, вплоть до психосоматических и психовегетативных нарушений.

Анализируя данные, полученные по опроснику Бойко среди студентов медицинского колледжа, мы пришли к выводу, что выпускники испытывают в высшей степени психологический стресс в преддверии государственных экзаменов.

У студентов присутствуют выраженные симптомы эмоционального выгорания всех трех фаз, что, по существу, подтверждает низкие адаптивные способности студентов. Уже на данном этапе выявляются психологическая устойчивость, степень адаптивности и пригодность к предстоящей профессиональной деятельности. Поскольку сама профессиональная деятельность медицинских работников сопряжена с эмоциональным стрессом, проблема отбора абитуриентов с целью их дальнейшей профессиональной и психологической пригодности стоит достаточно остро [8]. Это определяется особыми требованиями, предъявляемыми к медицинским работникам со стороны как пациентов, так и общества в целом, а также обусловлено особенностями условий, среды и содержания труда медсестер и акушерок.

Еще не оправившихся от экзаменационного стресса множество проблем адаптационного периода на рабочем месте повергает молодых специалистов в шок [1]. Отсутствие практических и коммуникативных навыков, освоение в разновозрастном коллективе, несоответствие их возможностей требованиям производственной среды создают значительные трудности в период становления профессионала. Первичное обучение на рабочем месте чаще всего не организовано, происходит хаотично.

Первый год работы является определяющим в принятии решения о продолжении профессиональной деятельности или пересмотре своей профессиональной ориентации. Этот этап необходимо отметить как самый значимый по текучести кадров. Работники в период первичной адаптации испытывают стресс в связи с чрезмерными умственными, эмоциональными и физическими нагруз-

ками [1, 4, 5], недостаток знаний и отсутствие опыта формируют эмоциональное напряжение, а стереотипный на их взгляд характер работы запускает симптом личностной отстраненности. Частые стрессы производственной среды провоцируют неадекватное эмоциональное реагирование.

Анализ выраженности признаков выгорания среди работающих специалистов позволяет сделать следующие выводы. Психотравмирующие обстоятельства присутствуют у 44 % акушерок родблока, 34 % послеродовых отделений, 33 % м/с реанимации, анестезиологии и операционных сестер и у 22 % акушерок женских консультаций. Характерными признаками выгорания медсестер и акушерок являются неадекватное избирательное эмоциональное реагирование, эмоционально-нравственная дезориентация, расширение сферы экономии эмоций и редукция профессиональных обязанностей. Отмечается стремление специалистов выполнять свои обязанности в зависимости от настроения и субъективного предпочтения и формализовать свою работу. Признак тревоги и депрессии вынуждает принимать решение о смене места работы или профессии в целом, он преобладает у 26 % акушерок родблока, 14 % м/с реанимации и анестезиологии, 13 % женских консультаций и 12 % послеродовых отделений.

Необходимо отметить, что среди акушерок родблока и медсестер реанимации нет специалистов старше 50 лет, большинство из них, не доработав до пенсионного возраста, уходят в другие отрасли народного хозяйства.

Для всех групп характерно отсутствие таких симптомов, как «загнанность в клетку» и «неудовлетворенность собой». Данное обстоятельство рассматривается как тенденцию к самодостаточности и низкой самооценке, склонность к консерватизму, пессимистичности и подчиненности, отсутствие стремления к переменам. В то же время неуверенность, низкая самооценка, пессимистичность часто являются результатом психологического стресса на работе. И наиболее типичной психологической реакцией на стресс в профессиональной деятельности является неудовлетворенность работой [6].

В нашем исследовании не удовлетворены своей работой 33 % медсестер и акушерок (93), и именно эта группа специалистов подвержена динамическому развитию эмоционального выгорания.

Динамическому развитию СЭВ в нашем исследовании способствуют следующие факторы:

- неадекватное базовое образование и отсутствие практических навыков, что является главными трудностями на этапе первичной адаптации;
- коммуникативная некомпетентность;
- неотглаженная система последиplomного образования, отсутствие мотивации к самообразованию;
- неудовлетворенность работой – процессом, результатом труда, характером и условиями трудовой деятельности;
- частые стрессы;
- стереотипный характер работы;

– чрезмерные физические и эмоциональные нагрузки. Статистический анализ подтвердил тесную зависимость указанных факторов и формированием СЭВ.

Среди практикующих специалистов 40% имеют желание овладеть другой профессией, между тем 60% опрошенных отмечают, что данная профессия ими выбрана по призванию и 91% любят ее. Низкий престиж специальностей в обществе, неадекватная система оплаты труда, значительные физические и эмоциональные нагрузки и множество профессиональных вредностей оказывают существенное негативное влияние на сохранность опытных кадров в здравоохранении [8, 9] (рис. 5).

Частые стрессовые ситуации в профессиональной деятельности провоцируют динамическое развитие синдрома эмоционального выгорания (фаза напряжения $M=39,2\pm 19$, $P=0$; фаза сопротивления $M=56,1\pm 22,2$, $P=0$; психосоматические нарушения $M=11,0\pm 6,3$, $P=0,0001$).

Стереотипность работы, на который указывают 47 специалистов, влечет неудовлетворенность собой, чувство безысходности, способствует формированию симптомов эмоционального выгорания, вплоть до профессиональной деформации ($P=0,0045$) и нарушения здоровья специалистов ($M=10,0\pm 8,6$).

Акушерки послеродовых и родильных отделений считают, что их работа связана с чрезмерными физическими нагрузками, данные подтверждают их связь с умственным и эмоциональным напряжением (R = от 0,317 до 0,569).

Постоянные физические нагрузки считают фактором профессиональной вредности акушерки родильных отделений и медсестры отделений реанимации, анестезиологии, интенсивной терапии и операционные медсестры.

Одним из значимых профессиональных факторов, угрожающих здоровью, был назван риск заражения инфекционными заболеваниями (СПИД, гепатиты, сифилис) – 77%, на втором месте – воздействие химических агентов – 63% (дезинфицирующие и лекарственные средства), третьим по значимости был назван стресс, эмоциональные нагрузки (54%), и 28% указали на чрезмерные физические нагрузки.

Сотрудники службы родовспоможения – это в большинстве своем представительницами женского пола. Медсестры и акушерки сами являются частью репродуктивного фонда страны, забота о здоровье, безопасных условиях труда и социальной защищенности специалистов медсестринского и акушерского дела также должна стать одной из важнейших задач государства.

ВЫВОДЫ

Отсутствие практики профессионального и психологического отбора, несовершенство базовой подготовки способствуют оттоку кадров.

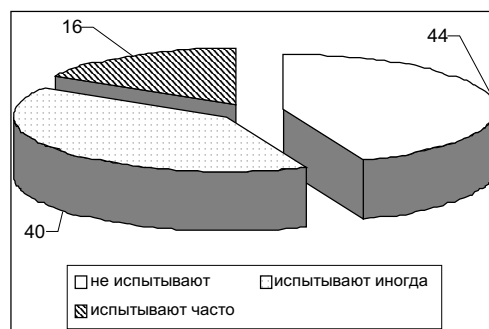


Рис. 5. Стрессы рабочей среды (%)

Проблемы адаптации в период профессионального становления не способствуют закреплению молодых специалистов службе родовспоможения.

Характер, условия и содержание труда медсестер и акушерок содержат множество факторов профессионального стресса, способствующего развитию синдрома эмоционального выгорания, что в значительной мере сокращает период эффективной трудовой деятельности и способствует уходу из профессии опытных кадров.

Низкий социальный статус профессии медсестры и акушерки, неадекватная оплата квалифицированного и качественного труда, отсутствие мотивации к профессиональному совершенствованию и самообразованию ведут к потерям профессионально ориентированных кадров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белогурова, В. А. Личность обучающегося и его взаимодействие с преподавателем / В. А. Белогурова // Главная мед. сестра. – 2006. – № 3. – С. 57–69.
2. Бойко, В. В. Синдром «эмоционального выгорания» в профессиональном общении / В. В. Бойко. – СПб., 1999. – С. 29.
3. Бойко, В. В. Энергия эмоций / В. В. Бойко. – 2-е изд. – М., 2004. – С. 473.
4. Величковский, Б. Т. Социальный стресс, трудовая мотивация и здоровье / Б. Т. Величковский // Российский мед. журн. – 2006. – № 6. – С. 8–14.
5. Дроздова, Г. Ю. Проблемы мотивации трудовой деятельности медицинских сестер / Г. Ю. Дроздова // Главная мед. сестра. – 2007. – С. 54–62.
6. Мучински, П. Психология, профессия, карьера / П. Мучински. – СПб., 2004. – 534 с.
7. Хетагурова, А. К. Социально-демографические и психологические факторы, влияющие на уход из профессии медицинских сестер на современном этапе / А. К. Хетагурова, Н. А. Касимовская // Сестринское дело. – 2006. – №7. – С. 4–7.
8. Храмова, Л. Г. Анализ факторов, влияющих на процесс адаптации молодых специалистов сестринского дела в лечебно-профилактических учреждениях / Л. Г. Храмова // Главная мед. сестра. – 2007. – С. 92–100.
9. Щербатых, Ю. Психология стресса / Ю. Щербатых. – М., 2006. – 301 с.

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 616.13-004.6:616-002]-08.322

**М. Л. Поспелова, О. Д. Барнаулов,
И. Г. Крупоткина, М. И. Кадинская**

ВЛИЯНИЕ ФИТОТЕРАПИИ НА СОСТОЯНИЕ МАРКЕРОВ ВОСПАЛЕНИЯ ПРИ АТЕРО- СКЛЕРОЗЕ БРАХЕОЦЕФАЛЬ- НЫХ АРТЕРИЙ

Городской консультативно-диагностический центр № 1, Институт мозга человека РАН, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время доказано, что атеросклероз может рассматриваться как гиперреактивное заживление поврежденной сосудистой стенки [9]. Во многих случаях при атеросклерозе повышается концентрация ряда биологически активных веществ, принимающих участие в становлении клеточных реакций. Такие эндогенные факторы получили в литературе название маркеров воспаления при атеросклерозе. К ним относят С-реактивный белок (СРБ), фактор фон Виллибранда (ФВ), Д-димер, фибриноген и некоторые другие. СРБ является плюрипотентным медиатором воспаления, присутствие которого можно обнаружить как в месте начального повреждения сосудистой стенки, так и в уже сформировавшейся атеросклеротической бляшке [13, 14]. Он активно участвует на ранних стадиях атерогенеза, способствуя развитию эндотелиальной дисфункции, связывая воспаление, коагуляцию и тромбоз, и является доказанным плазменным маркером при атеросклерозе и предиктором ИБС [2, 4]. Определение концентрации СРБ является интегральным тестом физиологической «чистоты внутренней среды» (внутрисосудистого и межклеточного пулов) [1]. В настоящее время доказана связь между приростом числа и количества атеросклеротических бляшек в каротидных артериях за 1 год и концентрацией СРБ. Также отмечена связь между повышенным уровнем СРБ и толщиной индекса интима-медиа брахиоцефальных артерий у женщин в Framingham Heart Study [12].

Концентрация фибриногена в плазме возрастает во многих ситуациях – при высоких значениях ЛПНП и триглицеридов, гипертонии, сахарном диабете, курении и др. Неблагоприятное влияние обнаружения в высоких концентрациях фибриногена в плазме больных ИБС на прогноз жизни установлено давно. В исследовании FRISC было показано независимое прогностическое значение повышенного уровня как фибриногена, так и СРБ у больных нестабильной стенокардией. У больных ИБС отмечалось существенное повышение уровня СРБ, фибриногена по сравнению с лицами без ИБС [10].

В исследованиях Caerphilly Study и Speedwell Study риск развития ИБС достоверно возрастал при повышении концентрации СРБ и Д-димера. Имеются свидетельства о синергизме этих маркеров при определении прогноза возникновения и неблагоприятного исхода сосудистого заболевания [6].

Присоединение к клинике коронарного атеросклероза клиники поражения периферических артерий, аневризмы аорты [11] вызывает достоверное повышение уровня СРБ, фибриногена и фактора Виллибранда. Во франко-ирландском исследовании (PRIME) при однофакторном анализе риск смерти ассоциировался, наряду с липидными показателями, с повышением СРБ, интерлейкина-6 и фибриногена [7]. В том же исследовании было показано, что повышение концентрации фактора Виллибранда свыше 1,59 ед./л повышает риск ИБС при 5-летнем наблюдении в 6,9 раза, что коррелировало с повышением СРБ у этих пациентов в 2 раза в сравнении с группой контроля [8].

Таким образом, результаты популяционных исследований свидетельствуют о повышении риска развития сердечно-сосудистых событий в среднем в 2 раза у больных с высокими значениями маркеров воспаления при атеросклерозе (СРБ, ФВ, фибриноген, Д-димер) по сравнению с больными, имеющими низкие значения маркеров. Поэтому **целью** настоящей работы явилось изучение влияния фитотерапии поликомпонентными индивидуально подобранными сборами на концентрации С-реактивного белка, концентрацию фибриногена, Д-димера, активность фактора Виллибранда в плазме крови у пациентов с тромбоокклюзирующим поражением брахиоцефальных артерий.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено в группе из 30 пациентов (20 женщин, 10 мужчин, средний возраст – 66,7 года) с верифицированным атеросклеротическим поражением брахиоцефальных артерий. В каротидном бассейне: окклюзия внутренней сонной артерии (ВСА) – 3, стенозы ВСА более 75% – 7, стенозы ВСА менее 75% – 20, двухстороннее поражение – 15 больных. В вертебрально-базиллярном бассейне: окклюзия подключичной артерии (ПКА) – 2, позвоночной артерии (ПА) – 1; стеноз ПКА – 2, стеноз ПА – 4; сочетанное поражение обоих сосудистых бассейнов – у 7 человек. В анамнезе у 15 больных ОНМК или ТИА, из них у 12 – в бассейне стенозированного сосуда. 25 пациентов страдали гипертонической болезнью, ишемическая болезнь сердца диагностирована у 23 человек (из них 4 перенесли острый инфаркт миокарда и 1 пациент был прооперирован – АКШ). Облитерирующий атеросклероз артерий нижних конечностей был выявлен у 5 больных, сахарный диабет 2 типа – у 9 пациентов. Медикаментозная терапия включала в себя постоянный прием антиагрегантных препаратов (аспирин, курантил, их сочетание или клопидогрель) и липидснижающих препаратов из группы статинов.

Пациенты были разделены на 2 группы: 1 группа – пациенты дополнительно к постоянной медикаментозной

терапии (антиагрегантные препараты и статины) получали фитотерапию поликомпонентным индивидуально подобранным сбором (в дальнейшем – «+фитотерапия»), 2 группа – продолжали предыдущее медикаментозное лечение (в дальнейшем – «контроль»). Биохимическое исследование включало в себя определение уровня С-реактивного белка ультрачувствительным методом на автоанализаторе «Modular P», фирмы *Roshe*; содержание фибриногена, Д-димера и ФВ на автокоагулометре «Stago compact» фирмы *Roshe*. Повторное биохимическое исследование проводилось через 2,5–3 месяца.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При первичном исследовании уровня СРБ его концентрация превышала 3,0 мг/л, что, по мнению экспертов [5], свидетельствует о повышении риска сосудистой патологии в обеих группах, несмотря на прием статинов, на фоне которого фиксируется факт снижения уровня СРБ [3]. После проведенного фитотерапевтического лечения уровень СРБ снизился, приблизился к нормальным значениям и достоверно стал ниже через 2,5–3 месяца, чем в группе контроля медикаментозного лечения (таблица).

До начала исследования уровень фибриногена незначительно превышал верхнюю границу нормы (в группе контроля) и составлял 4,1 г/л, в группе «+фитотерапия» – 3,76 г/л. При повторном исследовании концентрация фибриногена не претерпевала достоверных изменений (таблица).

Активность фактора Виллибранда при первом измерении превышала допустимые границы в группе контроля и не менялась через 2,5–3 месяца. В группе «+фитотерапия» исходно показатели не выходили за границы нормальных значений, а после курса фитотерапии активность ФВ достоверно (по критерию U) снижалась на 13,8% (таблица).

В начале исследования концентрация Д-димера незначительно превышала нормальные показатели только в группе контроля (0,53 мкг/мл), а также у этих больных отмечена тенденция к увеличению уровня Д-димера при повторном исследовании через 2,5–3 месяца (таблица). У больных после курса фитотерапии уровень Д-димера не изменялся, но был достоверно ниже, чем в группе контроля.

ВЫВОДЫ

1. У пациентов с выраженным атеросклеротическим поражением брахецефальных артерий, несмотря на проводимую терапию статинами, отмечено повышение уровня С-реактивного белка, концентрации фибриногена как маркеров активного атеросклеротического процесса.

2. Содержание фактора Виллибранда и Д-димера не превышало нормальных значений, что, возможно, является показателем эффективности антиагрегантной терапии.

Изменение показателей маркеров воспаления при атеросклерозе брахецефальных артерий (M±m)

| Показатель | Медикаментозная терапия "фитотерапия" (n=15) | | Медикаментозная терапия (n=15) | | Нормальные показатели |
|--------------------------|--|------------------|--------------------------------|------------------|-----------------------|
| | до (группа 1) | после (группа 2) | до (группа 3) | после (группа 4) | |
| С-реактивный белок, мг/л | 3,92±1,06 | 2,92±0,59 * | 3,78±1,19 | 5,26±1,02 | До 3 |
| Фибриноген, г/л | 3,76±0,26 | 3,66±0,20 | 4,1±0,33 | 4,03±0,23 | 2,0 4,0 |
| Фактор Виллибранда, % | 144,72±8,82 | 124,84±9,23^ | 162,26±10,29 | 169,13±13,80 | До 160 |
| Д-димер, мг/мл | 0,40±0,04 | 0,41±0,06 * | 0,53±0,08 | 0,73±0,15 | До 0,50 |

* различия после лечения между группами 2 и 4 достоверны по критерию t при 0,05; ^ различия до и после лечения (между группами 1 и 2) достоверны по критерию U при p<0,05.

3. При присоединении к стандартной медикаментозной терапии фитотерапии отмечено достоверное снижение уровней С-реактивного белка, Д-димера и активности фактора Виллибранда после лечения по сравнению с группой без фитотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Титов, В. Н.* Атеросклероз. Роль эндогенного воспаления, белков острой фазы и жирных кислот / В. Н. Титов, С. Г. Осипов. – М.: Фонд «Клиника 21 века», 2003. – С. 156–173.
2. *Fafe, A. I.* Associations between serum amyloid A and coronary artery disease. Evidence from two distinct arteriosclerotic processes / A. I. Fafe [et al] // *Circulation*. – 1997. – Vol. 96. – № 9. – P. 2914–2919.
3. *Jialal, I.* Effect of hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy on high sensitive C-reactive protein levels / I. Jialal [et al] // *Circulation*. – 2001. – Vol. 103. – № 15. – P. 1933–1935.
4. *Johnson, B. D.* Serum amyloid A as a predictor of coronary artery disease and cardiovascular disease in women / B. D. Johnson [et al] // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109. – № 6. – P. 726–732.
5. *Kluft, C.* Identifying patients at risk of coronary vascular disease: the potential role of inflammatory markers / C. Kluft // *Eur. Heart J.* – 2004. – Suppl. C. – P. 21–27.
6. *Lowe, G. D. O.* C-reactive protein, fibrin d-dimer, and risk of ischemic heart disease. The Caerphilly and Speedwell studies / G. D. O. Lowe [et al] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2004. – Vol. 24. – № 10. – P. 1957–1962.
7. *Luc, G.* C-reactive protein, Interleukin-6, and fibrinogen as predictors of coronary heart disease. The PRIME study / G. Luc [et al] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2003. – Vol. 23. – № 7. – P. 1255–1261.
8. *Morange, P. E.* Endothelial cell markers and the risk of coronary heart disease. The prospective epidemiological study of myocardial infarction: the PRIME study / P. E. Morange [et al] // *Circulation*. – 2004. – Vol. 109. – № 11. – P. 1343.
9. *Ross, R.* Atherosclerosis: an inflammatory disease / R. Ross // *N. Engl. J. Med.* – 1999. – Vol. 340. – № 2. – P. 115–126.
10. *Toss, H.* Prognostic influence of increased fibrinogen and C-reactive protein levels in unstable coronary heart disease / H. Toss, B. Lindall, W. L. Siegbahn // *Circulation*. – 1997. – Vol. 96. – № 12. – P. 4204–4210.
11. *Van der Bogaty, P.* Biological profiles in subjects with recurrent acute coronary events compared with subjects with long-standing stable angina / P. Van der Bogaty [et al] // *Circulation*. – 2001. – Vol. 103. – № 25. – P. 3062–3968.
12. *Wang, Th.* Association of C-reactive protein with carotid atherosclerosis in men and women. The framingham heart study / Th. Wang [et al] // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* – 2002. – Vol. 22. – № 10. – P. 1662–1667.
13. *Zhang, Y. X.* Coronary C-reactive protein distribution: its relation to development of atherosclerosis / Y. X. Zhang [et al] // *Atherosclerosis*. – 1999. – Vol. 145. – № 2. – P. 375–379.

14. Zwaka, T. P. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophages : implications for atherosclerosis / T. P. Zwaka, V. T. Hombach, J. R. Torzevski // *Circulation*. – 2001. – Vol. 103. – № 13. – P. 1194–1197.

РЕЗЮМЕ

М. Л. Поспелова, О. Д. Барнаулов, И. Г. Крупоткина, М. И. Кадинская

Влияние фитотерапии на состояние маркеров воспаления при атеросклерозе брахиоцефальных артерий

У 30 пациентов с выраженным атеросклеротическим поражением брахиоцефальных артерий, несмотря на проводимую терапию статинами, отмечено повышение уровня С-реактивного белка, фибриногена как маркеров активного атеросклеротического процесса. Содержание фактора фон Виллибранда и Д-димера не выходило за рамки нормальных значений, что, возможно, является показателем эффективности антиагрегантной терапии. При соединении к стандартной медикаментозной терапии поликомпонентной фитотерапии отмечено достоверное снижение показателей С-реактивного белка, фактора фон Виллибранда и Д-димера после лечения в сравнении с группой без фитотерапии.

Ключевые слова: атеросклероз, брахиоцефальные артерии, фитотерапия, маркеры воспаления.

SUMMARY

M. L. Pospelova, O. D. Barnaulov, I. G. Krupotkina, M. I. Kadinskaya

Phytotherapy influence on inflammatory markers in patients with brachiocephalic arteries atherosclerosis

Increased levels of C-reactive protein and fibrinogen as inflammatory markers of acute atherosclerosis process were manifested in 30 patients with brachiocephalic arteries atherosclerosis under hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor therapy. D-dimer and von Willebrand factor concentrations were within normal limits supposedly due to antiaggregant therapy efficiency. Inclusion of polycomponent phytotherapy into the course of standard medication therapy (hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitor and antiaggregant therapy) resulted in significant decrease of C-reactive protein, D-dimer and von Willebrand factor levels versus the group of patients on the standard medication therapy alone.

Key words: atherosclerosis, brachiocephalic arteries, phytotherapy, inflammatory markers.

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 616.25-002-07:577.15

Л. В. Бурухина, А. Е. Ширинкина,
А. А. Шурыгин, М. С. Ждакаев

РОЛЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЭФФИЦИЕНТА АДЕНОЗИНДЕЗАМИНАЗЫ В ЭТИОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКЕ ПЛЕВРИТОВ

Пермская государственная медицинская академия имени академика Е. А. Вагнера, краевой противотуберкулезный клинический диспансер № 1 «Фтизиопульмонология», г. Пермь

Плеврит является одним из наиболее частых заболеваний грудной полости. В последнее десятилетие наблюдается увеличение частоты плевритов, в том числе туберкулезной этиологии. Отсутствие точных диагностических критериев, сходство клинической симптоматики создает трудности в диагностике этого заболевания. В качестве одного из возможных маркеров плеврального выпота туберкулезной этиологии может служить высокая активность фермента аденозиндезаминазы (АДА) [2, 4, 5].

Фермент АДА локализован в цитоплазме клеток всех тканей млекопитающих и состоит из нескольких изоформ, наиболее важными из которых являются АДА1 (источником являются клетки разных органов и тканей, в основном лимфоциты и моноциты) и АДА2 (только моноциты и макрофаги) [2].

По данным литературы, уже в 1970-х гг. было начато использование определения АДА в плевральной жидкости для уточнения этиологии экссудативного плеврита.

Имеются данные о специфичности порогового значения АДА в экссудате для каждой популяции [2] (табл. 1).

По данным ряда авторов, определение АДА в плевральном экссудате позволяет установить туберкулезный характер в 93–100% случаев [1–4]. Однако при плевритах не всегда возможно проведение плевральной пункции. Этому препятствуют небольшое количество экссудата, выраженность плевральных наслоений и сепарация плевральной полости. Нами сделано предположение, что уровень АДА можно исследовать в бронхоальвеолярной жидкости (БАЛЖ) и он может носить диагностический характер.

Цель исследования: изучить информативность определения аденозиндезаминазы в бронхоальвеолярной лаважной жидкости для диагностики этиологии экссудативного плеврита.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для подтверждения нашей теории обследованы 15 мужчин и 36 женщин. Средний возраст – 37,74±2,17 года (33,97±2,07 – больных туберкулезным плевритом и 49,8±4,6 – больных неспецифическим плевритом). Полученные данные подтверждают более частую встречаемость туберкулезного экссудативного плеврита у лиц молодого возраста.

I группу составили 18 человек с изолированным туберкулезным экссудативным плевритом, II – 13 больных туберкулезом, осложненным туберкулезным плевритом (из них у 8 (61,5%) – очаговый, у 5 (38,5%) – инфильтративный), III – 10 больных неспецифическим экссудативным плевритом.

Исследование проводилось с помощью фибробронхоскопа «Olympus BF-40» предприятия «Техника» (Москва). При фибробронхоскопии по методике В. П. Филиппа.

Таблица 1

Уровень аденозиндезаминазы в экссудате в разных популяциях (ед./л)

| Страна | Активность АДА в контрольной группе | Активность АДА при туберкулезном плеврите | Пороговое значение АДА |
|--------------------|-------------------------------------|---|------------------------|
| Мексика | 30,36 | 123,25 | 70 |
| ЮАР | 29 | 102 | 50 |
| Испания | 19,8 | 111,1 | 47 |
| Россия | 15,7 | 59,8 | 35 |
| Республика Армения | 8,4 | 44,6 | 20 |

пова (1988) оценивалось состояние слизистой оболочки и проходимость трахеи и бронхов, характер секреции, наличие изменений в области бифуркации и шпор. Проводился забор бронхоальвеолярной жидкости по методике ЦНИИ туберкулеза (1993): определяли цитоз, жизнеспособность альвеолярных макрофагов (ЖАМ), эндотельную цитогранулу БАЛЖ. Дополнительно проводилось определение аденозиндезаминазы (АДА) (по методу Giusti) в БАЛЖ [3].

Принцип метода определения АДА. Под действием АДА аденозин превращается в инозин с освобождением аммиака, который определяется с помощью модифицированной реакции Berthelot, сущность которой заключается в том, что аммиак образует со щелочным раствором гипохлорита натрия и фенолом голубой индофенол, интенсивность окраски которого регистрируется спектрофотометрически. Концентрация индофенола полностью пропорциональна концентрации аммиака и отражает активность АДА. Фенол-нитропруссид, добавляемый в конце инкубационного периода, одновременно останавливает ферментативную реакцию. Нитропруссид натрия действует как катализатор цветной реакции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Изменения трахеобронхиального дерева были выявлены у 23 (74,2 %) больных туберкулезом и у 8 (80,0 %) неспецифическим плевритом. Ведущей формой поражения трахеобронхиального дерева у больных туберкулезным экссудативным плевритом у 20 человек (64,5 %) являлся катаральный эндобронхит (табл. 2).

Проведенные исследования позволили сделать вывод о том, что уровень АДА в бронхоальвеолярном лаваже практически не зависит от этиологии процесса в легких и плевре. Изучение характера изменений трахеобронхиального дерева и определение АДА в БАЛЖ у больных экссудативным плевритом не выявили специфичности этого метода. Так, активность АДА у больных I группы составила $2,18 \pm 0,73$ ед./л, у больных II группы – $2,41 \pm 0,80$ ед./л, при неспецифическом плеврите – $2,47 \pm 1,52$ ед./л (табл. 3).

Таким образом, оценка АДА в бронхоальвеолярной жидкости изолированно от других показателей в плане дифференциальной диагностики этиологии плеврита неинформативна.

Поскольку, по данным литературы [2], источником общей активности АДА являются моноциты-макрофаги (типич-

ные для экссудата туберкулезной этиологии), а также лимфоциты и нейтрофилы, мы предположили, что чрезмерно высокая ферментация сывороточной АДА связана с интенсивным разрушением этих клеток. Следовательно, высокий цитоз может создавать ложно высокий уровень АДА в БАЛЖ, что затрудняет дифференциальную диагностику. В процессе исследования корреляционной взаимосвязи между цитозом и уровнем АДА (табл. 3) выяснилось, что при росте цитоза у больных плевритом увеличивается уровень АДА в лаважной жидкости. Поэтому мы ввели коэффициент АДА ($K_{АДА}$), который рассчитывается по формуле

$$K_{АДА} = \text{АДА} / \text{цитоз}$$

В целом $K_{АДА}$ у больных туберкулезным плевритом составил $0,65 \pm 0,17$ (при изолированном туберкулезном экссудативном плеврите – $0,52 \pm 0,13$; при туберкулезном экссудативном плеврите, осложнившим туберкулез легких, – $0,84 \pm 0,36$ ($p < 0,05$)), при неспецифическом экссудативном плеврите – $0,20 \pm 0,06$ ($p < 0,05$). Специфичность теста составила 100 %, эффективность – 78 %.

ВЫВОДЫ

Коэффициент аденозиндезаминазы в бронхоальвеолярной жидкости, равный 0,52 и выше, подтверждает ту-

Таблица 2

Характер изменений трахеобронхиального дерева у больных экссудативным плевритом

| Эндоскопический диагноз | I группа, n=18 | | II группа, n=13 | | Всего при туберкулезе, n=31 | | Неспецифический плеврит, n=10 | |
|----------------------------------|----------------|------|-----------------|------|-----------------------------|------|-------------------------------|------|
| | абс. | % | абс. | % | абс. | % | абс. | % |
| Нет изменений ТБД | 6 | 33,3 | 2 | 15,4 | 8 | 25,8 | 2 | 20,0 |
| Катаральный эндобронхит | 11 | 61,1 | 9 | 69,2 | 20 | 64,5 | 0 | 0,0 |
| Диффузный эндобронхит I степени | 1 | 5,6 | 2 | 15,4 | 3 | 9,7 | 2 | 20,0 |
| Диффузный эндобронхит II степени | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 3 | 30,0 |
| Атрофический бронхит | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 2 | 20,0 |
| Рак бронха | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 0 | 0,0 | 1 | 10,0 |

Таблица 3

Показатели цитоза, уровня активности АДА и $K_{АДА}$ у больных плевритом различной этиологии в бронхоальвеолярной жидкости

| Показатель | I группа, n=18 | II группа, n=13 | Всего при туберкулезе, n=31 | III группа, n=10 |
|------------|-------------------|-------------------|-----------------------------|-------------------------|
| Цитоз | $5,20 \pm 0,79^4$ | $5,66 \pm 1,19$ | $5,39 \pm 0,67$ | $22,76 \pm 13,63^5$ |
| АДА | $2,18 \pm 0,73^4$ | $2,41 \pm 0,80$ | $2,20 \pm 0,52$ | $2,47 \pm 1,52^5$ |
| $K_{АДА}$ | $0,52 \pm 0,13^2$ | $0,84 \pm 0,36^3$ | $0,65 \pm 0,17^1$ | $0,20 \pm 0,06^{1,2,3}$ |

^{1, 2, 3} $p < 0,05$; ⁴ $r = 0,423$; $p = 0,01$; ⁵ $r = 0,655$; $p = 0,172$.

беркулезную этиологию при изолированных экссудативных плевритах и позволяет проводить дифференциальную диагностику между специфическим и неспецифическим плевритом с наличием или отсутствием изменений в легких.

ЛИТЕРАТУРА

1. Титаренко, О. Т. Дифференциально-диагностические возможности определения аденозиндезаминазы в плевральном выпоте / О. Т. Титаренко [и др.] // Клиническая медицина. – 1995. – № 1. – С. 41–42.
2. Титаренко, О. Т. Информативность аденозиндезаминазы и 2-дезоксаденозиндезаминазы в диагностике туберкулезных плевритов / О. Т. Титаренко [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2002. – № 5. – С. 11–14.
3. Титаренко, О. Т. Критерии диагностики туберкулеза с использованием аденозиндезаминазы : метод. реком. / О. Т. Титаренко [и др.]. – СПб., 2000. – 14 с.
4. Чучалин, А. Г. Актуальные вопросы диагноза в пульмонологии / А. Г. Чучалин // Пульмонология. – 2001. – № 1. – С. 6–11.
5. Chittiprol, S. Plasma adenosine deaminase activity among HIV1 Clade C seropositives : relation to CD4 T cell population and antiretroviral therapy / S. Chittiprol [et al] // Clin. Chim. Acta. – 2007. – Vol. 377. – № 1–2. – P. 133–137.

РЕЗЮМЕ

Л. В. Бурухина, А. Е. Ширинкина, А. А. Шурьгин, М. С. Ждакаев

Роль определения коэффициента аденозиндезаминазы в этиологической диагностике плевритов

Для выяснения значимости определения аденозиндезаминазы (АДА) в бронхоальвеолярной жидкости (БАЛЖ) для уточнения этиологии экссудативного плеврита у больных с резорбированным экссудатом нами обследованы 15 мужчин и 36 женщин. Ведущей формой поражения трахеобронхиального дерева у больных туберкулезным экссудативным плевритом являлся ка-

таральный эндобронхит у 20 (64,5 %) человек. Оценка АДА в БАЛЖ изолированно от других показателей в плане дифференциальной диагностики этиологии плеврита неинформативна. Предложенный коэффициент аденозиндезаминазы ($K_{\text{АДА}} = \text{АДА} / \text{цитоз}$), равный 0,52 и выше, подтверждает туберкулезную этиологию при изолированных плевритах и позволяет проводить дифференциальную диагностику между специфическим и неспецифическим плевритом с наличием или отсутствием изменений в легких.

Ключевые слова: туберкулезный плеврит, диагностика, аденозиндезаминаза.

SUMMARY

L. V. Burukhina, A. Y. Shirinkina, A. A. Shurygin, M. S. Gdakaev

The role of adenosine deaminase coefficient in etiologic diagnosis of pleurisy

To assess the significance of adenosine deaminase (ADA) in bronchoalveolar fluid (BAF) for specifying the etiology of exudative pleurisy 51 patients (15 males and 36 females) with exudate have been studied. The mean age of the patients with tuberculous pleurisy was 37.74 ± 2.17 and 49.8 ± 4.6 in the patients with nonspecific pleurisy. Group I included 18 patients with isolated tuberculous exudative pleurisy, Group II – 13 patients with tuberculosis complicated with tuberculous pleurisy, Group III – 10 patients with non-specific exudative pleurisy. Catarrhal endobronchitis proved to be the prevailing form of the impairment of the tracheobronchial tree in the tuberculous exudative pleurisy patients – 20 cases (64.5 %). The activity of ADA in BAF in Group I patients was 2.18 ± 0.73 u/l, in Group II – 2.41 ± 0.80 u/l, in Group III – 2.47 ± 1.52 u/l. Thus, the assessment only of ADA in BAF is not informative for differential diagnosis of etiology of pleurisy. The statistic analysis helped us to establish the ADA coefficient (C/ADA) which is calculated as $C/ADA = ADA/\text{cytosis}$. $C/ADA \geq 0.52$ confirms the tuberculous etiology in cases of isolated pleurisy and helps carry out differential diagnosis between specific and non-specific pleurisy with or without changes in the lungs. The test specificity amounts to 100 % with 78 % efficiency.

Key words: tuberculous pleurisy, diagnosis, adenosine deaminase.

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 612.014.44:547.231

Л. А. Александрова,
И. В. Александров, Г. В. Папаян,
А. А. Жлоба, Н. Н. Петрищев,

ВЛИЯНИЕ СВЕТА ОПТИЧЕСКОГО ДИАПАЗОНА НА ДЕКОМПОЗИЦИЮ S-НИТРОЗОГЛЮТАТИОНА

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова

Интерес к обширной группе веществ, содержащих атом серы, соединенный с оксидом азота, и получивших название S-нитрозотиолы (RSNO), возник во второй по-

ловине XX в. в связи с открытием важной и разнообразной роли оксида азота в организме млекопитающих [3]. В начале 1990-х гг. S-нитрозотиолы большинством исследователей рассматривались в качестве маркеров нарушения метаболизма NO, однако в последнее время больше внимания уделяется физиологическому аспекту. Нитрозотиолы – наиболее устойчивые продукты окисления NO, время жизни которых составляет десятки минут и даже часы, в отличие от самого оксида азота, время жизни которого в организме человека не превышает 5 секунд. Это преимущество RSNO определяет их основную функцию депонирования и транспорта NO в организме млекопитающих и человека, чему получены многочисленные доказательства [8]. Исследования последних лет [3, 5] выявили некоторые факторы, влияющие на синтез и распад (декомпозицию) RSNO *in vitro* и *in vivo* на уровне клетки, отдельных органов и целого организма, однако полная картина их метаболизма еще не ясна. Одним из факторов, активирующих декомпозицию RSNO, является свет [12].

Распад RSNO с высвобождением NO происходит под влиянием УФ-света дальнего диапазона (330–350 нм) и видимой области спектра (525–550 нм). С декомпозицией RSNO связывают эффект вазодилатации при облучении лазерным излучением низкоэнергетической интенсивности [10]. Несмотря на то, что известны многие реакции, протекающие при действии света на S-нитрозотиолы [2], молекулярный механизм фотораспада нитрозотиолов окончательно не установлен. Основная масса исследований проведена с использованием лазерного флеш-фотолиза в субсекундном временном диапазоне [7, 10]. Целью настоящей работы было изучение фотораспада S-нитрозоглютамина (GSNO) *in vitro* в 5-минутном интервале времени в аэробной и анаэробной среде.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В экспериментах использовали синтезированный нами GSNO по методу [4] 1 мМ раствор с добавлением 10 мМ ЭДТА, pH 7. Облучение проводили в стандартных условиях температуры, кислотности среды и освещения. В качестве источника света использовали ртутно-кварцевую лампу типа ПРК-4, спектр которой представлен на рис. 1, а. Для выделения излучения в УФ-области и видимой области спектра использовали сменные светофильтры ОС-11 и УФС-6. Для расчета дозы облучения освещенность облучаемого объекта измеряли с помощью радиометра 12А (Ophir Optronics Inc., Israel). Облучение предварительно аэрированных или деаэрированных с помощью азота растворов GSNO проводили в кварцевой чашке. Спектры поглощения в диапазоне 300–700 нм регистрировали с помощью спектрофотометра СФ-2000. Для анализа спектральных кривых выделяли область максимального поглощения GSNO (300–350 нм) и скорость реакции определяли по относительной крутизне спектральной кривой (%) в единицу времени. Порядок реакции определяли графическим методом по [1], анализируя график зависимости логарифма концентрации GSNO от времени реакции. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы статистического анализа с применением критерия Уилкоксона–Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как видно из рис. 1, б, водный раствор GSNO имел сильное поглощение в УФ-области 330–350 нм и существенно более слабое в видимом диапазоне 550–600 нм, согласно литературным данным, обусловленное переходами $N_0 \rightarrow \pi^*$ и $N_N \rightarrow \pi^*$ соответственно [12]. Непрерывный поток излучения ртутной лампы, проходивший через исследованный раствор, вызывал фотохимическую реакцию распада GSNO, при этом характер зависимости концентрации GSNO от времени (рис. 2, а) соответствовал линейной функции $\text{tg}\beta = \Delta \ln[\text{GSNO}]/t$ k, что позволило считать фотораспад GSNO реакцией первого порядка, что соответствует данным литературы [6]. Как показали исследования, скорость фотораспада GSNO зависела от наличия кислорода в системе. При сравнении скорости фо-

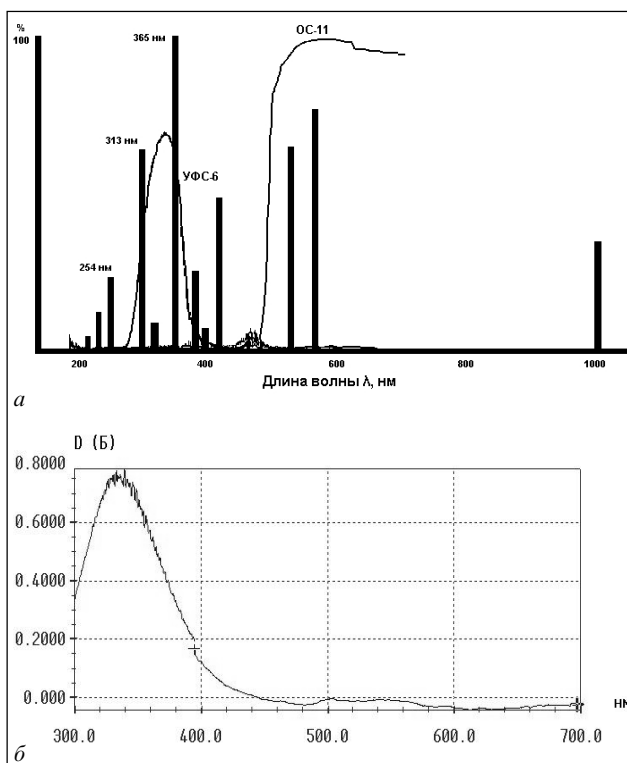


Рис. 1. Спектр излучения ртутно-кварцевой лампы ПРК-4 и спектры пропускания светофильтров УФС-6 и ОС-11 (а); спектр поглощения GSNO (б)

тораспада в аэробных и анаэробных условиях (рис. 2, б) установлено, что в деаэрированной среде скорость была снижена на 20% ($p < 0,01$). Этот факт подтверждает различие механизмов фотораспада в аэробных и анаэробных условиях. Поскольку реакция велась в водной среде и не являлась ферментативной, то эти различия могут объясняться появлением в аэробной среде промежуточного продукта реакции, служащего дополнительным хромофором и вносящего вклад в увеличение высвобождения NO в процессе фотодекомпозиции.

По литературным данным, разрыв тионитритной связи в GSNO под действием следов металлов переменной валентности и температуры может происходить как по гомолитическому (свободно-радикальному), так и гетеролитическому (с образованием ионов) пути и сопровождается образованием целого ряда органических и неорганических соединений азота [3]. Данные, полученные в исследованиях с использованием Nd:YAG-импульсного лазера и регистрацией фотореакции в пикосекундном временном диапазоне, соответствующем времени жизни свободных радикалов, свидетельствуют о гомолитическом характере фотолиза низкомолекулярных RSNO [12]. Фотораспад GSNO под действием лазерного флеш-фотолиза с максимумом 340 нм приводил к образованию тиольного радикала и оксида азота. После расщепления S–N-связи в аэробной среде могут происходить и другие, так называемые темновые реакции: реакция тиольного радикала с GSNO с образованием дисульфида

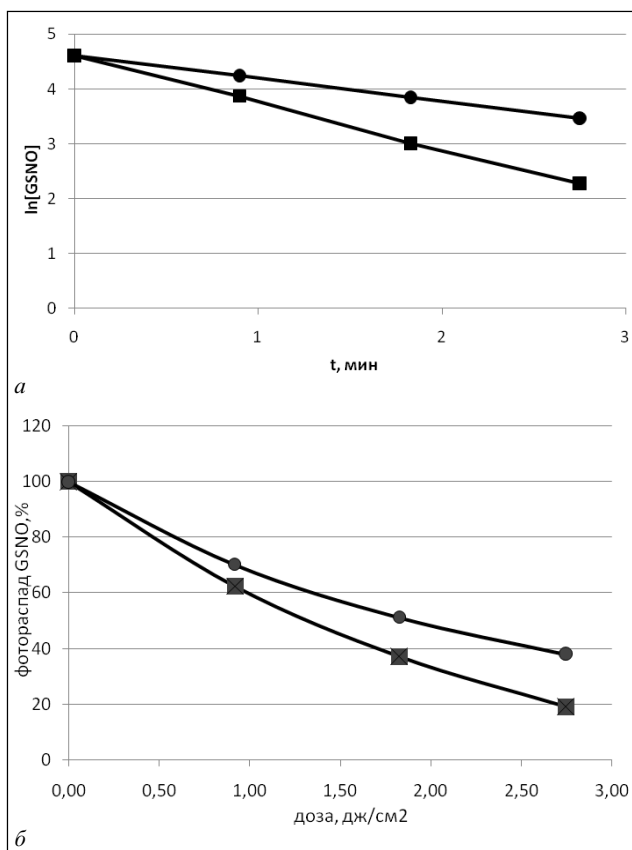


Рис. 2. Скорость фотораспада GSNO при облучении светом лампы ППК-4 со светофильтром УФС-6 в аэробных (♦) и анаэробных условиях (●): а – график зависимости логарифма концентрации GSNO от времени экспозиции; б – зависимость скорости фотораспада GSNO от дозы облучения. Для каждой точки рассчитывали среднюю величину из 4 экспериментальных измерений

глутатиона и NO, реакция тиольного радикала с кислородом с образованием пероксида глутатиона, реакция образованного свободного радикала пероксида глутатиона с GSNO с образованием GSSG и NO (рис. 3).

Из вышеперечисленных реакций обращает на себя внимание последняя реакция, которая в отсутствие света идет медленно со скоростью, близкой к скорости диффу-

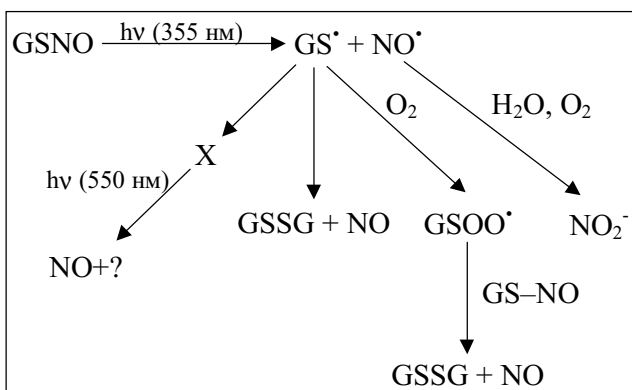


Рис. 3. Схема фотораспада нитроглютамина: X – гипотетический хромофор

зии. Однако учитывая способность пероксида глутатиона GSNO• поглощать [9] длинноволновый свет (максимум 550 нм), скорость этой реакции под действием излучения может увеличиваться, внося дополнительный вклад в увеличение общей скорости фотораспада GSNO в аэробных условиях. При исследовании влияния видимого света на фотолиз GSNO в нашем исследовании (рис. 4) в условиях экспозиции светом видимой области спектра излучения лампы, выделенной с помощью светофильтра ОС-11, фотораспад GSNO происходил с одинаково низкой скоростью как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Однако преэкспозиция раствора GSNO светом УФ-диапазона, выделенного с помощью светофильтра УФС-6, в течение 1 мин приводило к достоверному ($p < 0,05$) увеличению скорости фотораспада GSNO. Причем в аэробных условиях скорость фотораспада была на 14 % выше, чем в анаэробных условиях. Объяснением этого факта может служить возникновение дополнительных хромофоров в результате первичной УФ-фотохимической реакции, способных поглощать видимый свет в области 500 нм. Гипотетические хромофоры должны иметь достаточно большое время полужизни, исчисляющееся в минутах, поэтому можно предположить, что ими могут быть производные глутатиона, содержащие S–N-связь, образованные в результате гетеролитического процесса, имеющие невысокую реакционную способность и стабильность в данных условиях (например, ион пероксида глутатиона).

На основании полученных результатов и данных литературы можно утверждать, что фотодекомпозиция GSNO представляет собой сложный процесс и спектр действия зависит от наличия кислорода, источника излучения и других условий. В связи с этим представляется важным дальнейшее изучение влияния на декомпозицию GSNO света источников широкого спектра излучения, что будет способствовать разработке более эффективных и безопасных методов направленного светолечения.

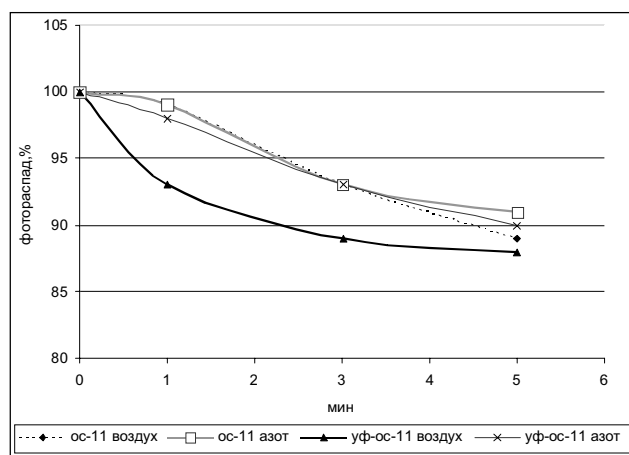


Рис. 4. Скорость фотораспада GSNO при облучении светом видимого диапазона (540–550 нм) ртутно-кварцевой лампы со светофильтром ОС-11. Для каждой точки рассчитывали среднюю величину из 5 экспериментальных измерений

ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирцов, Ю. А. Физико-химические основы фотобиологических процессов / Ю. А. Владимирцов, А. Я. Потапенко. – М.: Высшая школа, 1989.
2. Armstrong, D. A. Sulfur – centered reactive intermediates in chemistry and biology / D. A. Armstrong // Plenum Press. – 1990. – P. 121–341.
3. Faassen, E. Low-molecular weight S-nitrosothiols / E. Faassen, A. Vanin // Radicals for life: various forms of nitric oxide. – 2007. – P. 173–195.
4. Hart, T. W. Some observation concerning S-nitroso and phenylsulphonyl derivatives of L-cysteine and glutathione / T. W. Hart // Tetrahedron Lett. – 1985. – Vol. 26. – P. 2013–2016.
5. Hogg, N. Biological chemistry and clinical potential of S-nitrosothiols. Free Rad / N. Hogg // Biol. Chem. – 2000. – Vol. 28. – P. 1478–1486.
6. Hu, T.-M. The kinetics of thiol-mediated decomposition of S-nitrosothiols / T.-M. Hu, T.-C. Chou // AAPS. – 2006. – Vol. 8. – Article 57. – P. 485–492.
7. Leecharoen, R. Photodynamic release of nitric oxide from nitrosothiols of glutathione, and serum albumin studied by transient absorption and transient circular dichroism spectroscopy / R. Leecharoen. – Pittsburg, 2005. – 58 p.
8. Liu, L. Essential roles of S-nitrosothiols in vascular homeostasis and endothelial shock / L. Liu [et al] // Cell. – 2004. – Vol. 116. – P. 617–628.
9. Mutus, B. Evidence for peroxynitrite formation during S-nitrosoglutathione photolysis in air saturated solutions / B. Mutus, R. Redmond, S. Anter // FEBS Lett. – 1999. – Vol. 449. – P. 79–82.
10. Rodriguez, J. Chemical nature of nitric oxide storage forms in rat vascular tissue / J. Rodriguez [et al] // PNAS. – 2003. – Vol. 100. – P. 336–341.
11. Rotta, J. C. G. Nitric oxide release from the S-nitrosothiol zinc phthalocyanine complex by flash photolysis / J. C. G. Rotta [et al] // Braz. J. Med. Biol. Res. – 2003. – Vol. 36. – № 5. – P. 587–594.
12. Singh, R. Photosensitized decomposition of S-nitrosothiols and 2-methyl-2-nitrosopropane. Possible use for site-directed nitrite oxide production / R. Singh [et al] // FEBS Lett. – 1995. – Vol. 360. – P. 47–51.

РЕЗЮМЕ

Л. А. Александрова, И. В. Александров,
Г. В. Папаян, А. А. Жлоба, Н. Н. Петрищев,

Влияние света оптического диапазона на декомпозицию S-нитрозоглутатиона

Изучали декомпозицию синтезированного S-нитрозоглутатиона (GSNO) *in vitro* в 5-минутном интервале времени в аэробной и анаэробной среде. В качестве источника света использовали ртутно-кварцевую лампу типа ППК-4. В анаэробной среде скорость декомпозиции была снижена на 20%. В условиях экспозиции светом видимой области спектра излучения лампы, выделенной с помощью светофильтра ОС-11, декомпозиция GSNO происходила с одинаково низкой скоростью как в аэробных, так и в анаэробных условиях. Преэкспозиция раствора GSNO светом УФ-диапазона, выделенного с помощью светофильтра УФС-6, в течение 1 мин приводила к достоверному ($p < 0,05$) увеличению скорости декомпозиции GSNO. В аэробных условиях при этом скорость декомпозиции была на 14% выше, чем в анаэробных. Предполагается возникновение в аэробной среде в результате первичной УФ-фотохимической реакции дополнительного хромофора, способного поглощать видимый свет в области 500 нм.

Ключевые слова: S-нитрозоглутатионы, УФ-облучение.

SUMMARY

L. A. Alexandrova, I. V. Alexandrov, G. V. Papayan,
A. A. Zhloba, N. N. Petrizhev

Influence of optical light irradiation on S-Nitrosoglutathione decomposition

The photodecomposition of synthesized S-Nitrosoglutathione (GSNO) was investigated in aerated and deaerated solutions *in vitro*. The exposure was provided by mercury-quartz lamp «ППК-4» type. The rate of GSNO decomposition in deaerated solution was 20% lower than that in aerated solution. The visible light exposure through the light filter «ОС-11» showed no differences in the GSNO decomposition rate either in aerated or in deaerated solutions. One minute preexposure of the GSNO solutions to UV-light emitted through the light filter «УФС-6» resulted in a significant ($p < 0,05$) increase of GSNO decomposition rate. In aerated solutions the rate was 14% higher than in deaerated ones. We assume that an additional chromophore absorbing visible light in the range of 500–550 nm may appear in the aerated solution as a result of primary UV-photochemical reaction.

Key words: S-Nitrosoglutathiones, UV-irradiation.

© Н. А. Бархатова, 2009 г.
УДК 616-018:616.9-07:[616-006-002.54+615.276.2]

Н. А. Бархатова

ДИАГНОСТИЧЕСКАЯ ЦЕННОСТЬ ИССЛЕДОВАНИЯ ФАКТОРА НЕКРОЗА ОПУХОЛИ И РЕЦЕПТОРНОГО АНТАГО- НИСТА ИНТЕРЛЕЙКИНА-1 ПРИ ЛОКАЛЬНОЙ И ГЕНЕРА- ЛИЗОВАННОЙ ФОРМАХ ИНФЕКЦИИ МЯГКИХ ТКАНЕЙ

Челябинская государственная медицинская академия

В настоящее время все большее число исследователей и врачей различных специальностей считают оправданным и необходимым внедрение в клиническую практику новой классификации септических состояний, принятой на Международной Согласительной конференции в г. Чикаго в 1991 г. [1, 2, 5, 6]. Однако использование предложенных критериев сепсиса и выделение синдрома системной воспалительной реакции требует пересмотра ранее устоявшихся в отечественной гнойной хирургии постулатов патофизиологии, клиники и диагностики сепсиса [1, 2, 5]. Ранее используемый диагноз токсико-резорбтивной лихорадки на фоне гнойной инфекции теперь требует уточнения и разграничения с современным понятием сепсиса [3]. В последние годы при гнойно-некротических заболеваниях мягких тканей клиника синдрома системного воспалительного ответа, по различным дан-

ным, определяется в 62,5–77,6%, при этом доля тяжелого сепсиса порой составляет от 2 до 18% [2, 5]. Несмотря на современные достижения клинической медицины, при тяжелом сепсисе и септическом шоке показатель летальности остается на высоком уровне, составляя от 12 до 60%, и не имеет тенденции к снижению [1, 3, 4].

Именно эти обстоятельства определяют необходимость всестороннего изучения генерализованных форм инфекции мягких тканей, поиск современных достоверных маркеров сепсиса, используемых для диагностики и мониторинга эффективности терапии, а также оправдывают разработку новых подходов и методов лечения и профилактики данной патологии.

Целью настоящего исследования было определение частоты встречаемости локальной и генерализованных форм инфекции при гнойно-некротических заболеваниях мягких тканей и определение диагностической ценности исследования уровня и динамики провоспалительных и противовоспалительных цитокинов крови при данной патологии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализированы результаты лечения 2250 больных с различными гнойно-воспалительными заболеваниями мягких тканей, получивших стационарное лечение в период с 1998 по 2007 г. в условиях гнойного хирургического отделения МУЗ ГКБ № 1 г. Челябинска. Диагностику септических состояний у данных больных проводили согласно классификации, принятой в г. Чикаго в 1991 г. [6]. В ходе исследований все больные были разделены на две группы. Основную группу составили 1238 человек (55,1%) с генерализованными формами инфекции, у которых регистрировали синдром системной воспалительной реакции различной степени тяжести (ССВР₂₋₄) в течение 5,7±0,12 суток. В группу сравнения были включены 1012 пациентов (44,9%) с локальной формой инфекции, при которой отмечали не более одного симптома системной воспалительной реакции (СВР₀₋₁).

Для подтверждения диагноза больным обеих групп производили комплексное клиничко-лабораторное обследование. Учитывая принятую в настоящее время концепцию системной цитокинемии как ведущей причины раз-

вития сепсиса, у 100 пациентов из обеих групп дополнительно была исследована динамика концентрации фактора некроза опухоли (ФНОα) и рецепторного антагониста интерлейкина-1 (ИЛ-1РА). Исследования проводили методом иммуноферментного анализа с моноклональными антителами.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Первоначальное исследование уровня цитокинов производили до выполнения оперативного вмешательства или в первые 10–12 часов после адекватного оперативного вмешательства (табл. 1).

Полученные данные указывают на наличие прямой зависимости между исходным уровнем цитокинов и степенью тяжести синдрома системной воспалительной реакции. При генерализованных формах инфекции уровень ФНОα увеличивался при синдроме легкой степени (ССВР₂) в 1,5 раза, при синдроме средней степени (ССВР₃) – в 3,5 раза и при тяжелой степени (ССВР₄) – в 6,7 раза больше нормы (p<0,01). При локальных формах инфекции (СВР₀₋₁) концентрация ФНОα оставалась в пределах нормы.

Увеличение уровня ИЛ-1РА также было связано с наличием системного воспалительного ответа, но максимальное повышение показателя в 2 раза от нормы мы наблюдали при синдроме системной воспалительной реакции средней степени (ССВР₃), а при легкой (ССВР₂) и тяжелой степени (ССВР₄) системного ответа уровень ИЛ-1РА увеличивался соответственно на 30 и 40% (p<0,01).

При определении взаимосвязи между исходным уровнем цитокинов и особенностями клинических проявлений инфекции мягких тканей следует учесть тот факт, что исследуемые регуляторные цитокины являются функциональными антагонистами. ФНОα – провоспалительный цитокин, а ИЛ-1РА – противовоспалительный. ФНОα выделяют макрофаги и моноциты, их доля среди клеточного состава периферической крови незначительна, при этом истинным биологическим действием обладает не свободная, а связанная с клетками-мишенями фракция ФНОα [5]. Циркулирующие в кровотоке «свободные молекулы»

данного вещества обладают более слабым биологическим действием и лишь частично отражают степень активности клеток – их продуцентов. Иная ситуация с противовоспалительным цитокином ИЛ-1РА. Данное вещество вырабатывается циркулирующими в крови активированными нейтрофилами. Доля нейтрофилов среди клеток крови значительна, а действие данного цитокина предполагает свободную его циркуляцию в системном кровотоке. Немаловажен тот факт, что, несмотря на противовоспалительный эффект рецепторного антагониста ИЛ-1, его

Таблица 1

Исходная концентрация ФНО и ИЛ-1РА крови при локальных и генерализованных формах инфекции мягких тканей

| Форма инфекции | Тяжесть СВР | Количество больных в подгруппе | Средняя концентрация цитокинов (пг/мл) | |
|-------------------------------|-------------|--------------------------------|--|-----------------------------------|
| | | | ФНО | ИЛ-1РА |
| Локальная форма (n=25) | СВР0 | 10 | 0,2±0,03* ₀ | 321,22±45,1* |
| | СВР1 | 15 | 1,4±0,15* | 412,16±61,5* |
| Генерализованная форма (n=75) | ССВР2 | 26 | 3,5±0,25* ₀₀ | 1292,3±37,3* ₀₀ |
| | ССВР3 | 27 | 8,6±0,68* | 2009,9±60,6* |
| | ССВР4 | 22 | 16,7±0,72* | 1419,9±46,5* |

Примечание: выделенные жирным шрифтом значения показателей превышают норму; * достоверное отличие показателей в зависимости от тяжести системной воспалительной реакции (СВР₀–ССВР₄), p<0,05; ⁰ достоверное отличие показателей между подгруппами (СВР₀₋₁) с локальной формой инфекции, p<0,05; ⁰⁰ достоверное отличие показателей между подгруппами (ССВР_{2,3,4}) с генерализованными формами инфекции, p<0,05 (критерий Рускала Уоллиса).

максимальное увеличение мы наблюдали в острой фазе воспаления, вероятно, за счет включения в биологический процесс компенсаторной противовоспалительной реакции.

Анализируя эти данные, можно предположить, что увеличение концентрации провоспалительных цитокинов приводит к развитию аутоагрессии в отношении собственных тканей и органов и определяет развитие синдрома системного воспалительного ответа, септического шока и ранней полиорганной недостаточности. В то же время чрезмерная активность противовоспалительной системы может привести к гипоэргической ответной воспалительной реакции, которая проявится вялым течением раневого процесса, а при наличии достаточно высокой степени патогенности возбудителей инфекции приведет к стойкой бактериемии (септицемии), которую ранее считали одним из основных критериев сепсиса.

Еще в 1994 г. R. Bone высказал гипотезу о наличии при бактериальной агрессии ответной активации не только провоспалительной системы, но и компенсаторной противовоспалительной реакции, уравнивающей биологическое действие первой [6]. Если придерживаться данной позиции, становится очевидной клиническая и прогностическая значимость определения этих цитокинов при гнойно-некротических заболеваниях мягких тканей.

На наш взгляд, наиболее важное клиническое и прогностическое значение из этих двух цитокинов имеет уровень рецепторного антагониста ИЛ-1. Его повышенная или нормальная концентрация при любых отклонениях от нормы провоспалительных цитокинов снижает риск развития системной воспалительной реакции, а при манифестации системного воспалительного ответа увеличивает вероятность благоприятного течения и быстрого купирования общей клинической симптоматики. В то же время относительно низкий уровень ИЛ-1РА на фоне провоспалительной цитокинемии значительно увеличивает риск быстрой генерализации инфекционного процесса с формированием вторичных очагов инфекции и септического шока, ввиду несостоятельности ответных компенсаторных противовоспалительных механизмов.

Следует отметить, что у больных, в зависимости от формы инфекции и продолжительности сохранения синдрома системного воспалительного ответа, отмечали различные сроки нормализации этих показателей. В ходе исследований была выявлена достоверная разница концентрации этих показателей у пациентов с продолжительностью сохранения синдрома системного воспалительного ответа менее и более 72 часов от начала адекватного комплексного лечения (табл. 2).

Согласно полученным данным, при локальной форме инфекции (СВР₀₋₁)

уровень цитокинов оставался в пределах нормы, причем ФНО не превышал 1 пг/мл и ИЛ-1РА был ниже 650 пг/мл. При кратковременном синдроме системного воспалительного ответа (ССВР₂₋₄ < 72 ч) исходно ФНО не превышал 3 пг/мл, а ИЛ-1РА был выше 1500 пг/мл в первые 5 суток лечения. В последующем в этой подгруппе ФНО с 3-х суток соответствовал норме, а ИЛ-1РА достигал нормы лишь к 10–14-м суткам. При продолжительном сохранении синдрома системного воспалительного ответа (ССВР₂₋₄ > 72 ч), которое мы расценивали как проявление сепсиса, уровень ФНО был выше 6 пг/мл в течение первых 10-ти суток лечения, а ИЛ-1РА не превышал 1400 пг/мл первые 3-е суток стационарного лечения или сохранял нормальный уровень. В последующем нормализация ФНО происходила к 15–20-м суткам, а ИЛ-1РА соответствовал норме у всех больных данной подгруппы уже со 2–3-х суток.

Максимальные отклонения всех исследуемых маркеров и цитокинов были отмечены в первые 3-е суток от момента госпитализации и имели характерную разницу, а также взаимосвязь с продолжительностью сохранения синдрома системного воспалительного ответа. Так, увеличение концентрации ИЛ-1РА более 1500 пг/мл при уровне ФНО не более 3 пг/мл чаще всего сопровождалось кратковременным (< 72 ч) сохранением синдрома системного воспалительного ответа, возможно, за счет выраженной компенсаторной реакции противовоспалительной системы. В то же время при уровне ИЛ-1РА ниже 1500 пг/мл с концентрацией ФНО более 6 пг/мл, как правило, отмечали синдром системного воспалительного ответа, сохраняющийся более 72 часов от начала адекватного лечения. Сроки нормализации ФНО совпадают с динамикой клинической картины. Кратковременный синдром системного ответа сопровождается длительным увеличением ИЛ-1РА, а быстрая его нормализация в течение первых 2–3-х суток более характерна для сепсиса.

Сопоставление этих данных и особенностей клиники позволяет предполагать, что сохранение синдрома сис-

Таблица 2

Динамика уровня ФНО и ИЛ-1РА у больных с локальными и генерализованными формами инфекции

| Группа | 1 2-е сут. | 3 4-е сут. | 5 9-е сут. | 10 14-е сут. | 15 20-е сут. |
|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------|--------------|
| ФНО (0 2,5 пг/мл) | | | | | |
| Сравнения (n=25) | 0,72±0,04 | 0,5±0,06 | 0,2±0,02 | 0 | |
| Основная (n=75) | 7,8±0,7 * | 6,2±0,5 * | 4,1±0,4 * | 2,3±0,2 * | 1,3±0,7 |
| ССВР ₂₋₄ < 72 ч (n=27) | 2,7±0,08 ⁰ | 2,1±0,06 ⁰ | 1,3±0,08 ⁰ | 0,4±0,08 ⁰ | 0 |
| ССВР ₂₋₄ > 72 ч (n=48) | 10,6±0,6 | 9,7±0,3 | 6,2±0,3 | 3,4±0,1 | 1,3±0,1 |
| ИЛ-1РА (50 1000 пг/мл) | | | | | |
| Сравнения (n=25) | 386±51 | 343±32 | 287±24 | 275±25 | 258±21 |
| Основная (n=75) | 1432±43 * | 1437±37 * | 1032±45 * | 784,6±30 * | 537±12 * |
| ССВР ₂₋₄ < 72 ч (n=27) | 1706±40⁰ | 1645±34⁰ | 1325±30⁰ | 976±23 ⁰ | 520±16 |
| ССВР ₂₋₄ > 72 ч (n=48) | 1280±23 | 1211±19 | 894±18 | 503±11 | 576±12 |

Примечание: выделенные жирным шрифтом показатели превышают норму;

* достоверное отличие показателей между группами с локальной и генерализованной инфекцией, p < 0,01; ⁰ достоверное отличие показателей между подгруппами с различной продолжительностью синдрома системного воспалительного ответа (ССВР₂₋₄ < 72 ч и ССВР₂₋₄ > 72 ч), p < 0,05 (критерий Манна Уитни).

темного ответа в течение 24–72 часов после адекватного оперативного вмешательства является проявлением остаточного системного действия медиаторов воспаления, поступивших в системный кровоток из очага инфекции в острой фазе воспаления, на фоне незавершенного процесса их метаболизма. В то же время сохранение синдрома системного ответа более 72 часов после адекватной санации очага инфекции говорит о развитии плохоуправляемой вторичной системной провоспалительной цитокинемии, при неспецифической генерализованной активации иммунокомпетентных клеток вне очага воспаления, что соответствует клинике различных форм сепсиса. При локальных формах инфекции уровень цитокинов в крови изменяется незначительно или остается в пределах нормы, что и определяет отсутствие системных проявлений воспалительного ответа или быстрое купирование отдельных его симптомов.

ВЫВОДЫ

Среди больных с гнойно-некротическими заболеваниями мягких тканей в 13 % случаев имел место кратковременный (<72 ч) синдром системной воспалительной реакции, у 42 % больных отмечали клинику сепсиса, а у 45 % пациентов была локальная форма инфекции. Проведенные исследования подтверждают тот факт, что клинические проявления синдрома системного воспалительного ответа сопровождаются увеличением концентрации ФНО α и рецепторного антагониста ИЛ-1 от 1,5 до 7 раз. Причем тяжесть системного воспалительного ответа и клиническая форма инфекции зависят не столько от степени увеличения показателей, сколько от соотношения уровня данных показателей. Наличие дисбаланса показателей со значительным превалированием провоспалительного цитокина ФНО α при нормальной или сниженной концентрации противовоспалительного ИЛ-1РА чаще сопровождается клиникой сепсиса. При этом для кратковременного (<72 ч) синдрома системного воспалительного ответа характерна быстрая нормализация уровня ФНО α при длительном сохранении повышенной концентрации противовоспалительного ИЛ-1РА. При локальных формах инфекции уровень цитокинов остается в пределах нормы на протяжении всего периода лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ерюхин, И. А. Инфекция в хирургии. Старая проблема на кануне нового тысячелетия. Ч. 1 / И. А. Ерюхин // Вестник хирургии. – 1998. – Т. 157. – № 1. – С. 85–91.
2. Исаков, Ю. Ф. Сепсис у детей / Ю. Ф. Исаков, Н. В. Белобородова. – М. : Мокеев, 2001. – 368 с.
3. Костюченко, А. Л. Интенсивная терапия послеоперационной раневой инфекции и сепсиса / А. Л. Костюченко, А. Н. Бельских, А. Н. Тулупов. – СПб. : Фолиант, 2000. – 448 с.

4. Кузин, М. И. Раны и раневая инфекция / М. И. Кузин, Б. М. Костюченко. – М. : Медицина, 1990. – 447 с.

5. Мороз, В. В. Сепсис : клинико-патофизиологические аспекты интенсивной терапии / В. В. Мороз [и др.]. – Петрозаводск : ИнтелТек, 2004. – 291 с.

6. Bone, R. G. Let's agree on terminology : definition of sepsis / R. G. Bone // Crit. Care Med. – 1991. – Vol. 19. – № 7. – P. 973–976.

РЕЗЮМЕ

Н. А. Бархатова

Диагностическая ценность исследования фактора некроза опухоли и рецепторного антагониста интерлейкина-1 при локальной и генерализованной формах инфекции мягких тканей

Приведены результаты исследования 2250 больных с различными формами инфекции мягких тканей. Среди них в 13 % случаев имел место синдром системной воспалительной реакции, у 42 % больных отмечали клинику сепсиса, а у 45 % пациентов была локальная форма инфекции. У 100 случайно выбранных пациентов дополнительно исследовали концентрацию ФНО α , и ИЛ-1РА методом иммуноферментного анализа с моноклональными антителами. Было выявлено, что клинические проявления синдрома системного воспалительного ответа сопровождаются достоверным увеличением концентрации ФНО α и ИЛ-1РА от 1,5 до 7 раз от нормы. Наличие дисбаланса показателей со значительным превалированием ФНО α при нормальной или сниженной концентрации ИЛ-1РА сопровождается сохранением синдрома системной воспалительной реакции более 72 часов после адекватной операции, что является признаком сепсиса. Сопоставимое по уровню увеличение обеих показателей характерно для синдрома системного воспалительного ответа, продолжительностью не более 48–72 часов. А при локальных формах инфекции мягких тканей уровень цитокинов остается в пределах нормы. Эти данные определяют диагностическую и прогностическую ценность исследования данных маркеров в клинике.

Ключевые слова: фактор некроза опухоли, рецепторный антагонист интерлейкина-1, инфекции мягких тканей.

SUMMARY

N. A. Barkhatova

Diagnostic value of TNF- α and IL-1RA assessment in local and generalized forms of the soft tissue infection

The paper presents 2250 patients with various forms of the soft tissue infection: systemic inflammatory response syndrome (13%), clinically pronounced sepsis (42%), and local infection (45%). Concentrations of TNF α and IL-1RA were assessed by method of IFA with monoclonal antibodies in 100 randomized patients. Clinical manifestations of systemic inflammatory response were found to be accompanied by significant increase of TNF α and IL-1RA concentration – 1.5 up to 7 times vs the norm. Disbalance in the indices with marked prevalence of TNF- α values versus normal or lowered concentration of IL-1RA was accompanied by stable systemic inflammatory response syndrome of more than 72 hours duration after an adequate operation – the fact attributable to sepsis. The comparable increase of both parameters is characteristic of the systemic inflammatory response syndrome of 48–72 h duration. In local forms of the soft tissue infection the IL-1RA level remained within normal limits. The findings prove diagnostic and prognostic value of assessment of the markers in hospital settings.

Key words: tumour necrosis factor, IL-1RA, soft tissue infections.

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 616.441-07:575.224

**М. И. Зарайский, Д. Ю. Семенов,
М. Е. Борискова, И. Ю. Сабурова,
П. А. Панкова, Н. С. Фещенко,
В. Г. Чаусова, У. В. Фарафонова,
О. А. Пестерова**

ЗНАЧЕНИЕ ВЫЯВЛЕНИЯ МУТАЦИИ ГЕНА BRAF В ДООПЕРАЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКЕ РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Кафедра клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины, кафедра общей хирургии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова

Узловые образования щитовидной железы (УОЩЖ) обнаруживают у 5–70% населения [1, 2]. Актуальность проблемы дифференциальной диагностики УОЩЖ заключается в том, что, по некоторым данным, от 10 до 22% солитарных узлов щитовидной железы являются злокачественными, а почти в 90% случаев рак щитовидной железы на ранних стадиях развивается под маской узлового зоба [3].

Традиционно для дифференциальной диагностики УОЩЖ используется тонкоигольная аспирационная биопсия (ТАБ) под контролем УЗИ с последующим цитологическим исследованием биоптата. Однако цитологический метод имеет ряд ограничений, а именно – получение при ТАБ неинформативных и неопределенных результатов. Неопределенные результаты ТАБ составляют около 30% [10, 12] и связаны с отсутствием точных цитологических критериев для дифференциальной диагностики ряда доброкачественных и злокачественных заболеваний щитовидной железы (ЩЖ). Невозможность на дооперационном этапе имеющимися методами исключить опухолевую природу узла ЩЖ является показанием к выполнению диагностической операции. При хирургическом вмешательстве лишь в 15–20% неопределенных результатов цитологического исследования выявляется злокачественный процесс [5]. На сегодняшний день окончательный диагноз может быть установлен только в результате гистологического исследования.

Поиск новых методов дооперационной дифференциальной диагностики узловых образований ЩЖ является одной из актуальных проблем современной тиреодологии, что позволило бы улучшить диагностику рака ЩЖ и сократить количество диагностических операций. Исследование событий молекулярного уровня занимает ведущее место в определении патогенеза различных форм рака ЩЖ и, соответственно, может быть применено и в диагностических целях.

Целью настоящей работы являлось выявление значимости наличия мутации V600E в гене BRAF в дооперационной диагностике рака ЩЖ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Характеристика групп пациентов. В исследование были включены 30 пациентов, обследованных на базе кафедры клинической лабораторной диагностики с курсом молекулярной медицины и оперированных на кафедре общей хирургии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова в период с 2007 по 2008 гг. Средний возраст пациентов составил $49 \pm 8,5$ года; соотношение мужчин и женщин – 1:9,7 соответственно. Всем пациентам было выполнено стандартное клиническое и ультразвуковое обследования. У 65% пациентов узлы ЩЖ были выявлены впервые, 35% пациентов наблюдались у эндокринолога по поводу доброкачественных заболеваний щитовидной железы, у 10% из них в анамнезе имелись оперативные вмешательства на ЩЖ по поводу доброкачественных заболеваний в объеме гемитироидэктомия с истмусэктомией.

Всем пациентам до операции контролем УЗИ была выполнена ТАБ с последующим цитологическим исследованием аспирата в цитологической лаборатории ЦЛД СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова (табл. 1). На основании цитологического диагноза пациенты были разделены на три группы:

- 1) пациенты с коллоидным зобом;
- 2) пациенты с папиллярным раком;
- 3) пациенты, у которых на основании цитологического заключения нельзя было исключить злокачественную природу узла. Окончательная верификация диагноза проводилась по данным послеоперационного гистологического исследования.

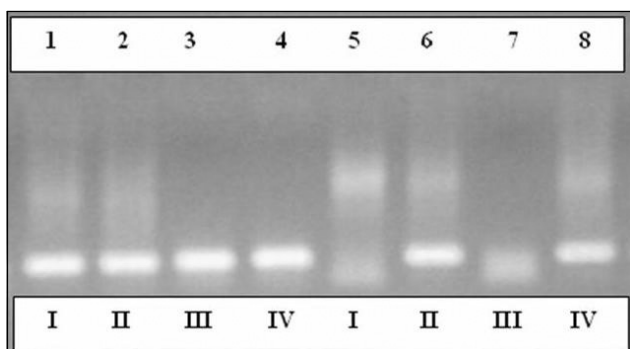
Выявление мутации V600E гена BRAF. Геномная ДНК выделялась из пункционного материала с помощью набора «ДНК-ГС» («ДНК-Технология», Россия).

Аmplификация проводилась на приборе «Терцик» («ДНК-технология», Россия) по стандартной двухпраймерной схеме в конечном объеме 10 мкл. Реакционная смесь содержала 2 мкл ДНК, 14 рМол каждого праймера, смесь дНТФ в конечной концентрации 240 мкМол и 2,5 единиц термостабильной Taq ДНК-полимеразы (Helicon, Россия) в стандартном ПЦР буфере с содержанием 15 мМол Mg²⁺. Последовательности используемых праймеров: обратный праймер (общий для дикого и мутантного аллелей гена BRAF) «RP-BRAF» 5'-GGCCAA AATTTAATCAGTGGA-3' и 2-а прямых праймера: «FW-BRAF» 5'-TAGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGT-3' для «дикого» типа и «FM-BRAF» 5'-GGTGATTTTGGTCTAGCT AAAAA-3' для мутантного типа гена [15]. Программа амплификации состояла из начальной денатурации (96 °С, 3 мин), 40 циклов, включавших денатурацию (94 °С, 20 с), отжиг праймеров (61 °С, 30 с), элонгацию

Таблица 1

Распределение пациентов по группам в зависимости от цитологического диагноза

| Количество пациентов | Результат ТАБ |
|----------------------|-------------------------|
| 9 | Доброкачественный (УКЗ) |
| 12 | Злокачественный (ПР) |
| 9 | Неопределенный (ФО) |



Электрофореграмма продуктов амплификации: дорожки 1, 2, 3, 4 – «дикий» и мутантный тип гена BRAF. У всех 4 пациентов (I–IV) присутствует дикий тип гена BRAF; дорожки 5, 6, 7, 8 – мутантный тип гена BRAF. Пациенты II и IV – положительные по мутации в гене BRAF, пациенты I и III – отрицательные по мутации в гене BRAF

Таблица 2

Результаты планового гистологического исследования у больных контрольной и исследуемой групп

| Цитологическое заключение | Количество пациентов | Окончательный гистологический диагноз | Количество пациентов |
|---------------------------|----------------------|---------------------------------------|----------------------|
| Узловой коллоидный зоб | 9 | Узловой коллоидный зоб | 9 |
| Папиллярный рак | 12 | Папиллярный рак | 12 |
| Фолликулярная опухоль | 9 | Фолликулярная аденома | 8 |
| | | Фолликулярный рак | 1 |
| Всего | 30 | Узловой коллоидный зоб | 9 |
| | | Фолликулярная аденома | 8 |
| | | Папиллярный рак | 12 |
| | | Фолликулярный рак | 1 |

(72 °C, 40 с), и заключительной элонгации (72 °C, 8 мин). Визуализация ПЦР продукта проводилась на трансиллюминаторе (254 нм) после электрофореза в 2% агарозном геле.

Каждая проба оценивалась по наличию электрофоретического сигнала в двух дорожках: дорожка № 1 (амплификация с праймерами для «дикого» и мутантного типов гена BRAF) и дорожка № 2 (амплификация с праймерами только для мутантного типа гена BRAF). Наличие электрофоретического сигнала в дорожке № 1 являлось контролем метода. Наличие сигнала в дорожке № 2 свидетельствовало о наличии данной мутации в исследуемом образце (рисунок).

Результаты выявления мутации V600E гена BRAF в материале аспирационных биоптатов и сопоставление

с диагнозами, сделанными по данным морфологического исследования на послеоперационном материале, были оценены по следующим критериям [13]: предсказательная ценность положительного теста; чувствительность теста; предсказательная ценность отрицательного теста; специфичность теста.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Всем прооперированным больным было выполнено гистологическое исследование операционного материала, по результатам которого проведен сравнительный анализ данных цитологического и гистологического исследований. У всех пациентов с заведомо доброкачественными заболеваниями ЩЖ (9 человек) дооперационный цитологический диагноз узловой коллоидный зоб был подтвержден при гистологическом исследовании. Цитологический диагноз папиллярный рак был подтвержден в 100% случаев при гистологическом исследовании у пациентов исследуемой группы. Интересным оказалось распределение гистологически верифицированных диагнозов в группе пациентов с неопределенным диагнозом по данным ТАБ. У восьми пациентов диагностирована фолликулярная аденома, у одного – фолликулярный рак (табл. 2).

В работах ряда зарубежных исследователей описывается мутация V600E в 15 экзоне гена BRAF (BRAFFV600E) как наиболее часто встречающаяся при папиллярном раке ЩЖ [9]. Наличие данной мутации ведет к повышению митотической и пролиферативной активности клеток железы.

При исследовании гистологического материала от больных, прооперированных по поводу рака ЩЖ, наличие BRAFFV600E мутации определялось с частотой 38–69% [4, 8, 10, 12]. Ряд авторов связывают наличие данной мутации в опухоли с большей агрессивностью процесса (наличие регионарных метастазов, развитие рецидива в течении 6 лет) [8]. Также в последнее время появился ряд исследований с длительным отдаленным наблюдением пациентов (до 15–20 лет), в таких исследованиях была выявлена положительная корреляция между наличием BRAFFV600E мутации и более неблагоприятным прогнозом течения заболевания [6]. По данным авторов, эта мутация также ассоциирована с большей частотой экстрагитальной инвазии, поражением регионарных лимфоузлов и наличием отдаленных метастазов [8, 11]. Авторы этих исследований делают вывод о необходимости более

Таблица 3

Выявление мутации гена BRAFFV600E

| Цитологическое заключение | Количество пациентов | Окончательный гистологический диагноз | Количество пациентов | BRAF мутация есть | BRAF мутации нет |
|---------------------------|----------------------|---------------------------------------|----------------------|-------------------|------------------|
| Узловой коллоидный зоб | 9 | Узловой коллоидный зоб | 9 | 0 | 9 |
| Папиллярный рак | 12 | Папиллярный рак | 12 | 10 | 2 |
| Фолликулярная опухоль | 9 | Фолликулярная аденома | 8 | 0 | 8 |
| | | Фолликулярный рак | 1 | 1 | 0 |
| Всего | | | 30 | 11 | 19 |

длительного (более 5 лет) и тщательного наблюдения пациентов, у которых выявлена BRAFFV600E мутация [14].

Однако существуют и другие исследования, авторы которых не выявляют статистически значимой корреляции между этой мутацией и агрессивностью течения процесса [12]. Небольшое количество работ опровергают наличие связи между BRAFFV600E мутацией и прогнозом [4, 7].

Таблица 4

Критерии достоверности метода выявления мутации V600E гена BRAF у пациентов с подозрением на рак щитовидной железы

| Параметр | BRAF-мутация (%) |
|--|------------------|
| Предсказательная ценность положительного теста | 100 |
| Чувствительность теста | 85 |
| Предсказательная ценность отрицательного теста | 90 |
| Специфичность теста | 100 |
| Диагностическая точность метода | 93 |

Ряд статей посвящены исследованию возможности определения BRAFV600E мутации в материале ТАБ при неясном либо неинформативном заключении цитологического исследования. До операции правильный диагноз удавалось поставить 76% пациентов. Чувствительность определения данной мутации в материале ТАБ составила 83%, а специфичность – 96% [10].

В ходе исследования нами были получены следующие результаты (табл. 3). В группе пациентов с цитологическим диагнозом «коллоидный зоб», который был позже подтвержден гистологически, мутантный тип гена BRAF не был выявлен ни в одном случае. В группе пациентов с бесспорным диагнозом «папиллярный рак» (по результатам цитологического и гистологического исследований) мутантный тип гена BRAF определялся в 10 из 12 образцов (83,3%). Большой интерес представляет третья группа, в которую вошли пациенты с цитологическим диагнозом «фолликулярная опухоль». По данным гистологической оценки препаратов, у 8 пациентов был поставлен окончательный диагноз «фолликулярная аденома» и у 1 – «фолликулярный рак». Мутантный тип гена BRAF не определялся ни в одном из образцов, взятых у пациентов с фолликулярной аденомой, однако в образце, взятом у пациента с фолликулярным раком, был обнаружен мутантный тип гена BRAF.

Таким образом, данное исследование позволяет у ряда пациентов ставить показания к оперативному вмешательству по поводу рака ЩЖ с соответствующим объемом оперативного вмешательства. Отсутствие данной мутации позволяет ограничить показания к оперативному вмешательству с диагностической целью.

Критерии достоверности предложенной методики представлены в табл. 4. Так, чувствительность метода исследования составила 85%, специфичность – 100% и диагностическая ценность – 93%. Наличие в образцах мутантного типа гена BRAF с вероятностью 100% свидетельствует о злокачественности процесса, а отсутствие данной мутации характерно для доброкачественных заболеваний.

Таким образом, наличие мутации V600E гена BRAF является диагностическим маркером высокодифференцированного рака ЩЖ и может быть использовано в качестве дополнительного метода дооперационной диагностики.

ЛИТЕРАТУРА

1. Валдина, Е. А. Заболевания щитовидной железы : Руководство / Е. А. Валдина. – 3-е изд. – СПб. : Питер, 2006. – 368 с.
2. Гринева, Е. Н. Узловые образования щитовидной железы. Диагностика и врачебная тактика / Е. Н. Гринева // Проблемы эндокринологии. – 2003. – Т. 49. – № 6. – С. 59–62.
3. Пачес, А. И. Рак щитовидной железы / А. И. Пачес. – М. : Москва, 1995. – 375 с.
4. Brzezianska, E. Investigation of V600E BRAF mutation in papillary thyroid carcinoma in the Polish population / E. Brzezianska [et al] // Neuro Endocrinol Lett. – 2007. – № 28 (4). – P. 351–359.
5. Cibas, E. S. Cytology. Diagnos principles and clinical correlates. WB Saunders company. A division of Harcourt Brace Company / E. S. Cibas

[et al]. – Philadelphia ; London ; Toronto ; Montreal ; Sydney ; Tokyo, 1996. – P. 217–242.

6. David, V. Prognostic significance of BRAF mutation in patients affected by papillary thyroid carcinoma with a follow up of 20 years / V. David [et al] // J. Clin. Endocrinology. – 2007. – № 75 (4). – P. 325–334.

7. Fugazzola, L. Correlation between B-RAFV600E mutation and clinic-pathologic parameters in papillary thyroid carcinoma : data from a multicentric Italy study and review of the literature / L. Fugazzola [et al] // Endocr Relat Cancer. – 2006. – № 13 (2). – P. 455–464.

8. Kebebew, E. The prevalence and prognostic value of BRAF mutation in thyroid cancer / E. Kebebew [et al] // Ann. Surg. – 2007. – № 246 (3). – P. 466–470.

9. Kimura, E. T. High prevalence of BRAF mutations in thyroid cancer : genetic evidence for constitutive activation of the RET/PTC-RAS-BRAF signaling pathway in papillary thyroid carcinoma / E. T. Kimura [et al] // Cancer Res. – 2003. – № 63. – P. 1454–1457.

10. Ki-wook, C. Detection of BRAFV600E mutation on fine needle aspiration specimens of thyroid nodule cytopathology diagnosis, especially in BRAFV600E mutation-prevalent area / C. Ki-wook [et al] // Clin Endocrinol (Oxf). – 2006. – № 65 (5). – P. 660–666.

11. Lee, J. H. Clinicopathologic significance of BRAF V600V mutation in papillary carcinomas of the thyroid : a meta-analysis / J. H. Lee // American Cancer Society. – 2007.

12. Leslie, R. R. Utility of BRAFV600E mutation detection in cytologically indeterminate thyroid nodules / R. R. Leslie [et al] // CytoJournal. – 2006. – № 3. – P. 10.

13. Linn, S. A new conceptual approach to teaching the interpretation of clinical tests / S. Linn // Journal of Statistics Education. – 2004. – Vol. 12. – № 3.

14. Ugolini, C. Presence of BRAF V600E in very early stages of papillary thyroid carcinoma / C. Ugolini [et al] // Thyroid. – 2007. – Vol. 17. – № 5. – P. 381–388.

15. Xiulong, X. High Prevalence of BRAF Gene Mutation in Papillary Thyroid Carcinomas and Thyroid Tumor Cell Lines / X. Xiulong // Cancer Research. – 2003. – № 63. – P. 4561–4567.

РЕЗЮМЕ

М. И. Зарайский, Д. Ю. Семенов, М. Е. Борискова, И. Ю. Сабурова, П. А. Панкова, Н. С. Фещенко, В. Г. Чаусова, У. В. Фарафонова, О. А. Пестерова

Значение выявления мутации гена BRAF в дооперационной диагностике рака щитовидной железы

Вопрос дооперационной диагностики рака щитовидной железы (РЩЖ) в настоящее время остается актуальным в связи со сложностями цитологической интерпретации ТАБ. Цель – исследование диагностической значимости выявления мутации BRAFV600E в дооперационной диагностике РЩЖ. В исследование были включены 30 пациентов, наблюдавшихся в клинике общей хирургии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова, у которых нельзя было исключить на дооперационном этапе РЩЖ. ДНК выделялась сорбентным методом из ткани ЩЖ, взятой методом ТАБ. Выявление мута-

ции гена BRAF проводилось с помощью ПЦР с праймерами, характерными для «дикого» и мутантного типа гена. У 10 пациентов из 12 с гистологически подтвержденным папиллярным РЩЖ и у 1 пациента с фолликулярным раком была выявлена мутация BRAFV600F. У восьми пациентов с гистологически верифицированными доброкачественными заболеваниями ЩЖ данная мутация не определялась. Встречаемость BRAF мутации у пациентов папиллярным РЩЖ составила 83,3 %. Исследование мутации BRAFV600F может использоваться в дооперационной диагностике РЩЖ.

Ключевые слова: мутация BRAFV600F, диагноз, рак щитовидной железы.

SUMMARY

M. I. Zarayskiy, D. Yu. Semenov, M. T. Boriskova, I. Yu. Saburova, P. A. Pankova, N. S. Feshchenko, V. G. Chausova, U. V. Farafonova, O. P. Pesterova

Detection of BRAFV600E gene mutation in preoperative thyroid cancer diagnostics

Preoperative thyroid cancer (PTC) diagnostics still remains an essential problem because up to 30 % of the fine needle aspiration biopsies (FNABs) of thyroid nodules are diagnosed as «indeterminate». The aim of the work was to evaluate the role of preoperative detection of BRAFV600F mutation in the FNAB specimens. We studied 30 aspirates taken by FNA from patients with thyroid gland nodes. DNAs were extracted by a sorbent method. BRAFV600F mutation was analyzed with primers specific for wild and mutant gene type by RT-PCR. All patients were divided into three groups according to cytological conclusions: colloid nodules (n=9), PTC (n=12), and suspicious for malignancy (n=9). In the group of patients with PTC the diagnosis was confirmed by histology, and BRAFV600F mutation was detected in 10 (83 %) FNAB specimens. In the group with suspicious cytological diagnosis only one patient had follicular cancer by histology and positive BRAFV600F mutation. There were no false positive BRAFV600F mutations in our study. Thereby, we received the following criteria of validity of the method: sensitivity – 85 %, specificity – 100 %, diagnostic accuracy – 93 %. Our findings suggest that BRAFV600F mutation analysis may be a useful adjunct marker for preoperative diagnosis of thyroid gland cancer.

Key words: BRAFV600F mutation, diagnosis, thyroid cancer.

© З. Г. Тадтаева, А. А. Скоромец, Ю. Л. Кацадзе, 2009 г.
УДК 616.857-053.32-008.841.5]:575

**З. Г. Тадтаева, А. А. Скоромец,
Ю. Л. Кацадзе**

ГЕНЕТИЧЕСКИЕ ПОЛИМОРФИЗМЫ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА ПРИ МИГРЕНИ С АУРОЙ У ДЕТЕЙ

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, РосНИИ гематологии и трансфузиологии, Детская городская больница № 22, Санкт-Петербург

ВВЕДЕНИЕ

Головная боль продолжает оставаться одной из наиболее частых жалоб при обращении к врачу, что обуславливает интерес к изучению мигрени. Согласно эпидемиологическим данным, мигрень наблюдается у 3–5 % детей и у 10–12 % подростков [9], занимая второе место по частоте встречаемости среди первичных форм головной боли. Несмотря на большое количество научных исследований, посвященных этиопатогенезу мигрени, механизмы возникновения приступов головной боли до конца не изучены.

Несомненным является роль наследственных факторов в развитии мигрени [1]. Наиболее существенным подтверждением значимости генетических механизмов является прогресс в раскрытии молекулярно-генетических основ васкулярно-церебральных заболеваний, включая мигрень. В последнее десятилетие наметился рост числа исследований, касающихся роли генетических факторов системы гемостаза в патогенезе мигрени. Среди них изучены мутации и полиморфизмы генов плазменных фак-

торов свертывающей системы крови, белков системы фибринолиза, тромбоцитарных рецепторов, ферментов, участвующих в поддержании физиологического сосудистого эндотелия [4]. Установлено, что наличие мутаций в этих генах заметно повышает риск развития заболевания, особенно при наличии у одного и того же больного нескольких тромбофилических факторов в сочетании с внешними факторами [11]. В настоящее время к числу генов, влияющих на риск развития мигрени, относятся мутации и полиморфные варианты генов фактора свертывания крови V (G1691A полиморфизм, известный как фактор V Лейден), ген протромбина (полиморфизм G20210A), метилентетрагидрофолатредуктазы (полиморфизм C677T), гены тромбоцитарных гликопротеинов (полиморфизмы T1565C и C434T). Наиболее изученным генетическим дефектом системы гемостаза при мигрени с аурой, который приводит к развитию гиперкоагуляционного состояния, является резистентность FV к активированному протеину С – РАПС. D. D'Amico et al. (1998) при обследовании пациентов с мигренью с аурой обнаружили резистентность к активированному протеину С и Лейденовскую мутацию у 14,5 % больных, что значительно выше, чем в общей популяции (2–6 %) [5]. Вместе с тем в исследовании J. Corral et al. не было отмечено увеличения риска развития мигрени при мутациях генов протромбина, V фактора свертывания и генов тромбоцитарных рецепторов [4].

Активация коагуляционных факторов плазмы и усиление агрегационных свойств тромбоцитов рассматривается в качестве одного из важных патогенетических механизмов развития мигрени [3]. Повышенная агрегация тромбоцитов может быть генетически детерминированной, которую связывают с мутацией гетеродимера GrPb/IIIa. Дисфункция эндотелия рассматривается в качестве одного из важных механизмов развития мигренозной головной

боли. Одной из причин эндотелиальной дисфункции является повышение уровня гомоцистеина в крови – гипергомоцистеинемия (ГГЦ), которая приводит к поражению сосудистой стенки, нарушению выделения эндотелием монооксид азота (NO), являющегося не только мощным вазодилататором, но и нейромедиатором, облегчающим проведение ноцицептивной информации в периферической и центральной нервной системе. К основной причине, приводящей к ГГЦ, относят дефект гена фермента метилентетрагидрофолатредуктазы (МТГФР), ответственного за метаболизм гомоцистеина [6]. Kowa H. et al. (2000) при обследовании 74 больных мигренью у взрослых в 20,3 % случаев выявили гомозиготное носительство аллеля 677Т, тогда как в контрольной группе здоровых – лишь в 9,6 %, при этом частота носительства ТТ-генотипа у мигренозных больных с аурой достигала 40,9 %, что дало ему основание признать гомозиготы по гену МТГФР генетическим фактором риска мигрени [8], не подтвержденный другими исследователями [7].

Таким образом, несмотря на общепризнанное мнение о роли полиморфизмов ДНК в формировании генетической предрасположенности, имеющиеся сообщения о наличии у больных с мигренью генетических маркеров тромбофилии малочисленны и противоречивы и касаются преимущественно взрослых больных с мигренью [4, 5, 7, 8]. Это диктует необходимость изучения генетических дефектов свертывающей системы крови, участвующих в формировании предрасположенности к данному заболеванию, раннее выявление которых необходимо для проведения его профилактики и лечения.

Целью исследования является изучение распространенности 6 генетических признаков тромбофилии при мигрени с аурой у детей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Нами обследованы 67 детей в возрасте от 5 до 18 лет с мигренью с аурой (МА), находившихся на лечении в отделении неврологии детской городской больницы № 22 Санкт-Петербурга. Диагноз мигрени установлен согласно Международной классификации головных болей [10]. Все больные прошли тщательное клинико-неврологическое обследование, для исключения симптоматических форм мигрени проводилась компьютерная или магнитно-резонансная томография (КТ/МРТ) головного мозга. Молекулярно-генетическое тестирование выполнено методом ПЦР в лаборатории биохимии крови РосНИИГиТ (руководитель – профессор М. Н. Блинов) и включало исследование 6 генов – факторов системы гемостаза: мутаций факторов V Leiden (FVL) и протромбина FII (G20210A), полиморфизмов генов: (С677Т) метилентетрагидрофолатредуктазы МТГФР, тромбоцитарного гликопротеина GPIIb/IIIa 1565T/C, ингибитора активатора плазминогена PAI-1 –675 «4G/5G» и фибриногена FI (-455G/A). При анализе достоверности различий частоты встречаемости указанных генотипов при мигрени и их связи с ГГЦ использовали данные К. А. Папаян (2000) о распространенности протромботических генетических вариантов

среди 338 здоровых детей в возрасте от 6 до 17 лет в Северо-Западном регионе России [2]. Полученные данные обработаны в статистической системе Statistica (серия 5.5) и SPSS в среде Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Единственным достоверным различием у больных мигренью с аурой по сравнению с контрольной группой явилось значительное преобладание среди пациентов полиморфизма С677Т гена МТГФР в 38 (57,5 %) случаях, в контрольной группе – 41,7 %, что соответствовало двукратному увеличению риска мигрени (ОШ=2,95 % ДИ: 1,2–3,5; p=0,01). Также выявлено достоверное преобладание частоты гомозиготного ТТ генотипа МТГФР при мигрени с аурой – в 11 (16,6 %) обследованных по сравнению с контрольной группой (7,7 %, p<0,05).

Полиморфизм гена тромбоцитарного гликопротеина GPIIb/IIIa (1565T/C) выявлен у 19 (31,1 %) больных при мигрени против 22,4 % в контрольной группе (p>0,05). Только у 1 из 19 больных определялась гомозигота.

Гомозиготное состояние – 455 AA гена фактора I обнаружено у 3 (4,9 %) против 2,8 % в контрольной группе (p>0,05). Обнаружено преобладание частоты гетерозиготного генотипа – 675 4G/5G гена PAI-1 у 35 (57,5 %) детей по сравнению с контрольной группой (43,3 %, p>0,05).

Мутация фактора V Leiden в гетерозиготном состоянии выявлена у 2 (1,8 %) больных, тогда как в контрольной группе – у 3,3 % здоровых детей (p>0,05).

Мутации гена протромбина 20210 G/A среди обследованных больных не выявлено.

Результаты молекулярно-генетического исследования 6 генов представлены в таблице.

Гипотеза о полигенном характере предрасположенности к мигрени диктовала необходимость поиска генетических полиморфизмов, участвующих в молекулярных механизмах патогенеза заболевания. В связи с этим особый интерес представляет анализ комбинаций полиморфизмов генов у одного и того же больного, так называемых «ассоциаций» дефектных генов 2-х или 3-х факторов, которые выявлены у 34 (51,5 %) больных мигренью с аурой, т. е. более чем у половины детей: у 39,3 % больных (26 из 66) 2 дефекта и у 12,1 % (8 из 66 больных) комбинация из 3-х различных дефектных генов. Важно подчеркнуть, что практически постоянным в их комбинациях является полиморфизм МТГФР С677Т. Наиболее часто имеются сочетания из дефектных генов МТГФР С677Т + тромбоцитарный гликопротеин GPIIb/IIIa 1565T/C – у 11 (16,6 %) больных, МТГФР С677Т + FI – 455G/A – у 12 (18,1 %) и МТГФР С677Т + PAI-1 – 675 4G/4G – у 9 (13,6 %) пациентов.

Наши исследования свидетельствуют о высокой частоте носительства отдельных генетических дефектов, характерных для тромбофилии, у больных детей с мигренью с аурой и «ассоциаций» – комбинаций дефектных генов у одних и тех же пациентов (в 51,5 % случаев). Чаще других выявлены «ассоциации» дефектных генов: тромбоцитарного гликопротеина, фибриногена и МТГФР, что

Данные генотипического обследования больных мигренью с аурой

| Исследованные гены | Генотипы | Частота встречаемости генотипа при МА из числа обследованных | |
|--|-------------|--|--------------|
| | | МА | Контроль |
| Плазменные факторы свертывания | | | |
| n | | 61 | 143 |
| Фибриноген 455 G/A | 455 (G/G) | 42 (68,8 %) | 81 (56,6 %) |
| | 455(G/A) | 16 (26,2 %) | 58 (40,6 %) |
| | 455 (A/A) | 3 (4,9 %) | 4 (2,8 %) |
| n | | 61 | 268 |
| PAI-1 675 4G/5G | 675 4G/4G | 14 (22,9 %) | 77 (28,7 %) |
| | 675 4G/5G | 35 (57,3 %) | 116 (43,3 %) |
| | 675 5G/5G | 12 (19,6 %) | 75 (28 %) |
| n | | 66 | 120 |
| Протромбин 20210G/A | 20210G/G | 0 (0,0 %) | 115 (95,8 %) |
| | 20210 G/A | 0 (0,0 %) | 5 (4,2 %) |
| | 20210 A/A | 0 (0,0 %) | 0 (0,0 %) |
| n | | 66 | 396 |
| Фактор V 1691G/A | 1691 (G/G) | 65 (98,4 %) | 383 (96,7 %) |
| | 1691 (G/A) | 1 (1,5 %) | 13 (3,3 %) |
| | 1691 (A/A) | 0 (0,0 %) | 0 (0,0 %) |
| | | | |
| Тромбоцитарные факторы свертывания | | | |
| Гликопротеин GpIIb 1565T/C | 1565 (T/T) | 42 (68,8 %) | 208 (77,6 %) |
| | 1565 (T/C) | 19 (31,1 %) | 54 (20,2 %) |
| | 1565 (C/C) | 0 (0,0 %) | 6 (2,2 %) |
| n | | 61 | 268 |
| Фермент, ответственный за метаболизм гомоцистеина | | | |
| MTГФР 677C/T | 677 (T/T) * | 11 (16,6) * | 26 (7,7 %) |
| | 677 (C/T) | 28 (42,4 %) | 115 (34 %) |
| | 677 (C/C) | 27 (40,90 %) | 197 (58,3 %) |
| n | | 66 | 338 |

* p<0,05 (сравнение с контрольной группой).

усиливает их клиническую значимость. Роль гликопротеина GpIIb 1565 T/C связывают с активацией рецепторной функции тромбоцитов и агрегацией клеток, а фибриноген является основным плазменным кофактором этого процесса. Сочетание этих дефектов способствует гипер-агрегации клеток и нарушению кровообращения, по крайней мере, в сосудах микроциркуляторного русла. Полиморфизм гена тромбоцитарного гликопротеина обнаружен нами у 31,1% больных, что значительно превышает частоту встречаемости этого генетического дефекта в здоровой популяции детей Северо-Запада (22,4%, p>0,05). Этот факт определяет активацию тромбоцитарного звена гемостаза у больных мигренью, описанную нами ранее [3]. Сведения о частоте мутации фактора V Лейден, полученные нами не согласуются с данными D. D'Amico et al., которые выявили высокую частоту резистентности к активированному протеину C и фактору V Лейден (14,5%) при обследовании 55 пациентов мигренью с аурой [5], так как в нашем исследовании она выявлена у 2 больных (1,7%). Полиморфизм C677T гена MTГФР выявлен у 59,03% больных по сравнению с 41,7% детей в здоровой популяции детей в возрасте от 6 до 17 лет Северо-Западного региона России (p<0,05). Частота гомозиготного носительства MTГФР 677TT у мигренозных больных с аурой составила 16,6%, тогда как в здоровой популяции детей Северо-Запада – 7,7% (p<0,05). Полученные нами данные согласуются с данными Kowa H. et al. (2000), который при обследовании 74 больных мигренью у взрослых, в 20,3% случаев выявил гомозиготное носительство аллеля 677T, тогда как в контрольной группе

здоровых – лишь в 9,6%, при этом частота носительства TT-генотипа у мигренозных больных с аурой достигала 40,9%, что дало ему основание признать гомозиготы по гену MTГФР генетическим фактором риска мигрени [8].

Таким образом, полученные нами данные позволяют утверждать, что наследственная тромбофилия характерна для больных мигренью. В работе доказано, что встречаемость полиморфизмов C677T гена MTГФР при МА достоверно выше по сравнению со здоровой популяцией детей. При этом гомозиготное носительство аллеля 677T MTГФР было обнаружено более чем в 2 раза чаще при МА у 16,6%, чем в контрольной группе – у 7,7%. Преобладает также распространенность дефекта гена тромбоцитарного гликопротеина GpIIb 1565 T/C по сравнению с контрольной группой: 31,1% и 22,4% соответственно. Что касается частоты мутаций фактора V Лейден, протромбина FII (G20210A) и ингибитора активатора плазминогена PAI-1-675 «4G/5G», то они не отличались от здоровых.

Впервые нами отмечены комбинации по 2-м и 3-х дефектных генов у более половины (51,5%) больных: у 39,3% по 2 и у 12,1% по 3 гена. Подобных ассоциаций в здоровой популяции не представлено в литературе. Чаще других имеются сочетания тромбоцитарного гликопротеина и фибриногена, способствующие гипер-агрегации тромбоцитов. Постоянным в этой ассоциации является полиморфизм MTГФР C677T, способствующий наличию гипергомоцистеинемии и поражению сосудистой стенки.

Выявленные молекулярно-генетические особенности следует учитывать в лечебных комплексах больных с мигренью с аурой и при планировании семьи.

ЛИТЕРАТУРА

1. Амелин, А. В. Мигрень / А. В. Амелин, Ю. Д. Игнатов, А. А. Скоромец. – СПб., 2001. – 199 с.
2. Папаян, К. А. Патогенетические механизмы развития артериальных и венозных тромбозов у детей и лиц молодого возраста: автореф. дис. ... канд. мед. наук / К. А. Папаян. – СПб., 2000.
3. Тадтаева, З. Г. Роль нарушений гемостаза в патогенезе мигрени / З. Г. Тадтаева, Ю. Л. Кацадзе // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2002. – № 2. – С. 18–25.
4. Corral, J. Migraine and prothrombotic genetic risk factors / J. Corral [et al] // Cephalalgia. – 1998. – Vol. 18 (5). – P. 257–260.
5. D'Amico, D. Genetic prothrombotic abnormalities: possible risk factors for cerebral ischaemia in young adults with migraine with aura / D'Amico [et al] // 8th International Headache Research Seminar. – Copenhagen, 1997.
6. Frosst, P. A candidate genetic risk factor for vascular disease: a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase / P. Frosst [et al] // Nat. Genet. – 1995. – Vol. 10. – P. 111–113.
7. Kaunisto, M. A. Testing of variants of the MTHFR and EDR1 genes in 1798 Finnish individuals fails to conform the association with

migraine with aura / M. A. Kaunisto [et al] // Cephalalgia. – 2006. – Vol. 26. – P. 1462–1472.

8. Kowa, H. The homozygous 677T Mutation in the Methylene-tetrahydrofolate Reductase Gene Is a Genetic Risk Factor for Migraine / H. Kowa [et al] // Am. J. Med. Genet. – 2000. – Vol. 96. – P. 762–764.

9. Sillanpaa, M. Prevalence of headache in puberty / M. Sillanpaa // Headache. – 1993. – Vol. 23. – P. 10–14.

10. The international classification of headache disorders, 2-nd Edition // Cephalalgia. – 2004. – Vol. 24. – Suppl. 1. – P. 9–160.

11. Oterino, A. MTHFR T677T homozygosity influences the presence of aura in migraineurs / A. Oterino [et al] // Cephalalgia. – 2004. – Vol. 24. – P. 491–494.

РЕЗЮМЕ

З. Г. Тадтаева, А. А. Скоромец, Ю. Л. Кацадзе

Генетические полиморфизмы системы гемостаза при мигрени с аурой у детей

Молекулярно-генетическое тестирование ДНК полиморфных вариантов генов фактора V (G1691A), метилентетрагидрофолатредуктазы – МТГФР (С677Т), протромбина (G2010A), гликопротеина IIIa (T1565C), ингибитора активатора плазминогена тканевого типа – PAI-1 (–675 4G/5G) выполняли методом ПЦР. Единственным достоверным различием у больных мигренью с аурой по сравнению с контрольной группой явилось значительное преобладание среди пациентов полиморфизма С677Т гена МТГФР в 38 (57,5 %) случаях, в контрольной группе – 41,7 %, что соответствовало двукратному увеличению риска МА (ОШ=2,95 % ДИ: 1,2–3,5; p=0,01). Также выявлено достоверное преобладание частоты гомозиготного ТТ-генотипа МТГФР при МА в 11 (16,6 %) обследованных по сравнению с контрольной группой (7,7 %, p<0,05). Полиморфизм гена тромбоцитарного гликопротеина GpIIIa (1565T/C) выявлен у 19 (31,1 %) больных при МА против 22,4 % в контрольной группе (p>0,05). Только у 1 из 19 больных определялась гомозигота. Гомозиготное состояние –455 AA гена факто-

ра I обнаружено у 3 (4,9 %) против 2,8 % в контрольной группе (p>0,05). Выявлено преобладание частоты гетерозиготного генотипа –675 4G/5G гена PAI-1 у 35 (57,5 %) детей по сравнению с контрольной группой (43,3 %, p>0,05). Мутация фактора VL выявлена у 2 (1,8 %) против 3,3 %. Полученные данные свидетельствуют об участии наследственной тромбофилии в патогенезе мигрени. Мутации гена протромбина 20210 G/A среди обследованных больных не выявлено. Впервые отмечены комбинации по 2-м и 3-х дефектных генов у 51,5 % больных.

Ключевые слова: мигрень, тромбофилия, полиморфизмы генов, дети.

SUMMARY

Z. G. Tadtava, A. A. Skoromets, U. L. Katsadze

Genetic polymorphisms of hemostasis in migraine with aura in children

Genotyping for polymorphisms in 6 genes (platelet glycoprotein IIIa, Factor I, Factor II, Factor V Leiden, PAI-1, methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) was conducted using polymerase chain reaction in 67 children with migraine with aura. Frequency of the homozygous variant TT of the MTHFR C677T polymorphism was higher (p<0.05) in patients with migraine than in controls (16.6 % and 7.7 % respectively). Frequency of glycoprotein IIIa (T1565C), homozygous variant GG for the –455G/A polymorphism of the fibrinogen (Factor I) gene and heterozygosity for the –675 4G allele of the PAI gene were higher (p>0.05) in pts comparing to the controls (31.1 % and 22.4 %; 4.9 % and 2.8 %; 57.5 % and 43.3 %, respectively). Mutation of Factor VL was rare – 1.8 % and 3.3 % respectively. Mutation of Factor II 20210A was not found. Therefore, combinations of 2 and 3 risk genetic variants were observed in 51.5 % of the patients. The results obtained imply a possible involvement of the hereditary prothrombotic factors in migraine pathogenesis.

Key words: migraine, gene polymorphism, thrombophilia, children.

© Коллектив авторов, 2009 г.

УДК 616-097-022+616.89-008.441.33]-08

В. Ю. Вальгрен, Е. М. Крупицкий,
Э. Э. Звартау, Д. В. Масалов,
А. М. Бураков, М. В. Цой-Подосенин,
Е. В. Вербицкая, Д. А. Лиознов

НАЛТРЕКСОН КАК СРЕДСТВО ПОВЫШЕНИЯ ПРИВЕРЖЕН- НОСТИ К АРВ-ТЕРАПИИ У БОЛЬНЫХ ВИЧ-ИНФЕКЦИЕЙ С СОПУТСТВУЮЩЕЙ ГЕРОИ- НОВОЙ НАРКОМАНИЕЙ

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Научно-исследовательский психоневрологический институт имени В. М. Бехтерева

Распространенность злоупотребления наркотическими веществами и заболеваний, обусловленных зависимостью от них, является одной из актуальных проблем современного здравоохранения. Употребление инъекционных наркотиков становится не только причиной инфицирования возбудителями гемоконтактных инфекций (ВИЧ, вирусы гепатита В и С), но создает трудности в лечении ВИЧ-инфекции и вирусных гепатитов у наркопотребителей [1–3].

Обеспечение универсального доступа к профилактике инфицирования, лечению, уходу и поддержке больных ВИЧ-инфекцией предполагает, что лечение необходимо предоставлять всем пациентам, нуждающимся в нем по медицинским показаниям и выразившим желание лечиться, в том числе потребителям инъекционных наркотиков. Основная проблема при ведении таких больных – это несоблюдение режима лечения, что делает его неэффективным. Часто больные, начав курс антиретровирусной терапии (АРВ-терапии), прекращают его самостоятельно.

Отказ от потребления наркотиков становится необходимым условием эффективности терапии ВИЧ-инфек-

ции. Несмотря на использование разнообразных психотропных средств и психотерапевтических программ, стойкое патологическое влечение к героину приводит к частым рецидивам заболевания. Отсутствие в стране программ заместительной терапии с применением полных агонистов (метадон) и парциальных агонистов (бупренорфин) опиоидных рецепторов осложняет оказание специализированной помощи активным потребителям опиатов. Применение полного антагониста опиоидных рецепторов налтрексона, в силу его фармакологических свойств, может повысить эффективность стабилизации ремиссии, профилактики рецидивов героиновой наркомании и способствовать повышению приверженности к АРВ-терапии у наркопотребителей, больных ВИЧ-инфекцией.

Целью настоящего исследования явилась оценка эффективности полного антагониста опиоидных рецепторов налтрексона для стабилизации ремиссий и профилактики рецидивов героиновой наркомании.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследование включены 192 больных героиновой наркоманией после завершения ими курса детоксикации. Больных случайным образом распределяли в одну из двух групп: пациенты первой группы (N=97) получали налтрексон 50 мг/сут., больные второй группы (N=95) – плацебо. Экспериментальная и контрольная группы не различались достоверно по возрасту, стажу наркомании, числу предыдущих госпитализаций и средней суточной дозе героина. Исследование проводили двойным слепым методом.

Всех больных наблюдали в клинике раз в две недели для проведения сеанса стандартизированной индивидуальной психотерапии, контроля ремиссии по тестам на опиаты в моче, комплаенса по рибофлавинову в моче, а также для проведения клинических и психометрических

оценок с помощью следующих тестов: индекса тяжести зависимости (ИТЗ) [4], визуальной аналоговой шкалы влечения к героину (ВАШВ), шкалы оценки общего функционирования (ШООФ) (DSM-IV), краткой шкалы психиатрической оценки (КШПО) [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Большую часть больных (71,9%) составили мужчины. Преобладали лица молодого возраста, средний возраст – $23,2 \pm 0,3$ года.

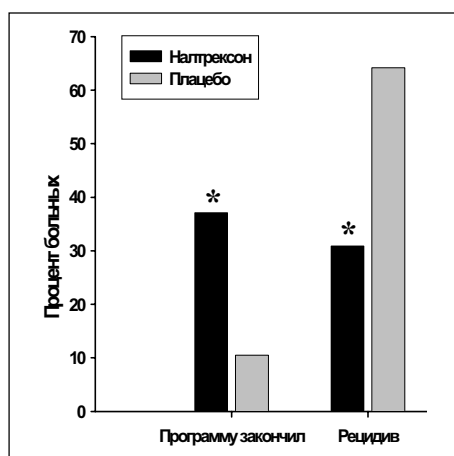
Результаты регрессионного анализа свидетельствовали о тесной взаимосвязи между выраженностью соматических проблем у пациентов по индексу тяжести зависимости ($p < 0,01$) и социальным неблагополучием по шкале оценки общего функционирования ($p < 0,01$), с одной стороны, и выраженностью патологического влечения к героину – с другой, что дает основание рассматривать направленные корригирующие вмешательства в социальную и медицинскую сферы больных как возможный способ профилактики рецидивов наркомании.

Наблюдение показало, что к концу 6-месячного срока участия в исследовании в группе больных, получавших налтрексон, рецидив наркомании наступил у 30 человек (30,9%), в то время как в группе плацебо – у 61 (64,2%, $p < 0,0001$) (рисунок).

Группа больных, получавших налтрексон, значительно отличалась от группы плацебо по числу выбывших из исследования пациентов, а также по числу больных, находящихся в ремиссии, на протяжении всего исследования. К концу срока наблюдения 35,1% больных, принимавших налтрексон, оставались в ремиссии, по сравнению с 10,5% в группе пациентов, получавших плацебо ($p = 0,0004$).

Средняя длительность удержания в программе лечения была значительно выше в группе больных, получавших налтрексон, – 22,9 (20,5–25,3) недели, по сравнению с группой плацебо – 13,1 (10,7–15,5) недели (критерий Log Rank (Mantel-Cox) $\chi^2 = 25,4$; $p < 0,0001$). Таким образом, число пациентов, завершивших исследование в ремиссии, в группе налтрексона было значительно выше, в то время как число участников исследования, выбывших по причине рецидива, было ниже, что является убедительным свидетельством большей эффективности налтрексона по сравнению с плацебо в отношении стабилизации ремиссии при героиновой наркомании.

При анализе результатов исследования мочи на содержание опиатов использовали композитную переменную, получившую название «балл эффективности терапии» (БЭТ), для расчета которой пропущенные больными визиты рассматривали как эквивалентные положительным анализам на опиаты. Выявлено, что у больных, принимавших налтрексон, БЭТ был достоверно лучше, чем в группе плацебо, начиная с четвертой недели исследования. По-видимому, больные обеих групп начинали употреблять героин с одинаковой частотой, однако результаты этого употребления были различны. У больных в груп-



Соотношение больных, закончивших программу исследования в ремиссии, и пациентов с рецидивом героиновой наркомании (по группам лечения). Статистическая значимость различий между группами:

* – $p = 0,0004$

пе плацебо употребление героина приводило, в силу прайминг-эффекта, к актуализации патологического влечения и, как следствие, к рецидиву заболевания, в то время как в группе налтрексона героин не действовал, прайминг-эффект отсутствовал, патологическое влечение не актуализировалось и больные, как правило, оставались в ремиссии.

Процент положительных анализов на рибофлавин в моче был весьма высоким и варьировал в диапазоне 80–100 % в обеих группах на всех сроках оценки среди тех больных, которые приезжали на назначенные визиты и были обследованы. Эти данные соответствовали информации о регулярности приема препарата, полученной от родственников больных, и, очевидно, свидетельствовали об успешности контроля комплаенса родственниками.

Пациенты обеих групп имели сходный профиль ИТЗ при включении в исследование. Среди тех, кто завершил шестимесячную программу лечения в обеих группах, достоверное снижение комплексных показателей произошло по шкалам «проблемы с наркотиками», «проблемы с законом», «семья и социальные связи» и «психиатрический статус». Кроме того, в группе налтрексона произошло значимое снижение уровня соматических проблем (таблица).

Большее число больных, находящихся в ремиссии в конце исследования в группе налтрексона, несмотря на относительно более низкий показатель общего социального функционирования в этой группе, вероятно, свидетельствует о том, что пациенты, получавшие налтрексон, в меньшей степени зависят от благоприятного реабилитационного фона, чем больные в группе плацебо, для которых социальная поддержка, по-видимому, является одним из ключевых факторов стабилизации ремиссии.

Эти данные, а также обнаруженная тесная взаимосвязь выраженности патологического влечения к опиатам с низким уровнем социального функционирования позволяют сделать вывод о том, что социальные факторы оказывают существенное влияние на прогноз лечения и, таким образом, коррекция социального статуса важна в комплексной схеме любого терапевтического вмешательства.

Нежелательные явления были отмечены у 11,3 % пациентов в группе налтрексона и у 8,4 % пациентов в группе плацебо. Большинство нежелательных явлений было зарегистрировано в течение первых трех месяцев после включения в исследование, при этом статистически значимых различий между группами не было. Наиболее частыми были дискомфорт в эпигастральной области, тошнота и головокружение. Назначения специального лечения в связи с побочными эффектами не требовалось.

Показатели индекса тяжести зависимости и шкалы оценки общего функционирования при включении в исследование и на завершающем визите (M±SEM)

| Шкала индекса тяжести зависимости | Группа лечения | Месяцы лечения | | Значимость различий (ANOVA для повторных измерений) |
|--------------------------------------|----------------|----------------|------------|---|
| | | 0 | 6 | |
| Соматический статус | Налтрексон | 0,14±0,04 | 0,06±0,02 | p<0,01 |
| | Плацебо | 0,30±0,07 | 0,14±0,03 | p>0,05 |
| Работа и средства к существованию | Налтрексон | 0,80±0,05 | 0,74±0,05 | p>0,05 |
| | Плацебо | 0,55±0,09 | 0,59±0,08 | p>0,05 |
| Проблемы с алкоголем | Налтрексон | 0,08±0,01 | 0,09±0,02 | p>0,05 |
| | Плацебо | 0,06±0,02 | 0,05±0,03 | p>0,05 |
| Проблемы с наркотиками | Налтрексон | 0,25±0,01 | 0,03±0,01 | p <0,0001 |
| | Плацебо | 0,28±0,02 | 0,05±0,02 | p <0,0001 |
| Проблемы с законом | Налтрексон | 0,16±0,04 | 0,05±0,02 | p<0,05 |
| | Плацебо | 0,21±0,04 | 0,01±0,01 | p<0,05 |
| Семья и социальные связи | Налтрексон | 0,35±0,04 | 0,06±0,02 | p <0,0001 |
| | Плацебо | 0,28±0,07 | 0,13±0,03 | p <0,0001 |
| Психиатрический статус | Налтрексон | 0,22±0,03 | 0,05±0,02 | p <0,0001 |
| | Плацебо | 0,16±0,05 | 0,09±0,03 | p<0,05 |
| Шкала оценки общего функционирования | Налтрексон | 48,0±1,4 | 82,4±2,0 * | p<0,0001 |
| | Плацебо | 48,3±2,5 | 89,6±3,6 * | p<0,0001 |

* статистическая значимость различий между экспериментальной и контрольной группами p=0,01.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование демонстрирует эффективность налтрексона для стабилизации ремиссии и профилактики рецидивов у больных героиновой наркоманией. Стойкая ремиссия создает благоприятные условия для эффективной этиотропной терапии у больных ВИЧ-инфекцией с сопутствующей героиновой наркоманией. Таким образом, применение налтрексона в комплексной терапии ВИЧ-инфекции у наркопотребителей может способствовать повышению их приверженности к АРВ-терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Звартау, Э. Э. Коморбидность наркологических и социально значимых инфекционных заболеваний в Санкт-Петербурге и Ленинградской области / Э. Э. Звартау [и др.] // Вопросы наркологии. – 2005. – № 2. – С. 68–73.
2. Онищенко, Г. Г. Пандемия ВИЧ-инфекции: экспертные оценки, принимаемые меры со стороны государства / Г. Г. Онищенко // Журнал микробиол. – 2006. – № 6. – С. 25–30.
3. Онищенко, Г. Г. Проблема ВИЧ-инфекции в Российской Федерации / Г. Г. Онищенко // Здравоохранение РФ. – 2005. – № 5. – С. 19–25.
4. McLellan, A. New data from the Addiction Severity Index: Reliability and validity in three centers / A. McLellan [et al] // Journal of Nervous and Mental Disease. – 1985. – № 173. – P. 412–423.
5. Overall, J. E. The brief psychiatric rating scale / J. E. Overall, D. R. Gorham // Psychological Reports. – 1962. – № 10. – P. 799–812.

РЕЗЮМЕ

В. Ю. Вальгрен, Е. М. Крупицкий, Э. Э. Звартау, Д. В. Масалов, А. М. Бураков, М. В. Цой-Подосенин, Е. В. Вербицкая, Д. А. Лиознов

Налтрексон как средство повышения приверженности к АРВ-терапии у больных ВИЧ-инфекцией с сопутствующей героиновой наркоманией

Статья посвящена одному из важнейших вопросов современной наркологии – стабилизации ремиссий и профилактике

рецидивов героиновой наркомании. Несмотря на использование разнообразных психотропных средств и психотерапевтических программ, патологическое влечение к героину приводит к частым рецидивам заболевания. Употребление инъекционных наркотиков становится не только причиной инфицирования ВИЧ и вирусами гепатитов В и С, но создает трудности в лечении этих хронических вирусных инфекций и вирусных гепатитов у наркопотребителей. В работе проведена оценка эффективности полного антагониста опиоидных рецепторов налтрексона для стабилизации ремиссий и профилактики рецидивов героиновой наркомании. Продемонстрирована эффективность налтрексона в лечении героиновой наркомании. Налтрексон рекомендован для комплексной терапии ВИЧ-инфекции у наркопотребителей для повышения приверженности к АРВ-терапии.

Ключевые слова: героиновая наркомания, налтрексон, ВИЧ-инфекция, АРВ-терапия.

SUMMARY

V. U. Val'gren, E. M. Krupitsky, E. E. Zvartau, D. V. Masalov, A. M. Burakov, M. V. Zoy-Podosenin, E. V. Verbitskaya, D. A. Lioznov

Naltrexone as a medication to improve adherence to ARV-therapy in HIV-infected heroin addicts

The article is devoted to prevention of heroin addiction relapses. Diverse psychotropics and psychotherapeutic programs are not always successful in treatment of heroin addicts. Drug injections not only induce HIV, HCV, and HBV infections but they lead to poor adherence to ARV-therapy in intravenous drug users as well. The authors have studied the efficacy of Naltrexone in prevention of heroin addiction relapses. Naltrexone has been proved to be effective in heroin addiction treatment. Naltrexone might be used to improve adherence to ARV-therapy in HIV-infected heroin addicts.

Key words: heroin addiction, Naltrexone, HIV-infection, ARV-therapy.

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 616.98:578.835.16:612.017.1]-092.4

**П. П. Бельтюков, И. Н. Абдурасулова,
Е. И. Тарасова, А. Н. Суворов,
Е. Т. Захарова, А. В. Соколов,
М. Н. Карпенко, Е. И. Ермоленко**

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ЭШЕРИХИЙ И ЭНТЕРОКОККОВ НА ИММУННУЮ СИСТЕМУ ЗДОРОВЫХ КРЫС

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, НИИ Экспериментальной медицины РАМН, Федеральный центр сердца крови и эндокринологии имени В. А. Алмазова

В настоящее время в связи с возрастанием числа заболеваний инфекционной природы и частым развитием иммунодефицитных состояний особую актуальность приобретает проблема использования пробиотических пищевых продуктов и препаратов, содержащих живые непатогенные микроорганизмы, чаще всего лактобациллы, бифидобактерии, энтерококки и эшерихии, с целью регуляции деятельности иммунной системы. Доказана относительная иммунологическая толерантность организма к пробиотическим бактериям и их способность оставаться в организме хозяина в большинстве случаев кратковременно, не нарушая в нем естественного биоценоза, лишь помогая функционированию систем и органов [1, 2, 18]. Пробиотические микроорганизмы могут по-разному влиять на организм хозяина в зависимости от особенностей строения их поверхностных структур, а также от продуктов метаболизма. Выявлено избирательное влияние отдельных компонентов клеточных стенок грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также

поверхностных полисахаридов (лактобацилл и энтерококков) на рецепторы, расположенные в мембранах иммунокомпетентных клеток или секретируемых ими [4, 5, 8, 17, 19]. В то же время иммуномодулирующие эффекты пробиотических культур изучены недостаточно. Накоплено небольшое количество данных, полученных при терапии инфекционных заболеваний и атопии с использованием пробиотиков [1, 2, 13]. Большинство исследований иммуномодулирующих эффектов проведено *in vitro* на культурах клеток, обладающих ограниченным набором рецепторов и способных продуцировать узкий спектр цитокинов. При этом не создается целостной картины влияния пробиотических культур на иммунную систему. Влияние пробиотиков на иммунные показатели рыб [20], грызунов [19, 21], свиней [23], собак [9] и птиц [15] оценивали в большинстве случаев с использованием лактобацилл и бифидобактерий, а полученные результаты носят противоречивый характер.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния пробиотических энтерококков и эшерихий на некоторые иммунологические показатели здоровых млекопитающих.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 42 половозрелых самках крыс породы Вистар (масса 200–250 г). Ежедневно в одно и то же время в течение 14 дней животным из первой группы (n=12) вводили внутривенно 500 мкл молочной закваски, содержащей $5,5 \times 10^8$ КОЕ/мл *Enterococcus faecium* L3 («Ламинолакт», ООО «Авена», Россия). Вторая группа животных (n=12) получала по такой же схеме молочную закваску, содержащую $5,5 \times 10^8$ КОЕ/мл *Escherichia coli* M17 («Бификол», ООО «Фермент», Россия). В третьей контрольной группе (n=12) вместо закваски животные получали молоко. Также в качестве контроля использовали интактных крыс (n=6) (группа 4).

Содержание IgA, IgM, IgG₁ и IgG₂ в сыворотках крови определяли методом осаждения с ZnSO₄ [7]. Функцио-

нальную активность С3-компонента комплемента в сыворотке крови оценивали по результатам кинетической регистрации комплементзависимого гемолиза эритроцитов кролика в присутствии реагента РСЗ из сыворотки крови человека после обработки монометиламином [6, 16]. Церулоплазмин (ЦП) определяли фотометрически при 530 нм по окислению пара-фенилендиамина [22]. На заключительном этапе исследования животных декапитировали, отбирали пробы крови и выделяли лимфатические узлы брыжейки. Из лимфатических узлов получали РНК. Методом ОТ-ПЦР определяли экспрессию генов цитокинов с использованием сконструированных нами праймеров.

Обработку и статистический анализ результатов проводили с использованием стандартных пакетов программ Microsoft® Office Excel с использованием t-критерия Стьюдента, критерия Фишера и непараметрического критерия Вилкоксона–Манна–Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящей работе с использованием в качестве биологической модели крысы было проведено комплексное исследование влияния грамположительных и грамотрицательных пробиотических культур на содержание церулоплазмينا, иммуноглобулинов и на характеристики функциональной активности С3-компонента комплемента в плазме и в сыворотке крови, а также на мРНК цитокинов в лимфоузлах брыжейки.

Оценка наличия признаков воспалительного ответа на введение пробиотиков проведена путем исследования уровня ЦП в плазме крови животных. Концентрация ЦП повышается при воспалении различной этиологии в результате усиления экспрессии гена этого Cu^{2+} -содержащего белка, интерфероном- α и цитокинами [14]. Содержание ЦП в плазме на 14-й день наблюдений не отличалось существенно в разных группах животных (рис. 1), что свидетельствует об отсутствии воспалительной реакции. Аналогичные результаты получены при исследовании плазмы крови на 7-й день эксперимента.

Исследование содержания IgA, IgM и IgG₁ в сыворотках крови не выявило достоверных различий этих показателей в разных группах. За исключением несколько сниженной концентрации IgG₁ (2,075 г/л) у крыс, получавших энтерококки, содержание IgA, IgM, IgG₁ на 7-й и 14-й дни наблюдений (рис. 2) было в пределах нормальных значений этих показателей у здоровых взрослых крыс (0,7–0,9; 0,5–0,6; 2,3–2,5 г/л соответственно). Следует отметить, что наши результаты коррелируют с данными, полученными другими исследователями, не выявившими существенных изменений в сыворотке крови животных [18, 23] и людей [1, 8] на фоне использования пробиотических препаратов. Некоторые авторы отмечали повышение уровней IgA и IgM в отделяемом из слизистых кишечника, влагалища животных и, в меньшей степени, в сыворотке крови при приеме пробиотических препаратов [8]; или указывали на наличие штам-

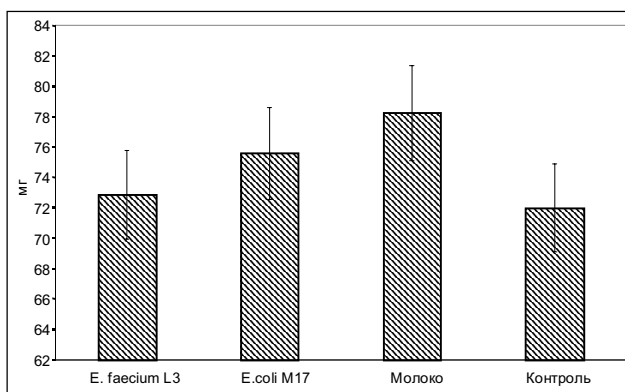


Рис. 1. Содержание ЦП в плазме крови крыс на 14-й день наблюдений

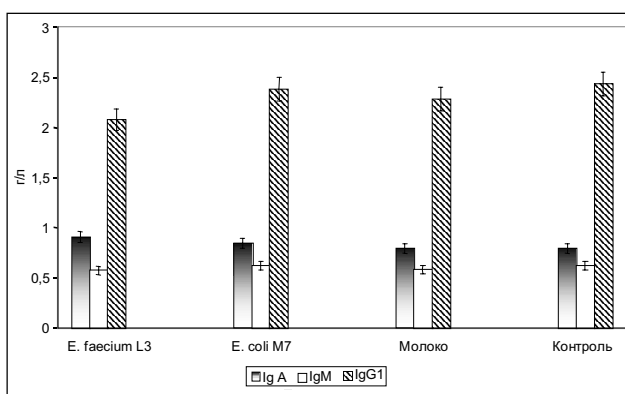


Рис. 2. Содержание иммуноглобулинов в сыворотках на 14-й день исследования

мовых особенностей лактобацилл и лактококков в реализации данных эффектов, определяемых, в основном, способностью этих бактерий к транслокации за пределы *lamina propria* слизистой [18, 20]. Следует отметить, что в этих случаях удавалось обнаружить как специфические антитела, направленные против этих бактерий, так и нормальные иммуноглобулины. Таким образом, еще одним объяснением штаммовых особенностей действия пробиотиков на уровень продукции иммуногло-

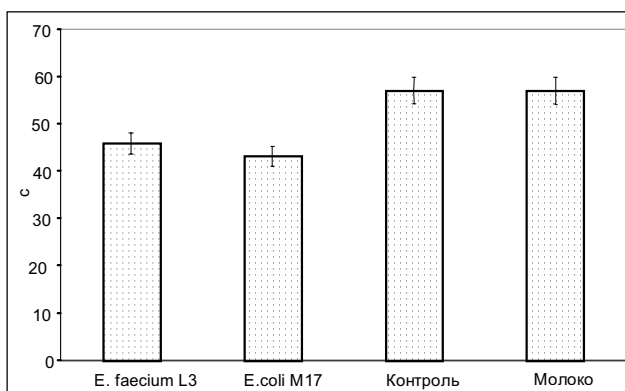


Рис. 3. Показатель T_{reg} при исследовании активности С3 в сыворотках крыс на 14-й день

булинов может быть развитие специфического иммунного ответа на антигены этих микроорганизмов. Возможно, что пробиотики играют роль адьювантов или стимулируют иммунные реакции в отношении антигенов патогенных микроорганизмов. Это подтверждается увеличением синтеза специфических антител против возбудителей различных инфекций на фоне введения молочнокислых бактерий [8, 18]. Выявленное нами отсутствие значимых различий в уровнях иммуноглобулинов в группах исследованных животных, вероятно, указывает на наличие у них некоторой иммунологической толерантности на введение пробиотиков на основе *Enterococcus faecium* L3 и *E. coli* M17.

Общеизвестно, что активация системы комплемента может происходить по альтернативному пути в результате действия активаторов (в том числе, при активации полисахаридами клеточной стенки микробов), при образовании комплексов антиген-антитело по классическому пути или в результате активации по лектиновому пути при контакте с клеточными стенками патогенных, чаще грамотрицательных бактерий, содержащими липополисахариды (ЛПС) [4, 5]. В наших исследованиях при оценке функциональной активности системы комплемента по результатам кинетической регистрации комплемент-зависимого гемолиза эритроцитов кролика в присутствии реагента RC3 была обнаружена более высокая активность C3-компонента в сыворотке крови крыс, получавших пробиотические закваски ($p < 0,01$), причем только на 14-й день наблюдений. Это проявлялось в уменьшении показателя T_{lag} времени до начала гемолиза ($43 \pm 13,1$ с и $45,8 \pm 6,9$ с) в группах животных, получающих молочнокислые закваски с эшерихиями и энтерококками, в отличие от крыс, получавших молоко и от интактной группы ($56,7 \pm 15,5$ с и $57,1 \pm 17,8$ с). Следует отметить, что на 7-й день наблюдений величины T_{lag} у крыс всех четырех групп не отличались существенно друг от друга и находились в пределах от 55,5 до 57,4 секунды. Полученные результаты отражают не концентрацию исследованного компонента C3, являющегося центральным звеном активации системы комплемента, а его функциональную активность, которая изменялась только при длительном использовании пробиотических препаратов. Возможно, это связано с активацией одного из звеньев врожденного иммунитета в ответ на избыточное накопление на слизистых оболочках вводимых чужеродных живых бактерий. Влияние пробиотических препаратов на актив-

ность системы комплемента до настоящего времени исследовано мало. Из литературы известно лишь, что уровень C3 в крови может увеличиваться при пероральном введении животным некоторых пробиотических добавок, например, сахаромыцетов [12]. Также отмечена активация комплемента по альтернативному пути при добавлении в корм рыбам живых и убитых культур *Lactobacillus rhamnosus* JCM 1136 [19]. В организмах млекопитающих и рыб обнаружены одинаковые рецепторы, принимающие участие в иммунных реакциях, и выявляются общие закономерности [11], подтверждающие, что система комплемента является одним из филогенетически наиболее древних механизмов иммунной защиты.

Особый интерес представляют данные, полученные при исследовании мРНК из брыжеечных лимфоузлов крыс на 7-й и 14-й день исследования. Удалось зарегистрировать различия в уровнях экспрессии генов интерлейкинов только после семидневного воздействия молочнокислой закваской, содержащей энтерококки. У этой группы животных был более высокий уровень экспрессии генов ИЛ-8 и ИЛ-10 по сравнению с другими животными. Через 14 дней исследования не удалось обнаружить достоверных различий в продукции анализируемых цитокинов (таблица). Исключение составила одна крыса, получавшая молочный продукт с эшерихиями.

Сравнительные исследования влияния на иммунитет грамотрицательных и грамположительных бактерий ранее проводились на других штаммах бактерий в системах *in vitro* и *in vivo*. При помощи ОТ-ПЦР и с использованием моноклональных антител показано, что лактобациллы, лактококки, энтерококки, бактероиды и эшерихии могут как ингибировать, так и стимулировать выработку ряда цитокинов: ТНФ- α , ИЛ-8 и МСР-1 [10, 24], ТГФ- β , ИЛ-1 β , ТНФ- α , ИЛ-6, ИЛ-18, β -дефенсин 3 и других [17], а также ИЛ-4 и ИЛ-10, что может привести к более вероятному развитию иммунных реакций по пути ТХ2 [8]. Для каждого исследованного штамма выявлены специфические особенности влияния на продукцию цитокинов, экспрессию рецепторов и адгезивных молекул на поверхности различных клеточных культур эпителиоидного и лимфоидного происхождения. Уникальными являются способность некоторых штаммов энтерококков и лактобацилл вызывать ингибирование патернассоциированных рецепторов TLR2, TLR4, TLR9 [19], участвующих в распознавании пептидогликана, ЛПС и флагеллинов, а также недавно выявленный эффект полисахаридов энтерококков вызывать стимуляцию ИЛ-8 [24]. Особенностью действия эшерихий как типичного представителя грамотрицательных бактерий является более эффективная стимуляция фагоцитоза, запуск лектинового пути активации системы комплемента и стимуляция фагоцитов за счет маннозосодержащих лигандов, а также воздействие на иммунокомпетентные клетки при помощи белков, связывающих ЛПС [4].

Экспрессия цитокинов клетками брыжеечных лимфоузлов крыс (ОТ-ПЦР)

| Группа животных | ИЛ-1 | | ИЛ-8 | | ИЛ-10 | | ИЛ-18 | |
|----------------------|------|----|-------|----|-------|-----|-------|----|
| | 7 | 14 | 7 | 14 | 7 | 14 | 7 | 14 |
| <i>E. faecium</i> L3 | + | + | 2/6 * | | 4/6 | | + | + |
| <i>E. coli</i> M17 | + | + | | | | 1/6 | + | + |
| Молоко | + | + | 1/6 | | 1/6 | | + | + |
| Контроль | + | + | | | | | + | + |

* количество животных с указанным признаком к общему числу животных в группе.

Полученные результаты фактически являются описанием индивидуальных характеристик действия *E. faecium* L3 и *E. coli* M17, которые нередко используются с профилактической и лечебной целью при широком круге заболеваний инфекционной природы, аллергических реакция и при метаболических нарушениях [2]. На биологической модели показана способность этих бактерий, не вызывая воспалительной реакции, влиять на механизмы врожденного иммунитета, проявляя себя на этапе цитокинового ответа, стимуляцией как противовоспалительных, так и провоспалительных цитокинов и системы комплемента. Показаны индивидуальные особенности рассматриваемого штамма энтерококков – вызывать стимуляцию ИЛ-10 и ИЛ-8, первый из которых может стимулировать иммунный ответ по ТХ2 типу и ингибировать клеточный иммунитет, а второй является хемотактантом, привлекающим лейкоциты и макрофаги [6] в зону введения пробиотического препарата. В целом показано, что иммуномодулирующее воздействие пробиотических бактерий – динамический процесс, который сложно контролировать даже при наличии комплексного подхода исследований. Однако зная особенности действия пробиотических культур, можно разработать рациональные подходы к использованию различных пробиотиков.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондаренко, В. М. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков / В. М. Бондаренко, Э. И. Рубакова, В. А. Лаврова // Журн. микробиол. – 1998. – № 5. – С. 107–112.
2. Доронин, А. Ф. Функциональное питание / А. Ф. Доронин, Б. А. Шендеров. – М., 2002. – 296 с.
3. Грибова, И. А. Гематологическая норма / И. А. Грибова // Руководство по гематологии. – М., 1979. – С. 54.
4. Кетлинский, С. А. Цитокины / С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев. – СПб: «Издательство фолиант», 2008. – 552 с.
5. Кокряков, В. Н. Очерки о врожденном иммунитете / В. Н. Кокряков. – СПб., 2006. – 261 с.
6. Халяпин, Б. Д. Кинетический метод количественного определения комплемента / Б. Д. Халяпин, А. А. Прокопьев // Иммунология. – 1986. – № 3. – С. 66–69.
7. Холод, В. М. Справочник по ветеринарной биохимии / В. М. Холод, Г. Ф. Ермолаев. – Минск, 1988. – С. 86–87.
8. Хорошилова, Н. В. Иммуномодулирующее и лечебное действие пробиотиков / Н. В. Хорошилова // Иммунология. – 2006. – № 6. – С. 252–256.
9. Benyacub, J. Supplementation of food with *Enterococcus faecium* (SF68) stimulates immune functions in young dogs / J. Benyacub [et al] // J. Nutr. – 2003. – Vol. 133. – P. 1158–1162.
10. Blum, S. Intestinal microflora and the interaction with immunocompetent cells / S. Blum, S. Alvares, D. Haller // Antonie van Leeuwenhoek. – 1999. – Vol. 76. – P. 199–205.
11. Boshra, T. Characterization of a C3a Receptor in Rainbow Trout and Xenopus : The First Identification of C3a Receptors in Nonmammalian Species / T. Boshra [et al] // J. Immunol. – 2005. – Vol. 175. – P. 2427–2437.
12. Caetano, J. A. Immunopharmacological effects of *Saccharomyces boulardii* in healthy human volunteers / J. A. Caetano [et al] // Int. J. Immunopharmacol. – 1986. – Vol. 8. – P. 245–259.
13. Elmer, G. W. Probiotics : «living drugs» / G. W. Elmer // American Journal of Health-System Pharmacy. – 2001. – Vol. 58. – № 12. – P. 1101–1109.
14. Gutteridge, J. M. C. Caeruloplasmin: physiological and pathological perspectives / J. M. C. Gutteridge, J. Stocks // Cri. Rev. Clin. Lab. Sci. – 1981. – P. 257–329.
15. Haghghi, H. R. Modulation of antibody-mediated immune response by probiotics in chickens / H. R. Haghghi // Clin. Diagn. Lab. Immunol. – 2005. – Vol. 2 – P. 1387–1392.
16. Jessen, T. E. A simple alternative pathway for hemolytic assay of human complement component C3 using methylamine-treated plasma / T. E. Jessen, V. Barkholt, K. G. Welinder // J. Immunol. Methods. – 1983. – Vol. 60. – № 1–2. – P. 89–100.
17. Lan, J.-G. Different cytokine response of primary colonic epithelial cells to commensal bacteria / J.-G. Lan [et al] // World Gastroenterol. – 2005. – Vol. 11. – № 22. – P. 3375–3384.
18. Lebenthal, E. Пробиотики : концепция лечебного применения, ожидающая своего признания / E. Lebenthal, Y. Lebenthal // Журн. микробиол. – 2003. – Т. 4. – С. 8–9.
19. Maldonado Galdeano, C. Proposed model: mechanisms of immunomodulation induced by probiotic bacteria / C. Maldonado Galdeano [et al] // Clinical and Vaccine Immunology. – 2007. – Vol. 14. – № 5. – P. 484–492.
20. Panigrahi, A. The viability of probiotic bacteria as a factor influencing the immune response in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* / A. Panigrahi // Aquaculture. – 2005. – Vol. 243. – № 1–4. – P. 241–254.
21. Perdigon, G. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system / G. Perdigon, R. Fuller, R. Raya // Curr. Issues Intest. Microbiol. – 2001. – Vol. 2. – № 1. – P. 27–42.
22. Ravin, H. A. An improved colorimetric enzymatic assay for caeruloplasmin / H. A. Ravin // J. Lab. Clin. Med. – 1961. – Vol. 58. – P. 161.
23. Scharek, L. Impact of the probiotic bacteria *Enterococcus faecium* NCIMB 10415 (SF68) and *Bacillus cereus* var toyoi NCIMB 40112 on the development of serum IgG and faecal IgA of sows and their piglets / L. Scharek [et al] // Arch. Anim. Nutr. – 2007. – Vol. 61. – P. 223–234.
24. Wang, S. Infant intestinal *Enterococcus faecalis* down-regulates inflammatory responses in human intestine al cell lines / S. Wang [et al] // World J. Gastroenterology. – 2008. – Vol. 14. – № 7. – P. 1067–1076.

РЕЗЮМЕ

П. П. Бельтюков, И. Н. Абдурасулова, Е. И. Тарасова, А. Н. Суворов, Е. Т. Захарова, А. В. Соколов, М. Н. Карпенко, Е. И. Ермоленко

Исследование влияния пробиотических эшерихий и энтерококков на иммунную систему здоровых крыс

Сравнительное исследование курсового внутрижелудочного введения молочных заквасок, содержащих *E. coli* M17 или *E. faecium* L3 самкам крыс Вистар выявило их способность активировать как врожденный, так и приобретенный иммунитет, а также индивидуальные особенности иммуномодулирующего действия пробиотических бактерий. Через 14 дней у всех крыс, получавших пробиотики в отличие от контрольных групп животных наблюдалось увеличение функциональной активности С3 компонента системы комплемента. Через 7 дней у крыс, которым вводили энтерококки, отмечено усиление экспрессии генов ИЛ-8 и ИЛ-10 в мезентериальных лимфоузлах, у всех крыс отмечена умеренно выраженная экспрессия генов ИЛ1β и ИЛ-18. На фоне введения пробиотиков не обнаружено существенных изменений содержания IgA, IgM, IgG1 в сыворотке крови животных, а также белка острой фазы – церулоплазмينا.

Ключевые слова: комплемент, цитокины, пробиотики, эшерихии, энтерококки, иммуноглобулины.

SUMMARY

P. P. Bel'tiukov, I. N. Abdurasulova, E. A. Tarasova, A. N. Suvorov, E. T. Zakharova, A. V. Sokolov, M. N. Karpenko, E. I. Ermolenko

Influence of probiotic Escherichia and Enterococci on the immune system of healthy rats

A comparative study of a course of intragastric injections of fermented milk products with *E. coli* M17 or *Enterococcus faecium* L3 to female Wistar rats revealed their ability to activate both innate and acquired immunity, as well as individual characteristics of

immunomodulating properties of probiotic bacteria. In 14 days, all rats on probiotics demonstrated an increase in functional activity of the C3 component of complement in contrast to the control groups of animals. In 7 days the rats with injected enterococci showed marked enhancement of gene expression of IL-8 and IL-10 in mesenteric nodes. All rats had moderately expressed genes of IL-1 β and IL-18. During injection of probiotics there were no significant changes in the content of IgA, IgM, IgG1 in the serum of the animals nor of an acute phase protein – ceruloplasmin either.

Key words: complement, cytokines, probiotics, *Escherichia*, enterococci, immunoglobulins.

© И. Б. Савин, 2009 г.
УДК 616.72-002.5-089:616.71-008.9]-07

И. Б. Савин

ПРИМЕНЕНИЕ ОСТЕОСЦИНТИГРАФИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ МЕТАБОЛИЗМА В КОСТНОЙ ТКАНИ ПРИ ТУБЕРКУЛЕЗНОМ И НЕСПЕЦИФИЧЕСКОМ ПОРАЖЕНИИ КРУПНЫХ СУСТАВОВ ДО И ПОСЛЕ ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ

Санкт-Петербургский государственный НИИ фтизиопульмонологии

В настоящее время область применения остеосцинтиграфии (ОСГ) в неонкологической практике значительно расширилась. Выявлена большая чувствительность метода при первичных поражениях суставов и субклиническом течении артрита [1, 2]. Радионуклидные методы не являются специфичными вообще, и для туберкулеза в частности. Однако благодаря максимальной физиологичности метода достигается объективная оценка состояния костной ткани при туберкулезе и патологических изменений в ней. Остеосцинтиграфия имеет важное значение в наблюдении за реваскуляризованными аутотрансплантатами как в ближайшем, так и в отдаленном послеоперационном периодах [3–5].

Целью данной работы является количественная оценка метаболизма в костной ткани на различных фазах туберкулезного и неспецифического воспаления крупных суставов и их последствий и изучение результативности различных пластических операций (течения репаративных процессов) с применением несвободной костной пластики и без нее в ближайшем и отдаленном послеоперационном периодах методом остеосцинтиграфии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В клинике СПбНИИФ с 1992 по 2006 гг. проведено 513 радионуклидных исследования 385 пациентам в воз-

расте от 16 до 74 лет с поражением крупных суставов (туберкулезное – 228: остит – 4, артрит – 152, посттуберкулезный артроз – 72; нетуберкулезное – 165: неспецифические артриты – 69, дистрофические заболевания – 88, в том числе деформирующий артроз – 46 и асептический некроз головки бедренной кости – 42). Наиболее часто встречались поражения тазобедренного и коленного суставов – 82,5%: 238 и 80 пациентов соответственно, реже – остальные суставы: голеностопный – 16, плечевой – 28, локтевой – 14, лучезапястный – 11. В стадии туберкулезного поражения обследовали пациентов: разгара – 115, затихания – 21; при синовитах – 16. Последствия туберкулезных артритов (ПТА) – артрозы – разделены на 2 группы: основную (ПТА-осн.) – 46 человек, перенесших коксит в зрелом возрасте, и группу с выраженной атрофией костной ткани – метатуберкулезные артрозы (МТА-атр.) – 26 человек, перенесших остит или коксит в раннем детстве. Неспецифические поражения суставов распределены следующим образом: синовиты – 8, активные артриты – 46, затихания – 15. В том числе 46, находящихся с деформирующим артрозом (ДА): I–II стадии – 21, III–IV – 25. Соответственно 42 пациента асептическим некрозом головки бедренной кости (АНГБ) распределились как I–II стадии – 13, III–IV – 29.

ОСГ проведена 106 пациентам до и через 2–3 месяца после операции (туберкулезное поражение – 76 человек, нетуберкулезное – 30). В отдаленные сроки (от 9 месяцев и более) обследованы 22 пациента. В зависимости от вида оперативного вмешательства пациенты распределены на 4 группы: I – мобилизирующие операции с реваскуляризацией тканей сустава – 32, II – мобилизирующие без реваскуляризации – 32, III – стабилизирующие с реваскуляризацией – 11, IV – стабилизирующие без реваскуляризации (резекции) – 31. Отдаленные результаты после операций были прослежены у следующих пациентов: I группы – 5, II – 9, IV – 8.

Радионуклидные исследования проводили на гамма-камере «МВ 9100» фирмы «ГАММА» (ВНР) с системой обработки изображения ИВК «ГАММА» на базе мини-ЭВМ СМ-4 и современной компьютерной системы «СЦИНТИПРО». В качестве радиофармпрепарата (РФП) использовали ^{99m}Tc-технефор активностью 400 МБк. Количественная обработка скинтиграфических данных

проводилась сравнением содержания препарата в симметричных зонах костей (суставах) в процентах по стандартной методике с некоторой модификацией обработки изображения. Уровень фона определялся по изображению в относительных величинах (%), пересчитывался в абсолютные (количество импульсов) по максимальному счету в ячейке, который затем вычитался из каждого элемента матрицы.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ данных показал, что при туберкулезном остите уровень накопления препарата в области пораженного сустава был различным: в активной фазе, когда специфический процесс выражен и приближается к суставу, гиперфиксация (ГФ) составляла $186,0 \pm 6,0\%$, при затихании снижается и приближается к норме – $113,5 \pm 9,5\%$. В артритической фазе ГФ отмечается как у пациентов активным процессом (синовит и стадия разгара), так и при неактивном туберкулезе суставов в стадии затихания, и составила в среднем $273,4 \pm 12,64\%$, но уровень накопления в различных стадиях течения туберкулезного артрита отличается. При туберкулезном синовите и в стадии разгара в артритической фазе наблюдалась высокая ГФ – $334,69 \pm 16,94\%$ и $272,9 \pm 6,9\%$ соответственно, причем при синовите достоверно выше ($p < 0,001$). При туберкулезных артритах в стадии разгара, осложненных свищами и абсцессами (41 больной – $27,5\%$), накопление резко возрастало и в среднем составляло $374,73 \pm 37,85\%$, с достоверной разницей с основной группой ($p < 0,01$), а в 8 случаях ($19,5\%$) осложненных форм повышение накопления достигало 5–15-кратного превышения ($500–1470\%$). В стадии затихания туберкулезных артритов ГФ снижалась и становилась незначительной – $148,9 \pm 4,44\%$, а у некоторых приближалась к норме и составляла $120–123\%$.

При последствиях туберкулезного процесса в суставах, метатуберкулезных артрозах показатели ОСГ были высокими $212,8 \pm 10,16\%$, но по сравнению с артритической стадией достоверно ниже ($p < 0,001$). При этом из числа постспецифических артрозов выделялась группа с атрофией костей суставов (заболевание с 3–4-летнего возраста), где при типичных рентгенологических проявлениях артроза ГФ препарата была незначительной – $126,4 \pm 3,34\%$.

При неспецифических артритах уровень накопления РФП высокий – $246,6 \pm 11,79\%$, но достоверно не отличался от туберкулезного поражения. У пациентов с неспецифическими синовитами ГФ была высокой – $309,4 \pm 32,39\%$, несколько снижаясь при активной фазе артритов – $270,4 \pm 13,21\%$. В стадии затихания накопление препарата было незначительным – $141,6 \pm 5,71\%$.

Дегенеративно-дистрофические поражения показали в среднем высокое накопление РФП – $228,0 \pm 7,62\%$, однако также различались в зависимости от стадии артроза. Так, при I–II стадиях ДА и АНГБ ГФ была менее выраженной – $165,5 \pm 5,39\%$ и $181,2 \pm 6,61\%$ соответственно, а на III–

IV стадии ДА и АНГБ при выраженных продуктивных реакциях костной ткани ГФ была высокой – $262,6 \pm 9,98\%$ и $264,2 \pm 15,16\%$ соответственно ($p < 0,001$).

После проведения мобилизирующих операций с несвободной костной пластикой (в I группе) уровень гиперфиксации РФП повысился в 1,52 раза и составил $292,1 \pm 16,25\%$ ($p < 0,001$). При пластических операциях без реваскуляризации костного ложа (группа II) динамика ГФ менее выражена: у 26 ($81,2\%$) пациентов наблюдалось усиление накопления РФП в 1,34 раза, у 6 ($18,8\%$) – снижение с кратностью изменений 1,39 раза по сравнению с исходным уровнем; без достоверности различий с накоплением препарата до операции. У 11 пациентов, перенесших операции резекции суставов с реваскуляризацией (группа III), показатели ГФ практически не отличались от исходных: $222,2 \pm 23,02\%$ и $225,9 \pm 24,88\%$ соответственно, причем, у 7 ($63,6\%$) пациентов наблюдалось незначительное усиление ГФ в 1,22 раза и у 4 ($36,4\%$) – снижение в 1,38 раза. В группе больных, которым выполнены резекции традиционными методами, отмечено достоверное снижение ГФ: до операции – $263,7 \pm 18,48\%$ и после операции – $213,8 \pm 12,79\%$ ($p < 0,05$), и у 18 ($69,2\%$) кратность снижения была достаточно выраженной – в 1,53 раза.

Во всех группах в отдаленном послеоперационном периоде выявлено снижение ГФ препарата по сравнению с ближайшим послеоперационным периодом. У больных, перенесших мобилизирующие операции с реваскуляризацией костного ложа, ГФ в области пораженных суставов до операции составила $151,0 \pm 21,85\%$, через 2–3 месяца после операции она достоверно повысилась до $242,0 \pm 39,76\%$ ($p < 0,05$), а через 1–3 года достоверно снижалась до исходной ($p < 0,05$). У пациентов, которым выполнены вмешательства без реваскуляризации, эти показатели сохранили тенденцию к усилению накопления в ближайшем послеоперационном периоде и снижение в отдаленные сроки, но менее выраженные, без достоверного различия. После резекций суставов без реваскуляризации через 2–3 месяца отмечалось снижение ГФ до $224,33 \pm 21,81\%$ и затем дальнейшее снижение в отдаленном периоде до $181,0 \pm 37,68\%$. Следует отметить, что кратность снижения накопления РФП в I и II группах после мобилизирующих операций в отдаленные сроки составила 1,59 и 1,44 раза соответственно, а в IV после стабилизирующих операций наблюдались различные изменения ГФ: у половины отмечалось снижение – в 1,6 раза, у 25% – повышение и у 25% – накопление оставалось прежним.

ВЫВОДЫ

1. Метод остеосцинтиграфии у больных туберкулезными, неспецифическими и дистрофическими поражениями крупных суставов позволил количественно оценить состояние костной ткани по выраженности накопления РФП на различных фазах развития патологии и определить степень активности основного процесса, а также оценить динамику репаративных процессов пос-

ле различных видов оперативных вмешательств как одного из факторов, предопределяющих эффективность хирургического лечения.

2. У пациентов с туберкулезными артритами выявлена выраженная ГФ в стадии разгара, при синовитах и незначительная при затихании. Присоединение осложнений в виде свищей и абсцессов приводит к резкому возрастанию гиперфиксации (от 5- до 15-кратного).

3. ГФ при туберкулезном и неспецифическом поражении крупных суставов варьирует в зависимости от активности воспаления, особенностей динамики воспаления и от степени предшествующей потери костной ткани.

4. В ближайшем послеоперационном периоде выявлено более выраженное усиление накопления РФП в случае реваскуляризации костной ткани при мобилизирующих операциях, это связано со сращением трансплантатов с ложем, и более выраженное снижение ГФ при резекциях без реваскуляризации ввиду потери костной ткани и отсутствия дополнительной репарации.

5. В отдаленном послеоперационном периоде установлено снижение степени накопления препарата, более выраженное при несвободной костной пластике после мобилизирующих операций, что свидетельствует о приживлении костного трансплантата и хорошем исходе оперативного лечения. Сохранение исходного уровня ГФ или усиление ее в отдаленные сроки отражало отсутствие костного сращения или реактивацию процесса.

ЛИТЕРАТУРА

1. Внелегочный туберкулез : руководство для врачей / под ред. А. В. Васильева. – СПб., 2000. – С. 97–113.
2. Касаткин, Ю. Н. Остеосцинтиграфия при системных поражениях опорно-двигательного аппарата : параметры нормы, проблемы визуализации и анализа / Ю. Н. Касаткин, В. В. Поцыбина, Д. И. Левчук // Радиология – практика. – 2003. – № 3. – С. 31–37.
3. Савин, И. Б. Радионуклидная оценка состояния костной ткани при туберкулезном и неспецифическом поражении крупных суставов до и после хирургического лечения / И. Б. Савин [и др.] // 6-й съезд травматол. и ортопедов России : тез. докл. – Н. Новгород, 1997. – С. 684.
4. Савин, И. Б. Сцинтиграфия костной системы в оценке эффективности оперативного лечения деструктивных артритов / И. Б. Савин, М. С. Сердобинцев, Г. Д. Наконечный // 2-й съезд Рос. об-ва ядерной медицины «Современные проблемы ядерной меди-

цины и радиофармацевтики» : тез. докл. – Обнинск, 2000. – С. 104–105.

5. Сердобинцев, М. С. Эффективность восстановительной хирургии туберкулеза тазобедренного и коленного суставов и ее повышение с помощью методов реваскуляризации кости и перихондриопластики : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / М. С. Сердобинцев. – СПб., 2003. – 38 с.

РЕЗЮМЕ

И. Б. Савин

Применение остеосцинтиграфии для оценки метаболизма в костной ткани при туберкулезном и неспецифическом поражении крупных суставов до и после хирургического лечения

Методом остеосцинтиграфии изучено состояние костной ткани у 385 больных, направленных с туберкулезными артритами и их последствиями или с подозрением на туберкулез. При туберкулезных артритах в артритической фазе гиперфиксация (ГФ) выше, чем при артрозах, при осложненных формах (свищи и абсцессы) у 19,5 % возрастала от 5- до 15-кратной. В стадии затихания наблюдалась незначительная ГФ. Установлено, что после мобилизирующих операций с реваскуляризацией в ближайшем послеоперационном периоде происходило достоверное усиление накопления РФП (в 1,52 раза). В отдаленные сроки наблюдалась снижение ГФ. Данный метод позволил объективизировать изменения костной ткани, оценить течение репаративных процессов, определить эффективность различных операций.

Ключевые слова: остеосцинтиграфия, туберкулезный и неспецифический артрит, хирургия.

SUMMARY

I. B. Savin

Osteoscintigraphy in evaluation of bone tissue metabolism in tuberculous and nonspecific large joint lesions before and after surgical treatment

Osteoscintigraphy was employed to study the bone tissue in 385 patients referred for tuberculous arthritis and its sequels or for suspected tuberculosis. In the arthritic phase of tuberculous arthritis the level of hyperfixation (HF) was higher than that in arthrosis; in complicated forms (fistulas and abscesses) HF showed a 5–10 fold increase in 19.5 % of the patients. An insignificant HF was observed at the stage of subsidence. After mobilizing operations with revascularization, the early postoperative period was marked by a significant increase in radionuclide accumulation (by 1.52 times). The late postoperative period was characterized by reduced HF. This method provides objective assessment of bone tissue changes as well as estimation of the reparative processes and efficiency of surgical treatment.

Key words: osteoscintigraphy, tuberculous and nonspecific arthritis, surgery.

© Ю. В. Гайдук, 2009 г.
УДК 616.711+616.711-007.55]-053.32:616.85

Ю. В. Гайдук

КЛИНИКО-НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ НАРУШЕНИЯ И ИХ КОРРЕКЦИЯ У ДЕТЕЙ С ВРОЖДЕННЫМИ ПОРОКАМИ РАЗВИТИЯ ПОЗВОНОЧНИКА И ДИСПЛАСТИЧЕСКИМИ СКОЛИОЗАМИ

Кафедра нервных болезней Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии

ВВЕДЕНИЕ

Врожденные пороки развития позвоночника и диспластические сколиозы представляют важную проблему детской неврологии и ортопедии, поскольку они связаны с возрастанием частоты встречаемости, тяжестью течения, значительным снижением качества жизни и ранней инвалидизацией [1–3].

В мировой литературе, посвященной проблеме коррекции деформаций позвоночника у детей, обсуждаются вопросы корригирующих операций. Во всех случаях проводится неврологическое обследование с целью ранней диагностики и предупреждения развития циркуляторных нарушений кровообращения в спинном мозге с возможным развитием вертебромедуллярного конфликта и нарастанием неврологического дефицита [4, 5]. Вместе с тем недостаточно разработана практика динамического наблюдения неврологом пациентов с поражением позвоночника и спинного мозга врожденного и диспластического характера с момента первичной постановки диагноза до периода предоперационной подготовки и после проведения хирургической коррекции [6, 7, 12].

На современном этапе развития науки лидируют хирургические методы коррекции врожденных пороков развития позвоночника и диспластических сколиозов среднетяжелой и тяжелой степеней выраженности. Следует отметить, что большинство пациентов с поражением опорно-двигательного аппарата проходят этап амбулаторной неврологической помощи, сопровождающийся консервативным лечением [8, 9]. При выявлении прогрессирования деформации позвоночника более 2 градусов в месяц во фронтальной плоскости, появлении реберного горба или при наличии выраженного нарастания неврологической симптоматики показано решение вопроса о хирургической коррекции заболевания. Дальнейшее ведение пациента в до- и послеоперационном периодах согласуется с учетом выраженности ортопедической и/или неврологической симптоматики [10, 11, 13].

Цель нашего исследования – анализ результатов ранней диагностики и медикаментозной коррекции неврологических расстройств у детей с врожденными пороками

развития позвоночника и диспластическими сколиозами в до- и послеоперационном периодах при проведении хирургической коррекции заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Под нашим наблюдением в клинике вертебрыологии на базе Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии наблюдались 156 больных в возрасте от 6 месяцев до 16 лет (67 пациентов с врожденными аномалиями позвоночника, 89 человек с диспластическим сколиозом). Из 156 пациентов мальчики составили 48,4% (76 человек), девочки – 51,6% (80 человек).

Распределение детей согласно виду поражения представлено в табл. 1.

Диагноз ставился на основании результатов, полученных при комплексном обследовании, включающем динамический клиничко-неврологический и ортопедический осмотры, ультразвуковое исследование, рентгенографию, КТ, МРТ и электромиографию.

Показаниями к проведению оперативного лечения являлось прогрессирование деформации позвоночника более 2 градусов в месяц во фронтальной плоскости, появление реберного горба или выраженное нарастание неврологической симптоматики (наличие двигательных и чувствительных нарушений, нарушение функции тазовых органов, неэффективность проводимого консервативного лечения).

При осмотре учитывались возраст пациентов при первичном обращении, клиничко-неврологические проявления заболевания, наличие в анамнезе этапа консервативного курсового лечения. Распределение пациентов по

Таблица 1

Распределение пациентов по полу и возрасту согласно типу поражения позвоночника

| Возраст | Врожденные аномалии позвоночника | | Диспластический сколиоз | |
|---------------|----------------------------------|-------------|-------------------------|-------------|
| | мальчики | девочки | мальчики | девочки |
| 6 месяцев | 9 (13,5 %) | 21 (31,3 %) | | |
| 1 год | | | | |
| 1 3 года | 11(16,4 %) | 16 (23,9 %) | | |
| 4 6 лет | 2 (3 %) | 4 (5,9 %) | | 1 (1,1 %) |
| 7 9 лет | | 1 (1,5 %) | 11 (12,4 %) | 8 (8,9 %) |
| 10 12 лет | | 2 (3 %) | 16 (17,9 %) | 10 (11,2 %) |
| 13 15 лет | | 1 (1,5 %) | 20 (22,5 %) | 14 (15,7 %) |
| Старше 16 лет | | | 7 (7,9 %) | 2 (2,4 %) |
| Итого | 67 (100 %) | | 89 (100 %) | |

Таблица 2

Распределение пациентов с врожденными пороками развития позвоночника и диспластическими сколиозами по срокам выявления патологии

| Врожденные пороки развития позвоночника | | Диспластические сколиозы | |
|---|-----------------|--------------------------|-----------------|
| возраст | число пациентов | возраст | число пациентов |
| С рождения до 1 года | 38 (56,6 %) | 8 10 лет | 28 (31,5 %) |
| От 1 года до 3 лет | 20 (30 %) | 14 15 лет | 45 (50,5 %) |
| Старше 3 лет | 9 (13,3 %) | Старше 16 лет | 16 (18 %) |
| Всего (человек) | 67 (100 %) | Всего (человек) | 89 (100 %) |

Таблица 3

Данные о степени выраженности неврологических нарушений у детей с врожденными пороками развития позвоночника

| Характер неврологических нарушений | Степень тяжести | | |
|------------------------------------|-----------------|---------|--------|
| | тяжелая | средняя | легкая |
| Нижний вялый парез | 2 | 7 | 9 |
| Всего (%) | 11,1 | 38,9 | 50 |
| Нижний спастический парез | 4 | 5 | 7 |
| Всего (%) | 24,9 | 31,3 | 43,8 |

Таблица 4

Характеристика жалоб, предъявляемых при первичном осмотре пациентами с диспластическим сколиозом

| Характеристика жалоб | Количество детей | % |
|--|------------------|------|
| Выраженный болевой синдром | 38 | 43,2 |
| Нарушения чувствительности | 16 | 18,1 |
| Слабость в нижних конечностях | 14 | 14,2 |
| Снижение СХР (асимметрия), без снижения силы | 8 | 9 |
| Ночные боли в паравертебральных мышцах | 4 | 5,3 |
| Без жалоб | 9 | 10,2 |
| Всего | 89 | 100 |

срокам выявления патологии (первичное обращение) представлено в табл. 2.

Таким образом, среди детей, обратившихся по поводу врожденного порока развития позвоночника, преобладал средний возраст от 6 месяцев до 3 лет, тогда как дети, страдающие диспластическим сколиозом, имели средний возраст при первичном обращении в клинику 14–15 лет.

Таблица 5

Характер и частота неврологической симптоматики, выявленные при первичном осмотре у детей с диспластическим сколиозом

| Неврологическая очаговая микросимптоматика | Количество детей | % |
|--|------------------|------|
| Нижний вялый монопарез | 15 | 17 |
| Трофические нарушения нижних конечностей | 12 | 13,6 |
| Патологические стопные знаки | 4 | 4,5 |
| Рефлекторный нижний (-моно) парапарез | 10 | 11,4 |
| Снижение (отсутствие) рефлексов (коленных, ахилловых, периостальных) | 9 | 9 |
| Без очаговой неврологической симптоматики | 39 | 44,5 |
| Всего | 89 | 100 |

Таблица 6

Характеристика жалоб общего характера, предъявляемых при первичном осмотре пациентами с диспластическим сколиозом

| Характеристика жалоб | Количество детей | % |
|---------------------------------------|------------------|------|
| Головные боли | 39 | 43,8 |
| Кардиалгии | 17 | 19,1 |
| Повышенная утомляемость | 15 | 16,9 |
| Лабильность психоэмоциональной сферы | 11 | 12,3 |
| Головокружение несистемного характера | 6 | 6,7 |
| Всего | 89 | 100 |

Степень выраженности неврологического дефицита (нижние парезы) у детей с диастематомиелией оценивалась по характеру ходьбы, объему активных и пассивных движений в суставах, оценке мышечной силы и сухожильных рефлексов (табл. 3).

Всего 34 пациента при первичном обращении имели очаговую неврологическую симптоматику в виде нижнего вялого и нижнего спастического парезов (табл. 4). Из них в большем проценте случаев преобладала легкая степень неврологических нарушений. 2 пациента с нижним вялым парезом и 4 со спастическим имели тяжелую степень неврологического дефицита.

Данные выявленного неврологического дефицита у детей, страдающих сколиотической болезнью, при первичном обращении в стационар представлены в табл. 5.

На догоспитальном этапе дети, страдающие сколиотической болезнью, наблюдались ортопедами в 95% случаев, неврологами реже – в 56% случаев, получали комплексную терапию только около 30% пациентов. По результатам динамического наблюдения 46 человек из выбранной группы детей прооперированы на базе 2 хирургического отделения СПбГПМА, 42 человека продолжают наблюдаться амбулаторно, получают консервативную терапию.

Необходимо заметить, что при осмотре детей, страдающих диспластическим сколиозом, помимо жалоб неврологического характера, примерно в 45% случаев предъявлялись жалобы на головные боли, боли в области сердца, лабильность психоэмоциональной сферы, повышенную утомляемость, препятствующую процессам обучения (ухудшение памяти, воспроизведения прочитанного материала). Общая характеристика предъявляемых жалоб при первичном осмотре представлена в табл. 6.

В период предоперационной подготовки 33 пациента (49,2%) с врожденными пороками развития позвоночника получали курсовой стимулирующий массаж, лечебную гимнастику, физиотерапевтическое лечение, ортопедическое лечение. Принимали нейротрофические и вазоактивные препараты 10 пациентов (14,9%), комплексную терапию, сочетающую медикаментозные препараты, массаж, физиотерапевтическое лечение и лечебную гимнастику на догоспитальном этапе имел 21 пациент (31,3%). Вторая группа пациентов с диспластическим сколиозом амбулаторно-медикаментозную терапию получала в меньшем проценте случаев, что обусловлено выраженностью неврологической симптоматики. Чаще этим больным проводилась симптоматическая терапия – антигипоксанты, вегетокорректоры, витаминотерапия, реже – вазоактивные средства, препараты периферического действия.

При обращении в стационар на до- и послеоперационном этапах рекомендовалась комплексная терапия, включающая нейротрофические и миотрофические препараты, вазоактивные средства, антигипоксанты, вегетопротекторы, витамины группы В. Физиотерапевтические методики: синусмодулирующие токи на уровень средне-грудного и/или нижнего грудного отделов позвоночника, электроионофорез с прозеринном,

Таблица 7

Результаты неврологического обследования через 1 год после проведенного оперативного лечения у детей с врожденными пороками развития позвоночника

| Динамика | Количество детей |
|---------------|------------------|
| Положительная | 37 (60 %) |
| Без динамики | 15 (20 %) |
| Отрицательная | 15 (20 %) |
| Всего | 67 (100 %) |

Таблица 8

Распределение больных по характеру проводимой терапии в послеоперационном периоде

| Терапия | Количество детей |
|------------------|------------------|
| Медикаментозная | 11 (21,1 %) |
| ЛФК, ФТЛ, массаж | 8 (15,4 %) |
| Комплексная | 33 (63,5 %) |
| Без терапии | 15 (22,4 %) |
| Всего | 67 (100 %) |

зуфиллином, лидазой, амплипульс на мышцы нижних конечностей, парафинотерапия (озокерит), массаж стимулирующий мышцы нижних конечностей, лечебная гимнастика.

Данные, полученные при наблюдении пациентов с врожденными пороками развития позвоночника через 1 год после хирургической коррекции, представлены в табл. 7.

Положительная динамика в виде уменьшения болевого синдрома, улучшения микроциркуляции в нижних конечностях, нормализации мышечного тонуса отмечена в 60% (37 человек). Группу «без динамики» по течению заболевания составили 15 человек (20%). У 15 человек (20%) отмечалась отрицательная динамика течения заболевания: нарастание асимметричной гипотонии мышц, гипотрофические изменения на стороне поражения, усиление слабости при длительной ходьбе, утомляемости, усиливающиеся боли в спине, в икроножных мышцах в покое, нарушения чувствительности.

52 ребенка в послеоперационном периоде продолжали получать комплексную терапию. Проводимая терапия в послеоперационном периоде и распределение пациентов по группам представлены в табл. 8.

За весь период наблюдения пациенты с врожденной патологией позвоночника и спинного мозга получали комплексную курсовую терапию (в среднем продолжительностью курса 1–3 месяца, 2–3 раза в год): вазоактивную, нейротрофическую, витаминотерапию, препараты периферического действия, антигипоксанты, антихолинэстеразные препараты, лечебную гимнастику, массаж, ортопедические пособия.

На сегодняшний день хирургические методы, к сожалению, не дают 100%-й эффективности. В ряде случаев клиника заболевания обусловлена многими патофизиологическими причинами, и проведение хирургического вмешательства без проведения до- и послеоперационной медикаментозной коррекции не всегда приводит к улучшению, а иногда может усилить клиническую неврологическую симптоматику.

Проблема поиска оптимальной схемы лечения, включающей хирургическую коррекцию в сочетании с медикаментозной терапией, до сих пор остается актуальной.

В послеоперационном периоде изучена динамика клинических симптомов у больных, оперированных по поводу заболеваний позвоночника. Степень выраженности фоновой неврологической симптоматики у больных до оперативного вмешательства была различной. Среди пациентов с врожденными пороками развития наибольший процент составили дети с наличием выраженного неврологического дефицита, тогда как в группе больных с диспластическим сколиозом преобладали симптомы раздражения – основной жалобой при поступлении был выраженный болевой синдром (43,2%). В этой же группе отмечалось значительное число жалоб общего характера. Наличие этих жалоб значительно ухудшало качество жизни пациентов, а прогрессирующие симптомы неврологического дефицита и выраженные косметические дефекты позвоночника приводили к ранней инвалидизации больного.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ динамики клинико-anamnestических и инструментальных показателей в до- и послеоперационном периодах позволил установить наличие положительных результатов при своевременном проведении хирургической коррекции в сочетании с медикаментозной терапией при врожденных пороках развития позвоночника и диспластических сколиозах.

Совместное динамическое наблюдение неврологами и ортопедами детей с пороками позвоночника и диспластическими сколиозами, а также совмещение оперативной коррекции заболевания с регулярными курсами консервативной терапии дают обоснованную надежду существенного повышения эффективности терапии и качества жизни у этих больных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ветрилэ, С. Т. Использование современных технологий для диагностики, лечения заболеваний и повреждений позвоночника у детей и подростков / С. Т. Ветрилэ // Оптимальные технологии диагностики и лечения в детской травматологии и ортопедии, ошибки, осложнения: Тезисы докл. симп. детских травматол.-ортопедов России. – СПб., 2003. – С. 183–185.
2. Ветрилэ, С. Т. Возможности компьютерной томографии в комплексной оценке сколиотической деформации позвоночника / С. Т. Ветрилэ [и др.] // Вестник травматол. и ортопедии им. Н. Н. Пирогова. – 2003. – № 1. – С. 11–12.
3. Лагода, О. О. Новые подходы к диагностике функциональных и структурных нарушений опорно-двигательного аппарата у юных спортсменов / О. О. Лагода // Физическая культура: воспитание, образование, тренировка. – 2001. – № 4. – С. 10–12.
4. Михайловский, М. В. Современная концепция раннего выявления и лечения идиопатического сколиоза / М. В. Михайловский [и др.] // Вестник травматол. и ортопедии им. Н. Н. Приорова. – 2003. – № 1. – С. 3–10.
5. Норкин, И. А. К вопросу о роли психо-физиологических показателей в профилактике осложнений при хирургическом лечении сколиоза / И. А. Норкин [и др.] // Совр. технологии диагностики, лечения и реабилитации больных с заболеваниями и повреждениями позвоночника, спинного мозга и периферической нервной системы: Тезисы докл. Рос. науч.-практ. конф. – Курган, 2005. – С. 181–182.

6. Поздников, Ю. И. Нейрофизиологический мониторинг состояния нервной системы при хирургическом лечении тяжелых кифосколиозов у детей и подростков / Ю. И. Поздников [и др.] // Адаптац. различных систем организма при сколиотической деформации позвоночника : методы лечения : Тезисы докл. междунаро. симп. – М., 2003. – С. 80–81.

7. Попелянский, Л. Ю. Ортопедическая вертебрология (вертебронеурология) : руководство для врачей / Л. Ю. Попелянский. – М., 2003. – С. 4–9 ; 87–89.

8. Ульрих, Э. В. Аномалии позвоночника у детей / Э. В. Ульрих. – СПб., 1995. – С. 111.

9. Ульрих, Э. В. Ультразвуковая диагностика врожденного порока развития позвонков и спинного мозга у детей / Э. В. Ульрих, А. Ю. Мушкин, М. Г. Млодик. – Л., 1991. – С. 10–19.

10. Яновский, А. М. Спинальные расстройства при врожденных пороках и деформациях позвоночника у детей : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. М. Яновский. – СПб., 1995.

11. Evans, S. MRI of «idiopathic» scoliosis / S. Evans [et al] // J. Bone Joint Surg. – 1996. – № 78B. – P. 314–317.

12. Machida, M. Pathogenesis of idiopathic scoliosis : SEPs in chicken with experimentally induced scoliosis and in patients with idiopathic scoliosis / M. Machida [et al] // J. Pediatr. Orthop. – 1994. – Vol. 14. – № 3. – P. 329–335.

13. Miller, A. Evaluation and treatment of diastematomyelia / A. Miller [et al] // J. Bone Jt Surg. – 1993. – № 75 (9). – P. 1308–1317.

РЕЗЮМЕ

Ю. В. Гайдук

Клинико-неврологические нарушения и их коррекция у детей с врожденными пороками развития позвоночника и диспластическими сколиозами

Анализ результатов ранней диагностики и медикаментозной коррекции неврологических расстройств у детей с врожденными пороками развития позвоночника и диспластическими сколиозами на основании комплексных клинико-anamnestических данных, резуль-

татов электрофизиологических исследований и нейровизуализации. В клинике вертебрологии на базе Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии проведено комплексное обследование 156 больных в возрасте от 6 месяцев до 16 лет (67 пациентов с врожденными аномалиями позвоночника, 89 человек с диспластическим сколиозом). Из 156 пациентов мальчики составили 48,4% (76 человек), девочки – 51,6% (80 человек). Диагноз ставился на основе результатов, полученных при комплексном обследовании, включающем динамический клинико-неврологический и ортопедический осмотры, рентгенографию, КТ, МРТ и электромиографию, ультразвуковое исследование.

Ключевые слова: дети, неврологическая симптоматика, врожденные пороки развития позвоночника, диспластический сколиоз.

SUMMARY

Ju. V. Gaiduc

Clinical neurological disorders and their correction in children with congenital abnormalities of the spine development and displastic scoliosis

The aim of the work was to analyse the results of early diagnosis and pharmaceutical correction of neurological disorders in children with congenital abnormalities of the spine development and displastic scoliosis. The analysis was based on complex investigations of the medical history data, electrophysiological examination results, and neurovisualization conclusions. Thorough examination of 156 patients (76 boys and 80 girls) was carried out in the vertebrology clinic of Saint-Petersburg State Medical Academy. The age of the patients varied from 6 months to 16 years, 67 patients had congenital vertebral abnormalities and 89 – displastic scoliosis. The diagnosis was made on the basis of the results obtained during complex examination which included repeated examinations by a neurologist and orthopedist, radiological examinations, CT, MRI, electromyography and ultrasonic investigations.

Key words: children, neurological symptoms, congenital abnormalities of the spine development, displastic scoliosis.

© В. А. Балясная, 2009 г.

УДК 615.451.13-008.441.33:616.341]-092.4

В. А. Балясная

НАРУШЕНИЯ СЕКРЕТОРНОЙ ФУНКЦИИ ТОНКОЙ КИШКИ И ИХ КОРРЕКЦИЯ ПРИ ЭТАНОЛОВОЙ ИНТОКСИКАЦИИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Новгородский государственный университет имени Ярослава Мудрого

Как показывают данные многочисленных эпидемиологических и клинических исследований ученых, распространенность злоупотребления алкоголем стала представлять серьезную угрозу для всех стран мира [4, 9, 10, 16]. Россия лидирует в мире по негативным медико-биологическим и социальным последствиям потребления алкоголя [7]. При этаноловой интоксикации (ЭИ) в организме

возникают многообразные базисные системные морфофункциональные изменения, приводящие к алкоголю-обусловленной патологии [13, 11]. Одним из важнейших патогенетических звеньев гомеостатических сдвигов при ЭИ являются нарушения функционального состояния тонкой кишки [6, 14]. Результаты исследований указывают, что несмотря на компенсаторные возможности кишечника к различным повреждающим факторам, отсутствие диспептических жалоб у больных, секреторная функция тонкой кишки в ранние сроки развития ЭИ наиболее уязвима и требует к себе повышенного внимания [6, 13].

Целью данной работы явилось изучение показателей секреторной активности тонкой кишки под влиянием надвенозного лазерного облучения крови (НЛОК) в комплексном лечении экспериментальной ЭИ.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Экспериментальные исследования проведены на 10 здоровых и 80 половозрелых крысах Вистар обоего пола массой тела 220–250 г с моделью ЭИ. Условия содержания и кормления экспериментальных животных

соответствовали «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник», утвержденным Приказом МЗ СССР № 1179 от 10 октября 1983 г. Эксперименты над животными были проведены в соответствии с Европейской конвенцией о защите животных, используемых в эксперименте (Директива 86/609ЕЕС).

I группа – контрольная (20 крыс), с моделью нелеченной экспериментальной ЭИ.

Модель ЭИ создавали по методике К. В. Шельгина и соавт. (2002) введением ежедневно интрагастрально 40% раствора этанола из расчета 4 г/кг/сут. массы в течение 5 суток.

II группа – опытная (60 крыс) – состояла из двух серий экспериментов, в которых проводилось лечение экспериментальной ЭИ. В первой серии экспериментов опытной группы (30 крыс) сразу после постановки модели ЭИ и в течение 5 суток проводили адекватную компенсацию обменных, водно-электролитных, гемодинамических нарушений, включающих в себя достаточную инфузионно-детоксикационную терапию (водно-электролитные растворы, гемодез из расчета 7 г/кг массы в течение суток внутривенно через хвостовую вену). Во второй серии экспериментов опытной группы (30 крыс) проводили аналогичное лечение с курсом надвенозного лазерного облучения крови (НЛОК), состоящим из 5 сеансов. В настоящее время НЛОК отдается предпочтение по ряду причин: полная атравматичность, безопасность в аспектах вероятности внесения в кровь различных инфекционных факторов (абсолютная лазерная стерильность луча), психологическая комфортность для больного, возможность проведения курсового НЛОК в полном объеме как в условиях стационара, так и амбулаторно, отсутствие побочных явлений при правильном подборе режима работы. С целью биоэнергетической активации облучение проводилось ежедневно с помощью гелий-неонового лазера ЛГ-79-1 с длиной волны 632 нм при мощности на выходе световода 2 мВт экспозицией 20 мин на область проекции бедренной вены и наружной яремной вены.

Сроки наблюдений – 1, 2, 3 суток после окончания лечения. Эвтаназию животных проводили декапитацией, предварительно анестезируя фторотаном. Экспериментальные исследования выполнялись в соответствии с Методическими рекомендациями «Деонтология медико-биологического эксперимента» (1987), а также с соблюдением правил гуманного отношения с животными (Report of the AVMA Panel on Euthanasia JAVMA, 2001).

Решая проблему исследования показателей мембранного и полостного пищеварения в тонкой кишке, мы использовали методы определения амилолитической и липолитической активности слизистой оболочки названного отдела кишечника. Применяли методику, разработанную Ц. Г. Масевичем, А. М. Уголевым (1967) в модификации Л. В. Дановского [2] (1976), дающую возможность определить состояние полостного и мембранного пищеварения в тонкой кишке на основе прочной связи амилазы и липазы с клеточной мембраной. Указанная методика позволяет дать оценку секреторной активности тонкой

кишки, удовлетворяющую всем физиологическим требованиям. Методика состоит в сравнении амилолитической и липолитической активности 5 проб, полученных в результате последовательного промывания в растворе Рингера кусочка слизистой оболочки средней трети тощей кишки животных (не более 12 мг). Первую пробу, обозначаемую как фракция С (смываемая), получали путем отмывания кусочка слизистой оболочки в растворе Рингера в течение 30 с. Три последующие пробы, обозначаемые как фракции Д₁, Д₂ и Д₃ (десорбируемые), получали путем последовательного помещения кусочка слизистой оболочки тонкой кишки в 3 разные порции раствора Рингера, в котором пробы в течение 3 мин встряхивались с помощью специального аппарата. Пятую пробу, обозначаемую как фракция Г (гомогенат), получали путем гомогенизации кусочка слизистой оболочки, прошедшего указанные стадии обработки. Все полученные пробы центрифугировали при 5000 об. в течение 10 мин, а затем в предварительно подготовленные 2 ряда пробирок по 5 в каждом ряду, отмеченных соответственно 5 фракциям, переносили по 1,5 мл надосадочной жидкости. В первом ряду пробирок для определения амилолитической активности в качестве субстрата использовали 2 мл 0,1% раствора крахмала, а во втором ряду для определения липолитической активности – 10 мл 0,04% эмульсии трибутирина. Инкубацию проводили в течение 30 мин в водяной бане при 37–38 °С в аппарате с постоянным встряхиванием. В контрольных пробах, которые готовились при каждом исследовании тех же реактивов, 1,5 мл надосадочной жидкости (источник фермента) заменяли раствором Рингера.

Для определения амилолитической активности контрольный и исследуемые растворы колориметрировали в фотоэлектроколориметре (ФЭК) при красном светофильтре против дистиллированной воды. Количество гидролизованного крахмала (У-мкг/мг/мин) рассчитывали по формуле

$$y = \frac{a \cdot (K - K_1)}{H \cdot C \cdot K},$$

где а – количество крахмала, равное 2000 микрограмм, взятое для инкубации с источником фермента в 2 мл 0,1% раствора; К – показания ФЭК контрольного раствора; К₁ – показания ФЭК опыта (С, Д, Д, Д, Г); Н – вес кусочка слизистой оболочки тонкой кишки, взятого для исследования; С – постоянный коэффициент, равный 11,25.

Липолитическую активность слизистой оболочки тонкой кишки оценивали сталагмометрическим методом по формуле

$$X = \frac{355,5 \cdot (K_2 - K_1)}{H \cdot (K_2 - K_1)},$$

где Х – количество гидролизованного трибутирина (в мкг/мг/мин); К₁ – число капель в контрольном растворе; К₂ – число капель в контрольной эмульсии трибутирина; К₃ – число капель эмульсии трибутирина в фракциях С, Д, Д₂, Д₃ и Г после инкубации с источником фермента; Н – вес

кусочка слизистой оболочки тонкой кишки; 355,5 – постоянный коэффициент.

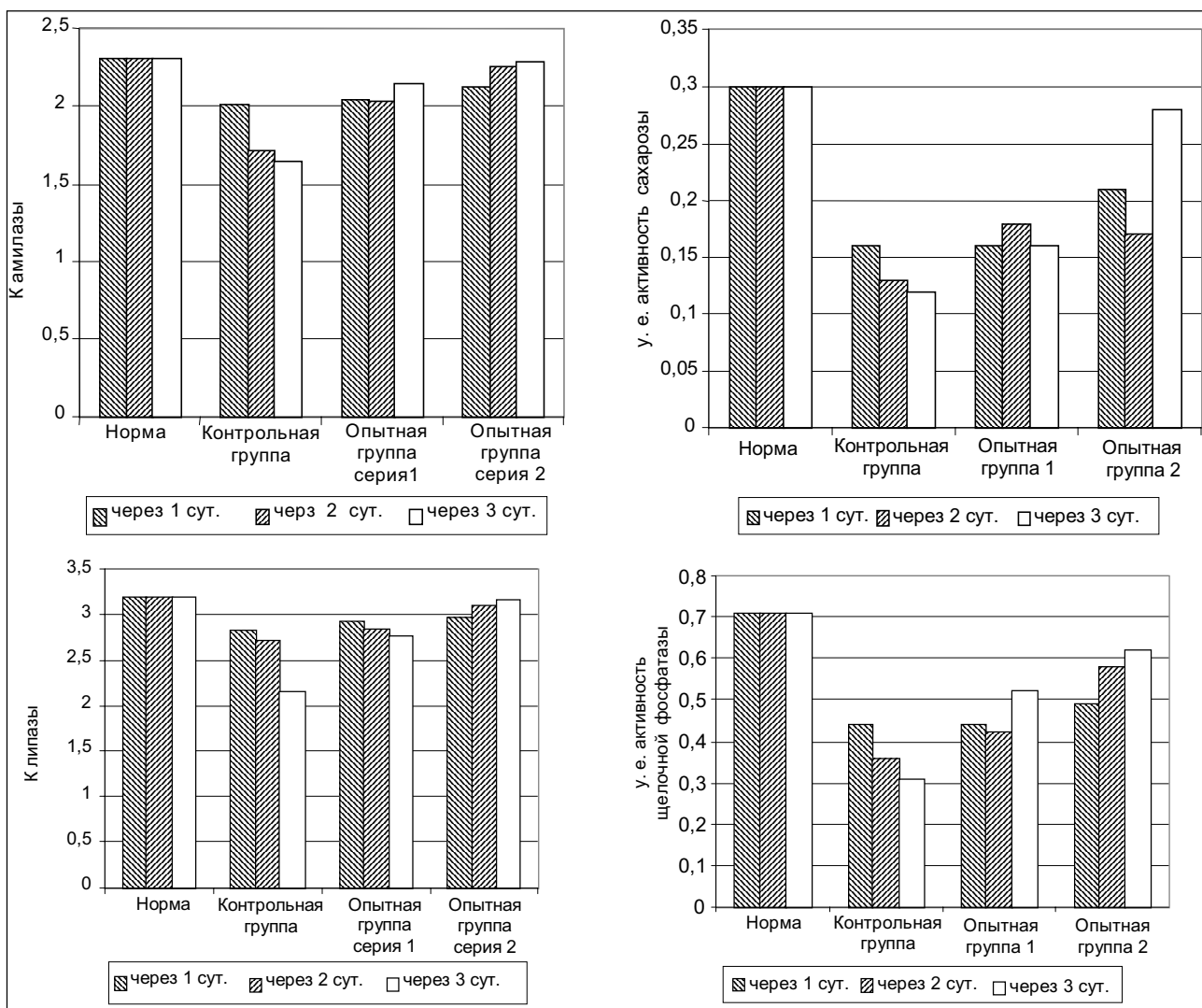
Фракция С отражает активность амилазы и липазы в межворсинчатых пространствах и используются как один из показателей полостного пищеварения. Фракции Д в виде суммы активности этих фракций (ΣД), а также фракция Г отражают количество адсорбированной и прочно связанной амилазы и липазы, что дает возможность использовать эти пробы как показатели состояния мембранного пищеварения. На основании определения показателей липолитической и амилалитической активности слизистой оболочки тонкой кишки животных мы вычисляли коэффициент $K = \frac{\Sigma Д + Г}{С}$ для амилазы и липазы, который имеет большое диагностическое значение и выражает соотношение между мембранным и полостным пищеварением.

Гистохимическому исследованию подвергали материал, взятый из средней трети тонкой кишки. Полученный

гистологический материал фиксировался в 10% растворе нейтрального формалина (с РН 7,2–7,4). Парафиновые блоки и парафиновые среды готовили по стандартной методике.

В данной работе, помимо исследования амилалитической и липолитической активности слизистой оболочки тонкой кишки, гистохимически в названном отделе кишечника животных изучалась активность щелочной фосфатазы (ЩФ) и сахарозы – энзимов, катализирующих метаболические процессы. Протеолитический фермент ЩФ катализирует в щелочной среде расщепление эфиров ортофосфорной кислоты на различные спирты и фенолы. В тонкой кишке отмечается большая активность ЩФ. В наших исследованиях активность ЩФ в слизистой оболочке тонкой кишки животных определяли тетразолиевым методом в модификации J. Mc. Qadey (1970) [5].

Сахароза – важнейший дисахарид – образуется в результате связывания глюкозы и фруктозы, за счет восстановления групп обоих сахаров. Активность сахарозы в слизистой оболочке тонкой кишки животных вы-



Влияние традиционных методов лечения и надвенозного лазерного облучения крови на состояние секреторной активности тонкой кишки у животных с этаноловой интоксикацией

являли сопряженным окислением глюкозы с применением нитротетразолия синего в модификации Z. Lojda (1965) [5].

Весь полученный цифровой материал был подвергнут статистической обработке методом вариационной статистики [1, 3], с использованием пакета статистических программ Statgraph, записанного на компьютере типа IBM PC 180386/40. На основании величин и числа наблюдений по таблице Стьюдента определяли вероятность различий (p). Различия расценивались как достоверные, начиная со значений $p < 0,05$, т. е. когда вероятность различия была равна или превышала 95%.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов, проведенных в данной работе, свидетельствует, что в первые 3 суток после эксперимента у нелеченных животных с моделью ЭИ отмечаются прогрессирующие нарушения секреторной активности тонкой кишки (рисунок). Это проявлялось в ослаблении активности процессов мембранного гидролиза и резком снижении адсорбционной способности слизистой оболочки тонкой кишки животных.

Результаты исследования секреторной функции тонкой кишки биохимическими и гистохимическими методами свидетельствуют, что у нелеченных животных в динамике развития ЭИ резко уменьшалась амилолитическая и липолитическая активность слизистой оболочки тонкой кишки, а также активность щелочной фосфатазы и сахарозы (таблица).

В доступной нам литературе мы не нашли убедительных исследований секреторной активности тонкой кишки на фоне традиционных методов лечения ЭИ. Вместе с тем клинические и экспериментальные наблюдения подавляющего большинства исследователей свидетельствуют о выраженных восстановительных процессах в тканях кишечной стенки, обеспечивающих компенсаторные приспособления данного органа при различных патологических процессах [5, 11]. Сравнительный анализ показателей секреторной функции тонкой кишки у животных опытной группы 1 серии позволил установить, что активность ферментных систем мембранного и полостного пищеварения продолжала оставаться сниженной по сравнению с нормой (рисунок).

Так, коэффициент К, который выражает взаимоотношения мембранного и полостного пищеварения, для амилазы через 2 суток после лечения традиционными методами был равен $2,03 \pm 0,21$, а для липазы – $2,84 \pm 0,17$, что ниже соответственно на 0,27 и на 0,35 по сравнению с данными, полученными у здоровых животных.

Гистохимические методы исследования щелочной фосфатазы и сахарозы в слизистой оболочке тонкой кишки у животных опытной группы 1 серии, в лечении которых применялись только традиционные методы терапии, подтверждали и дополняли характеристику ферментного спектра названного отдела кишечника: отмечалось снижение активности указанных энзимов в ткани тонкой кишки, даже на 3-и сутки после эксперимента, по сравнению с нормой.

Таким образом, традиционные методы лечения ЭИ не способствуют в первые 3-и сутки после эксперимента нормализации показателей, отражающих секреторную функцию тонкой кишки.

Сравнительный анализ показателей мембранного гидролиза и активности щелочной фосфатазы и сахарозы в слизистой оболочке тонкой кишки выявил, что применение у животных НЛОК в комплексном лечении ЭИ уже через сутки ускоряет восстановление секреторной активности кишечника. Это проявлялось в увеличении показателей коэффициента К амилолитической и липолитической активности тонкой кишки (рисунок).

Увеличилась также активность щелочной фосфатазы и сахарозы в слизистой оболочке тонкой кишки крыс 2 серии опытной группы по сравнению с показателями, полученными у животных, в лечении которых применялись только традиционные методы терапии (рисунок).

На 2-е сутки эксперимента активность щелочной фосфатазы в слизистой оболочке тонкой кишки животных опытной группы 2 серии достоверно возросла в 1,2 раза в сравнении с результатами, полученными у крыс, леченных традиционными методами ($P < 0,05$) (рисунок).

Анализ полученных данных свидетельствует, что под влиянием НЛОК, применяемом в комплексном лечении экспериментальной ЭИ, достаточный уровень ферментативной активности тонкой кишки восстанавливался

Влияние традиционных методов лечения и надвенозного лазерного облучения крови на состояние секреторной активности тонкой кишки у животных с этаноловой интоксикацией

| Продолжительность наблюдений (сут.) | К амилазы | К липазы | Активность ферментов (у.е.) | |
|---|-------------|--------------|-----------------------------|---------------|
| | | | щелочной фосфатазы | сахарозы |
| Норма | | | | |
| | 2,30±0,24 | 3,19±0,14 | 0,71±0,02 | 0,30±0,04 |
| ЭИ без лечения | | | | |
| 1 | 2,01±0,21 | 2,83±0,17 | 0,44±0,02 * | 0,16±0,01 * |
| 2 | 1,71±0,12 * | 2,71±0,11 * | 0,36±0,02 * | 0,13±0,05 * |
| 3 | 1,64±0,10 * | 2,15±0,15 * | 0,31±0,03 * | 0,12±0,02 * |
| ЭИ + лечение традиционными методами | | | | |
| 1 | 2,05±0,20 | 2,92±0,14 | 0,44±0,02 | 0,16±0,01 |
| 2 | 2,03±0,21 | 2,84±0,17 | 0,42±0,03 | 0,18±0,01 |
| 3 | 2,14±0,21 | 2,77±0,10 ** | 0,52±0,03 ** | 0,16±0,01 |
| ЭИ + лечение традиционными методами + НЛО | | | | |
| 1 | 2,12±0,21 | 2,98±0,15 | 0,49±0,03 | 0,21±0,01 |
| 2 | 2,25±0,19 | 3,10±0,14 | 0,58±0,03 *** | 0,17±0,01 |
| 3 | 2,29±0,22 | 3,18±0,16 | 0,62±0,02 *** | 0,28±0,02 *** |

* достоверны по отношению к здоровым животным ($p < 0,05$); ** достоверны по отношению к показателям животным контрольной группы ($p < 0,05$); *** достоверны по отношению к показателям животным, в лечении которых применялись только традиционные методы терапии ($p < 0,05$).

в среднем через 3 суток после окончания лечения (рисунок). Это проявлялось в увеличении до исходных контрольных показателей коэффициента K для амилазы и липазы у животных 2 серии опытной группы на 3-и сутки после лечения. Отмечалось также увеличение активности щелочной фосфатазы и сахарозы в слизистой оболочке тонкой кишки по сравнению с показателями, полученными у крыс I серии.

Так, на 3-и сутки эксперимента активность щелочной фосфатазы в слизистой оболочке тонкой кишки животных 2 серии опытной группы достоверно возросла в 1,2 раза, а сахарозы в 1,8 раза, в сравнении с результатами, полученными у крыс, леченных традиционными методами ($P < 0,05$).

Таким образом, применение НЛОК в комплексном лечении ЭИ ускоряет у животных восстановление секреторной активности тонкой кишки. Важно отметить, что усиление секреторной активности тонкой кишки под влиянием НЛОК, применяемом в комплексном лечении экспериментальной ЭИ, вероятно, может считаться эффективным резервным механизмом, обеспечивающим быструю адаптацию метаболических процессов в изученном отделе кишечника. Причем такое адаптационное повышение активности ферментов мембранного и полостного пищеварения в тонкой кишке наиболее четко выражено у животных, в комплексном лечении которых применялось НЛОК.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александров, В. В. Обработка медико-биологических данных на ЭВМ / В. В. Александров, В. С. Шнейдеров. – Л., Медицина, 1984. – 160 с.
2. Дановский, Л. В. Клинические исследования мембранного пищеварения / Л. В. Дановский. – Казань, 1967. – 197 с.
3. Клабукова, Е. Р. Математическое прогнозирование коэффициентов массы внутренних органов подопытных крыс в эксперименте / Е. Р. Клабукова // Мед. акад. журн. – 2003. – Т. 3. – № 3. – С. 183–184.
4. Кошкина, Е. А. Распространенность алкоголизма и наркомании среди населения России / Е. А. Кошкина // Психиатрия и психофармакотерапия. – 2002. – № 3. – С. 89–91.
5. Лилли, Р. Патогистологическая техника и практическая гистохимия / Р. Лилли. – М., 1969. – 643 с.
6. Махов, В. М. Системная патология органов пищеварения алкогольного генеза. «Болезни органов пищеварения» / В. М. Махов // Рос. мед. журн. – 2006. – № 1. – С. 5–13.
7. Минаев, С. В. Алкоголизация населения – медико-социальная проблема / С. В. Минаев // Новые Санкт-Петербург. врач. ведомости. – 2005. – № 2. – С. 32–34.
8. Немцов, А. В. Алкогольный урон регионов России / А. В. Немцов. – М., 2003. – 120 с.

9. Никифоров, И. А. Эпидемиологические аспекты наркотизма / И. А. Никифоров // Медицинская помощь : науч.-практ. журн. – 2005. – № 4. – С. 9–15.

10. Материалы Всерос. форума «Алкоголь и здоровье населения России 1900–2000». – М., 2000. – С. 167–173.

11. Соловьева, Н. М. Биокоррекция биохимических и микробиологических проявлений алкогольной интоксикации / Н. М. Соловьева, С. М. Лейхтер, Н. А. Шидркова // Науч. рос. конф., посвящ. 175 летию со дня рождения С. П. Боткина. 29–31 мая 2007. – 2007. – С. 68–69.

12. Уголев, А. М. Гормоны пищеварительной системы : физиология, патология, теория функциональных блоков / А. М. Уголев, О. С. Радбиль. – М., 1995. – 238 с.

13. Удовенкова, Л. П. Клинико-социальные аспекты гепаторенального синдрома алкогольной интоксикации / Л. П. Удовенкова, П. И. Сидоров, А. Т. Соловьев // Науч. рос. конф., посвящ. 175-летию со дня рождения С. П. Боткина. 29–31 мая 2007. – 2007. – С. 71–72.

14. Шабанов, П. Д. Биология алкоголизма / П. Д. Шабанов, С. Ю. Калишевич. – СПб., 1998. – 272 с.

15. Шелыгин, К. В. Использование лабораторных животных в токсикологическом эксперименте / К. В. Шелыгин, И. А. Кирпич, В. Е. Леонтьев ; под ред. проф., академика РАН П. И. Сидорова. – Архангельск, 2002. – 19 с.

16. Schoppet, M. Alcohol and the heart / M. Schoppet, B. Maisch // Herz. – 2001. – Vol. 26. – № 5. – P. 345–352.

SUMMARY

V. A. Balyasnaya

Нарушения секреторной функции тонкой кишки и их коррекция при этаноловой интоксикации в эксперименте

Целью данной работы явилось изучение показателей секреторной активности тонкой кишки (САТК) под влиянием надвенозного лазерного облучения крови (НЛОК) в комплексном лечении экспериментальной этаноловой интоксикации (ЭИ) у крыс. Исследование показало, что традиционные методы лечения ЭИ не нормализуют САТК. Использование НЛОК в комплексном лечении ЭИ ускоряет восстановление САТК у животных.

Ключевые слова: секреторная функция, тонкая кишка, этаноловая интоксикация, лазерное облучение.

SUMMARY

V. A. Balyasnaya

Secretory activity disorders in the small intestine and their correction in experimental ethanol intoxication

The aim of the work was to study the indices of the secretory activity of the small intestine (SASI) after above-venous laser irradiation (LI) of blood in complex treatment of experimental ethanol intoxication (EI) in rats. The investigation showed that traditional methods of EI treatment failed to normalize SASI whereas the method of above venous LI sped up the SASI recovery in the animals.

Key words: secretory activity, small intestine, ethanol intoxication, laser irradiation.

© Л. Ю. Гривцова, 2009 г.
УДК 612.119:616.155.3

Л. Ю. Гривцова

ЭКСПРЕССИЯ ОБЩЕЛЕЙКО-ЦИТАРНОГО АНТИГЕНА CD45 НА МОБИЛИЗОВАННЫХ (CD34+) СТВОЛОВЫХ КЛЕТКАХ КРОВИ ЗДОРОВЫХ ДОНОРОВ

Лаборатория иммунологии гемопоэза, централизованный клинико-лабораторный отдел ГУ РОНЦ имени Н. Н. Блохина РАМН

ВВЕДЕНИЕ

Экспрессия общелейкоцитарного антигена (CD45) характерна для всех гемопоэтических клеток, включая ранние, морфологически незрелые формы. Исключением являются эритроциты, зрелые тромбоциты и плазматические клетки. На стволовых кроветворных клетках экспрессия молекулы CD45 слабая в сравнении с лимфоцитами. По мере созревания стволовых кроветворных клеток уровни экспрессии общелейкоцитарного антигена нарастают [6, 13].

Отсутствие CD45 на фракции стволовых клеток может, скорее, характеризовать стволовые клетки другой, нежели гемопоэтическая, природы (мезенхимальные, нейрональные), происходящие, как и стволовая кроветворная клетка-предшественница, из эмбриональной стволовой, плюрипотентной клетки [5, 8].

Экспрессия молекулы CD34 в сочетании со слабой, фоновой экспрессией CD45-антигена возможна на клетках-предшественницах эндотелиальной природы [15], однако большинство таких CD34+-предшественников будут отрицательны по экспрессии CD45-антигена.

Факт экспрессии CD45 на гемопоэтических стволовых клетках (СКК) положен в основу стандартных цитометрических протоколов для подсчета абсолютного количества стволовых гемопоэтических клеток в образце [3].

По мере накопления данных оказалось, что экспрессия антигена CD45 на СКК неоднозначна. Так, при изучении мобилизованных аутологических СКК у 72% пациентов с последствиями тяжелой травмы спинного мозга нами выявлена отчетливая фракция CD34+-клеток с крайне слабой (ниже уровня гранулоцитов) экспрессией CD45 или с полным ее отсутствием [14].

Возможно, стволовые кроветворные клетки с отсутствием экспрессии CD45 входят в состав фракции наиболее ранних СКК, иммунофенотип которых в настоящее время описывают как CD34⁺lin⁻HLA-DR⁻CD38⁻Thy-1^{+/low} [7, 12].

Целью работы явилась характеристика мобилизованных (CD34⁺) СКК здоровых доноров кроветворной ткани для аллогенной трансплантации в отношении экспрессии антигена CD45 и маркеров, ассоциированных с фракцией ранних СКК, – молекул HLA-DR и CD38.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценено 63 образца клеток лейкоконцентрата (обогащенная фракция мобилизованных стволовых клеток периферической крови) у 59 здоровых доноров кроветворной ткани для аллогенной трансплантации. Средний возраст доноров составил 34 года (от 17 до 48 лет), преобладали женщины (42 – женщины, 17 – мужчины).

Мобилизацию СКК проводили в монорежиме: Г-КСФ без химиотерапии (в 1–3 дни по 5,0 мкг/кг веса, дважды, четвертый день по 10,0 мкг/кг веса дважды). Лейкоконцентрат получали путем сепарации клеток периферической крови на аппарате «Cobe Spectra» (лейкаферез).

Материал для полноценной трансплантации (2,0×10⁶ и более CD34⁺-клеток/кг массы тела реципиента) в большинстве случаев был набран за 1 сеанс лейкафереза. Для 8 пациентов потребовалось за 2 лейкафереза, для одного пациента проведено 3 процедуры сбора СКК.

Статистический анализ данных включал корреляционный анализ и сравнение средних с использованием коэффициента Стьюдента. Непараметрические данные сопоставлены посредством таблиц сопряжения. Использована программа SPSS версия 12 for Windows.

Оценка качества трансплантационного материала осуществлялась иммунологически в реакции прямой иммунофлуоресценции с учетом данных на проточном цитометре. При пробоподготовке использовали метод лизиса с отмывкой. Ввиду необходимости оценки субпопуляций стволовых клеток, в том числе и оценки количества CD34⁺CD45⁻-клеток, исходный протокол нами модифицирован. Подсчет СКК в образце на лейкоциты проводили стандартно, а при оценке субпопуляций в анализ включались все CD34⁺-образца, затем в пределах гейта CD34⁺-клеток оценивалась экспрессия антигенов CD45, HLA-DR CD38 (рис. 1). Используются следующие комбинации антител и флюорохромов: CD34PerCP/DRPE/CD38FITC, CD34PerCP/DRPE/CD45FITC и CD34FITC/DRPE/CD45PerCP.

В работе применены прямые конъюгаты моноклональных антител к антигенам: **CD34**: клон HPCA-2a (8G12), IgG1, метка PE, клон HPCA-2a (8G12), IgG1, метки PerCP, PE-cy5 клон BIRMA-K 3, **CD45**, метки FITC, PE-cy5, **HLA-DR** и **CD38** (метки FITC, PE), и изотипические контроли соответствующего изотипа с необходимой флуоресцентной меткой (PE, FITC, PerCP, PE-cy5).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Относительное содержание CD34+-клеток в образцах лейкоконцентратов среди лейкоцитов составило 0,35±0,03% (от 0,02 до 1,25%). На предмет экспрессии CD45 оценено 63 лейкоконцентрата, и всего лишь в 2 образцах популяции CD45neg CD34+-клеток нами не выявлено. Экспрессия общелейкоцитарного антигена на стволовых CD34+-клетках значительно варьировала от слабой (гранулоциты) до строго негативной (рис. 2). Мы условно разделили уровни экспрессии CD45 в пределах фракции стволовых клеток:

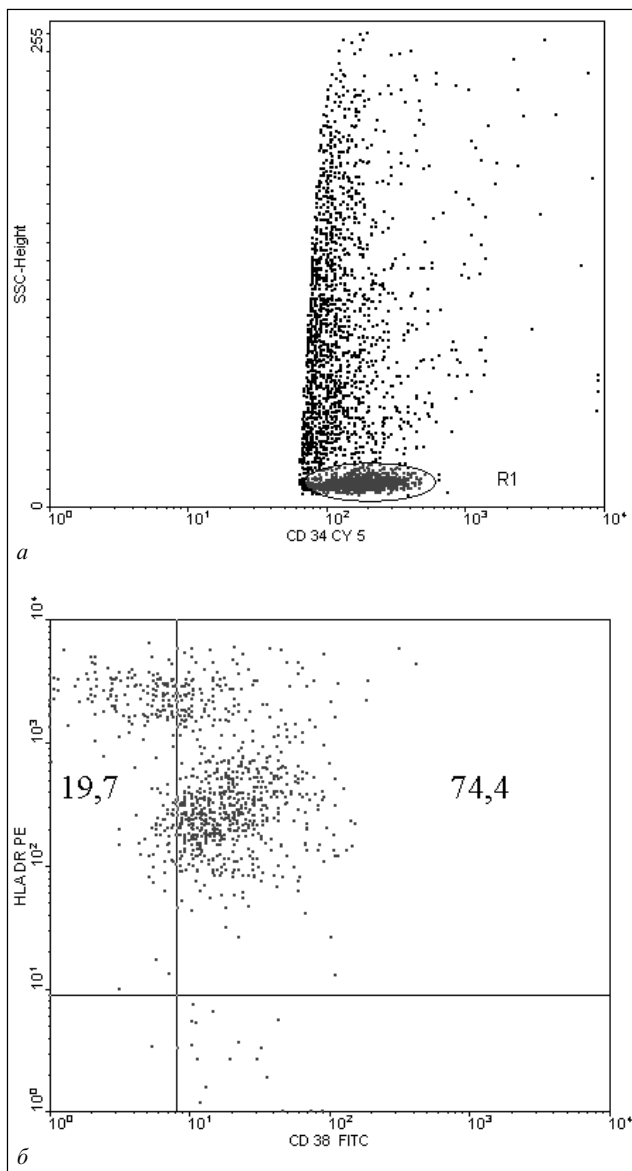


Рис. 1. Оценка субпопуляций CD34⁺-клеток. Тройная флуоресцентная метка. Образец лейкоконцентрата: а – гейт CD34⁺-клеток. По оси ординат – параметр светорассеяния, по оси абсцисс – экспрессия CD34. R1 гейт CD34⁺-клетки; б – характеристика субпопуляций. Оценка экспрессии HLA-DR (ось ординат) и CD38 (ось абсцисс) на стволовых CD34⁺-клетках. Экспрессия указанных антигенов учтена только в пределах гейта R1, гейта стволовых CD34⁺

1) позитивные по CD45-клетки (CD34⁺CD45^{+/low}), где уровень экспрессии CD45 соответствовал таковой на гранулоцитах;

2) слабопозитивные (CD34⁺CD45^{+/+}) (рис. 2, б);

3) строго негативные (CD34⁺CD45⁻).

В ряде случаев мы объединяли 2 последние группы, оценивая их как суммарную CD45^{neg}-фракцию СКК. Данные в отношении экспрессии CD45 в пределах CD34⁺-клеток приведены в табл. 1. Более чем в половине образцов (35 из 63) количество CD34⁺CD45^{neg}-клеток составило 20,0% и больше, а в 20,6% случаев суммарная нега-

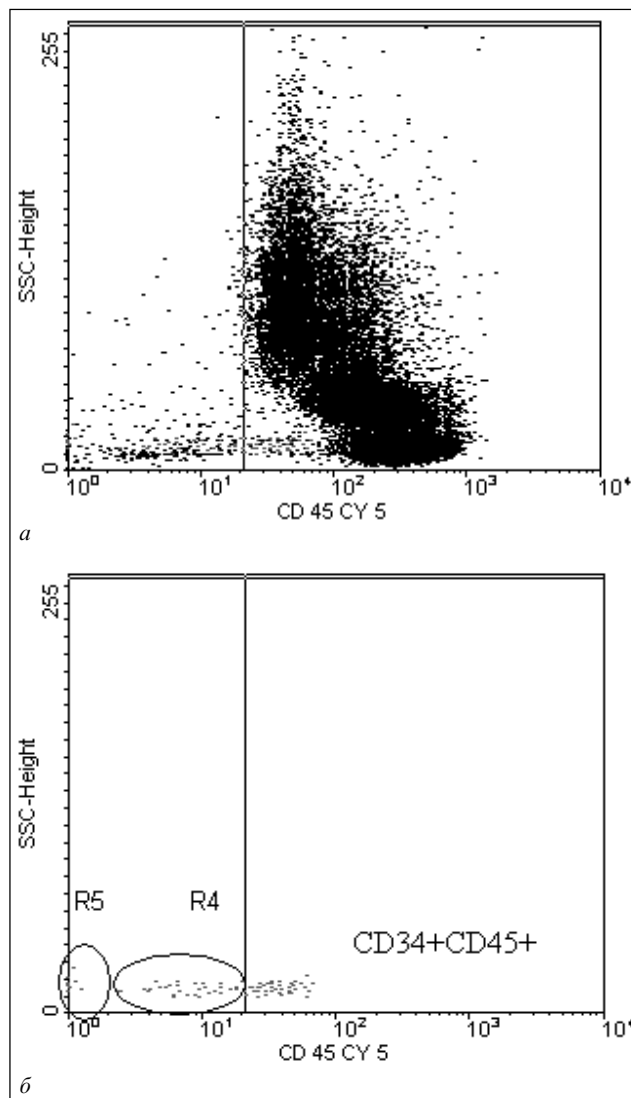


Рис. 2. Уровни экспрессия CD45 на CD34⁺-клетках в образце лейкоконцентрата: по оси абсцисс – экспрессия общелейкоцитарного антигена CD45, по оси ординат – параметр SSC. Контрольный маркер установлен таким образом, чтобы CD45⁺-клетки образца оказались справа (по гранулоцитам). На части CD34⁺-стволовых клеток уровни экспрессии CD45 антигена соответствуют таковым на гранулоцитах; по оси абсцисс – экспрессия общелейкоцитарного антигена CD45, по оси ординат – параметр SSC. На цитограмме только CD34⁺-клетки. Отчетливо видно деление суммарного пула CD34⁺-клеток на различные в отношении экспрессии CD45 антигена субпопуляции. Позитивная, CD34⁺CD45^{+/low} – правее контрольного маркера, уровень экспрессии CD45 в данной популяции соответствует уровню гранулоцитов, процент таких клеток в образце составил 45,5%. Суммарная популяция CD34⁺CD45^{neg}-клеток (54,5%) левее контрольного маркера. В пределах данной популяции можно разграничить еще 2 субпопуляции клеток, которые мы условно обозначили CD34⁺CD45^{-/low} (R4 на цитограмме, 32% от всех CD34⁺-клеток) и CD34⁺CD45⁻ (R5 на цитограмме 12,5% от всех CD34⁺-клеток)

тивная по экспрессии CD45-антигена популяция стволовых клеток превысила 50,0%. 72% образцов (44 из 61) содержали стволовые CD34⁺-клетки, четко отрицательные

Таблица 1

Субпопуляции стволовых CD34⁺-клеток, выделенные на основании уровней экспрессии общелейкоцитарного антигена CD45

| Показатель/характеристика | Относительное содержание клеток (%) | | | Образцы, n |
|---|-------------------------------------|---------|-------------------|------------|
| | средние ±ст. ошибка | медиана | диапазон значений | |
| CD34 ⁺ -лейкоциты | 0,35±0,03 | 0,27 | 0,02 1,25 | 70 |
| CD34 ⁺ CD45 ⁺ /low-клетки в пределах всех CD34 ⁺ -клеток | 69,98±2,98 | 76,3 | 1,5 100,0 | 63 |
| CD34 ⁺ CD45neg-клетки в пределах всех CD34 ⁺ -клеток, в том числе: | 31,03±2,99 | 24,6 | 0,7 98,6 | 61 |
| фракция CD34 ⁺ CD45 ^{+/low} -клеток | 21,5±1,82 | 19,3 | 0,7 60,7 | |
| фракция CD34 ⁺ CD45 ⁻ -клеток | 9,68±2,18 | 3,1 | 0,0 82,6 | |

по экспрессии общелейкоцитарного антигена. При этом в 7 случаях (11,1 %) количество таких клеток превысило 20,0% и в трех образцах субпопуляция CD34⁺CD45⁻ составило более 60 % от всех CD34⁺-клеток (68,4; 73,8; 82,6% соответственно).

Уровни экспрессии стволовых CD34 в пределах описываемых субпопуляций оказались различными. Так, фракция CD34⁺CD45neg демонстрировала более яркую экспрессию CD34 по сравнению с CD34⁺CD45^{+/low}-клетками (рис. 3).

Экспрессия HLA-DR на стволовых CD34⁺-клетках была достаточно выраженной (от 44,5 до 99,9 %, рис. 1, б). В большинстве образцов DR⁺-клетки составляли более 80,0% среди всех CD34⁺-клеток. Популяция CD34⁺ DR⁻-клеток была незначительной и в среднем по группе составила 9,35 % (медиана 5,8 %, от 0,0 до 55,5 %). Всего лишь три образца содержали более 30,0% CD34⁺ DR⁻-клеток (55,5 %, 44,7 % и 32,2 %). В 26 случаях оценена экспрессия молекулы HLA-DR в образцах, содержащих субпопуляции CD45neg CD34⁺ СКК (табл. 2). Только 9,53 % CD34⁺ СКК в данных образцах оказались DR-негативными, что практически не отличалось от количества DR⁻ CD34⁺-клеток при анализе всей группы образцов (табл. 2).

В 9 образцах нам удалось оценить экспрессию молекулы HLA-DR непосредственно во фракции CD34⁺ CD45neg-клеток (тройная флуоресцентная метка, сочетание CD45PerCP/DR PE/CD34 FITC) и только 6,4 % CD34⁺ CD45neg-клеток (медиана 4,2 %, от 0,7 до 18,8 %) оказались DR⁻. Число четко негативных в отношении экспрессии CD45 СКК в данных образцах достоверно коррелировало с количеством CD45⁺DR⁺CD34⁺-клеток (p=0,783, R=0,013, n=9).

Экспрессия CD38 на CD34⁺СКК оказалась более гетерогенной по сравнению с HLA-DR (пример экспрессии – рис. 1, б). Во всех образцах лейкоконцентратов присутствовала популяция CD34⁺CD38⁻-клеток, в среднем по всей группе их количество составило 35,3 % (медиана 28,8 %, с разбросом значений от 1,9 до 89,3 %). В образцах, содержащих CD34⁺ CD45neg-клетки, количество CD38⁻ СКК было несколько более высоким по сравнению с относительным содержанием DR⁻CD34⁺-клеток – 38,9% в среднем (от 5,4% до 89,3 %, медиана 36,3 %). В 12 образцах мы оценили количество двойных негативных CD34⁺ СКК (CD34⁺DR⁻CD38⁻). В среднем субпопуляция CD34⁺DR⁻CD38⁻-клеток составила 4,36±1,92 % (медиана 2,35, разброс от 0,0 до 23,4 %), только в 3 образцах лейкоконцентратов количество клеток с указанным фенотипом составляло более 5,0 %, а в одном – 23,4 %. В одном образце CD34⁺DR⁻CD38⁻-клетки отсутствовали (0,0 %), и во всех 12 образцах присутствовала популяция CD45neg СКК.

В образцах, содержащих популяцию двойных негативных стволовых клеток (CD34⁺DR⁻CD38⁻), пропорция CD34⁺CD45neg-клеток составляла в среднем 25,2% (от 3,3 до 74,1 %, медиана 24,6, n=11). Субпопуляция CD34⁺CD45⁻

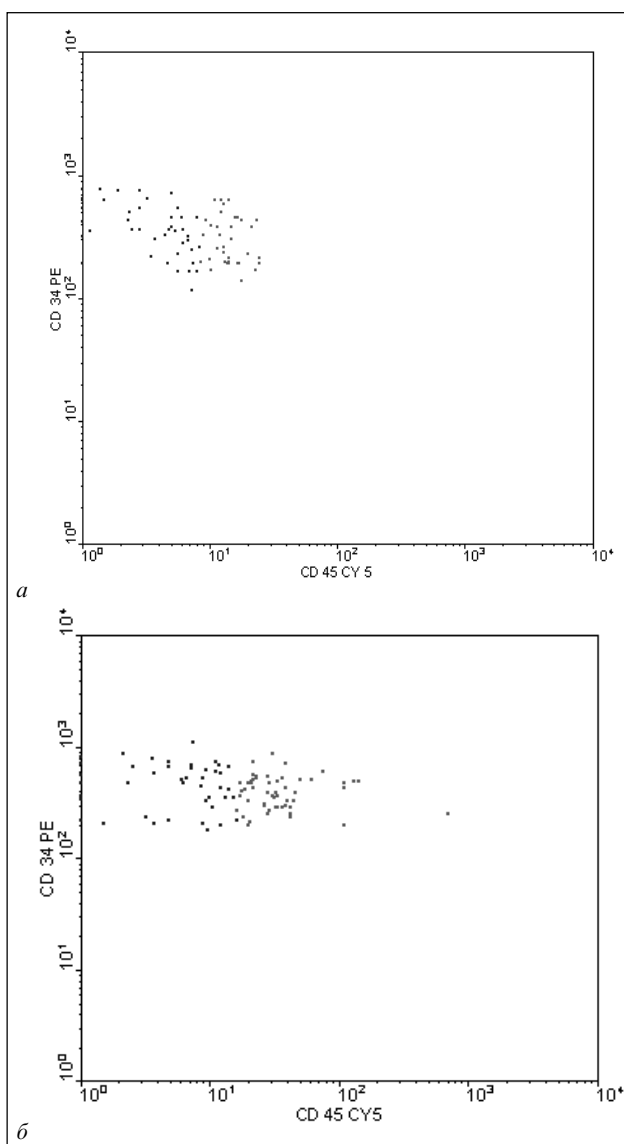


Рис. 3. Уровни экспрессии CD34 в зависимости от экспрессии на СКК CD45 антигена: а, б – образцы лейкоконцентратов двух различных доноров. В обоих случаях по оси абсцисс – экспрессия общелейкоцитарного антигена CD45, по оси ординат – экспрессия стволовых CD34. На цитограммах представлены только CD34⁺-клетки (популяция CD34⁺CD45^{+/low}- и популяция CD34⁺CD45neg-клеток). Достаточно отчетливо видно, что уровень экспрессии стволовых CD34 в популяции CD34⁺CD45neg более высокий по сравнению с CD45⁺-клетками

составляла 3,9% (от 0,0 до 13,4%, медиана 3,1, n=11). Значимых корреляций между количеством CD38⁺DR⁻ стволовых клеток и числом CD45⁻CD34⁺-клеток нами не получено.

Стволовые CD34⁺-клетки представляют собой гетерогенный клеточный пул, включающий клетки разного уровня дифференцировки от истинно стволовых CD34⁺lin⁺ до линейно-коммитированных, унипотентных CD34⁺low, lin⁺ [6]. И если популяции коммитированных гемопоэтических клеток-предшественниц описаны достаточно подробно (иммунологический фенотип, способность инициировать рост колоний кроветворных клеток) [1, 2, 4, 10], то выявление новых маркеров, позволяющих оценить субпопуляцию наиболее ранних СКК, остается актуальным. Одной из таких молекул может оказаться общелейкоцитарный антиген CD45.

Ранее при детальном анализе пула стволовых кроветворных клеток нами показано, что экспрессия CD45-антигена на CD34⁺-клетках не является однородной. Анализ образцов лейкоконцентратов у онкологических больных продемонстрировал гетерогенность пула стволовых CD34⁺-клеток по CD45, в сопоставлении с изотипическим контролем, даже при условии выбора гейтов в рамках стандартного ISHAGE-протокола [2].

Гетерогенными в отношении экспрессии общелейкоцитарного антигена оказались мобилизованные СКК больных с последствиями тяжелой травмы спинного мозга – в 72% случаев выявлялась отчетливые популяции CD34⁺-клеток со слабой экспрессией (ниже уровня гранулоцитов) CD45-антигена и/или с полным его отсутствием [14].

В данном исследовании при анализе мобилизованных СКК здоровых доноров пропорция образцов, содержащих CD34⁺CD45neg-клетки, была более выраженной и составила 97%. Всего лишь в двух образцах донорских лейкоконцентратов не выявлено фракции CD34⁺CD45neg-клеток. Как у больных с травмой спинного мозга, так и у доноров среди CD34⁺ выявлялось две субпопуляции, разграничиваемые по уровню CD45: экспрессирующие CD45 очень слабо, слабее уровня гранулоцитов (CD34⁺CD45^{-low}) и строго негативные в отношении CD45 стволовые CD34⁺-клетки (CD34⁺CD45⁻). 72% образцов донорских лейкоконцентратов содержали четко отрицательные по экспрессии общелейкоцитарного антигена стволовые

клетки, а в 16% случаев количество CD34⁺CD45⁻-клеток было более 20%. Наличие выраженной субпопуляции (более 20,0% клеток) CD34⁺CD45^{-low} продемонстрировано нами ранее и у онкологических больных взрослого возраста [2].

Заслуживает внимания факт более яркой экспрессии CD34 в популяции CD45neg-стволовых клеток по сравнению с CD45⁺/low-стволовыми клетками, поскольку показано, что экспрессия ствовоклеточного антигена наиболее яркая на ранних некоммитированных гемопоэтических клетках-предшественницах [6].

Известно, что экспрессия молекулы CD34 не ограничивается только гемопоэтическими клетками, но также она характерна для стромальных предшественников, которые составляют незначительную часть в пределах субпопуляции CD34⁺DR⁻CD38⁻-клеток [11, 15]. Однако большинство клеток субпопуляции CD34⁺HLA-DR⁻CD38⁻ может быть охарактеризовано как ранние СКК. Клетки именно с таким фенотипом преобладают среди предшественников, инициирующих рост долгосрочных клеточных культур и культур клеток с высоким потенциалом пролиферации [9, 12]. Экспрессия молекулы HLA-DR на СКК достаточно выраженная и по данным различных авторов составляет 80–90% как среди CD34⁺ мобилизованных клеток периферической крови, так в костном мозге и в пуповинной крови [9, 10]. Ранее нами показано, что периферические мобилизованные СКК онкологических больных взрослого возраста в большинстве своем являются HLA-DR-позитивными (84,6% CD34⁺-лейкоцитов). Однако ряд образцов демонстрировал более низкое содержание CD34⁺DR⁺-клеток и до 40% CD34⁺-клеток были DR⁻. Наличие выраженного количества CD34⁺DR⁻ клеток в лейкоконцентратах у онкологических больных совпадало с максимумом числа CD34⁺-клеток в образцах [3, 8].

Средний процент DR-негативных мобилизованных стволовых CD34⁺-клеток доноров (9,3%) практически не отличался от количества таких клеток у больных с последствиями тяжелой травмы спинного мозга и совпадал с литературными данными в отношении донорских CD34⁺DR⁻-клеток и CD34⁺-клеток, выделенных из пуповинной крови и костного мозга [9]. Экспрессия молекулы CD38 на стволовых CD34⁺-клетках доноров оказалась более гетерогенной, чем экспрессия HLA-DR, и во всех образцах выявлялись CD34⁺CD38⁻-клетки.

При этом их уровень варьировал от 1,9 до 89,0% среди всех CD34⁺-клеток. Подобная картина наблюдалась и в образцах лейкоконцентратов у онкологических больных [2, 4], однако диапазон значений был несколько уже (21,0–74%).

В большинстве образцов донорских СКК 40% CD34⁺CD45neg-клеток и более демонстрируют фенотип CD34⁺CD45neg HLA-DR⁻ и более 50% CD34⁺CD45neg-клеток отрицательны по CD38.

Субпопуляция DR⁻CD38⁻CD34⁺-СКК у доноров составляла в среднем

Таблица 2

Экспрессия HLA-DR и CD38 на стволовых клетках в группе образцов, содержащих негативные по экспрессии общелейкоцитарного антигена CD34⁺-клетки

| Показатель/оцениваемая субпопуляция | Относительное содержание клеток (%) в пределах CD34 ⁺ -клеток | | | Образцы, n |
|---------------------------------------|--|---------|-------------------|------------|
| | средние ± ст. ошибка | медиана | диапазон значений | |
| CD34 ⁺ HLA-DR ⁺ | 90,2±2,69 | 93,7 | 44,5 99,9 | 26 |
| CD34 ⁺ HLA-DR ⁻ | 9,53±2,71 | 5,9 | 0,0 55,5 | 26 |
| CD45neg HLA-DR ⁺ * | 29,2±8,9 | 18,3 | 1,5 72,4 | 9 |
| CD34 ⁺ CD38 ⁺ | 58,4±4,9 | 60,1 | 10,6 93,3 | 27 |
| CD34 ⁺ CD38 ⁻ | 38,9±4,9 | 36,3 | 5,4 89,3 | 27 |

Примечание: пропорция CD45neg HLADR⁺-клеток, установленная при трехцветной проточной цитометрии, одномоментная оценка экспрессии на мембране стволовой CD34⁺-клетки антигенов CD45 и HLA-DR.

4,4%, что было ниже, чем в образцах лейкоконцентратов больных с последствиями тяжелой травмы спинного мозга [14]. Только в 3 донорских лейкоконцентратах из 12 оцененных присутствовало более 5% CD34⁺CD38⁻DR⁻-клеток. Тогда как у больных с травмой большинство образцов содержали 5% и более стволовых клеток с таким фенотипом, а в двух случаях их число превысило 15%. Количество CD45^{neg} СКК в образцах содержащих CD38-DR-клетки значительно варьировало, в 8 из 11 образцов было более 20%, а в одном случае составило 74,1%.

Таким образом, мы подтвердили неоднородность пула стволовых кроветворных клеток в отношении экспрессии CD45-антигена и возможность существования различных дискретных субпопуляций CD45^{neg}-стволовых CD34⁺ клеток в образцах кроветворной ткани (мобилизованные клетки периферической крови) здоровых доноров, отличающихся как по уровням экспрессии CD45, так и по экспрессии молекул HLA-DR и CD38.

Установление природы субпопуляции CD34⁺CD45^{neg} HLADR-CD38-клеток (эндотелиальные, гемопоэтические) требует дополнительных более детальных исследований.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева, Л. Ю. Гемопоэтические клетки-предшественницы как показатель эффективности сбора гемопоэтического материала аутотрансплантации и полноценности восстановления кроветворения у взрослых пациентов / Л. Ю. Андреева, Н. Н. Тупицын // Клини. геронтол. – 2002. – № 1. – С. 14–21.
2. Андреева, Л. Ю. Субпопуляции периферических стволовых гемопоэтических клеток (ПСГК). Протоочно-цитофлюориметрическая идентификация ПСГК на основании светорассеяния и экспрессии CD34, CD45, AC133 / Л. Ю. Андреева, Н. Н. Тупицын // Вопросы гематол./онкол. и иммунол. в педиатрии. – 2002. – № 1 (1). – С. 60–65.
3. Allan, D. S. Bone Marrow / D. S. Allan, M. Keeney, K. Howson-Jan // Transplant. – 2002. – № 29. – P. 967–972.
4. Андреева, Л. Ю. Immunophenotyping heterogeneity of human mobilized peripheral blood stem cells (PBSC) / L. Yu. Andreeva, N. N. Tupitsyn // Leucocyte typing VII / eds. by D. Mason. – Oxford: Oxford Univ. Press, 2000. – P. 637–639.
5. Blood. – 1995. – № 10 (12). – P. 1881–1889.
6. Kaufman, D. S. Hematopoietic colony-forming cells derived from human embryonic stem cells / D. S. Kaufman [et al] // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2001. – № 98. – P. 10716–10721.
7. Kraus, D. CD34 : structure, biology and clinical utility / D. Kraus [et al] // Blood. – 1996. – № 87. – P. 1–15.
8. Mayani, H. Thy-1 expression is linked to functional properties of primitive hematopoietic progenitor cells from human umbilical cord blood / H. Mayani [et al] // Blood. – 1994. – № 83. – P. 2410–2417.
9. Odorico, J. S. Multilineage differentiation from human embryonic stem cells lines / J. S. Odorico, D. S. Kaufman, J. A. Thomson // Stem Cells. – 2001. – № 19. – P. 193–204.
10. Prosper, F. Phenotypic and functional characterization of long-term culture-initial cells present in peripheral blood progenitor collections of normal donors treated with granulocyte colony-stimulating factor / F. Prosper, D. Strocck, C. M. Verfaillie // Blood. – 1996. – № 88 (6). – P. 2033–2042.
11. Serke, S. Analysis of CD34-positive hemopoietic progenitor cells from normal human adult peripheral blood : flow-cytometrical studies and *in vitro* colony (CFU-GM, BFU-E) assays / S. Serke [et al] // Ann. Hematol. – 1991. – № 62. – P. 45–53.

12. Steurer, M. Quantification of circulating endothelial ang progenitor cells : comprasion of quantitative PCR and four-channel flow cytometry / M. Steurer [et al] // BMC Research Notes. – 2008. – № 1. – P. 71–78.

13. Sutherland, H. J. Characterization and partial purification of human marrow cells capable of initiating long-term hematopoiesis *in vitro* / H. J. Sutherland [et al] // Blood. – 1989. – № 74. – P. 1563–1570.

14. Thomas, M. L. The leukocyte common antigen family / M. L. Thomas // Annu. Rev. Immunol. – 1989. – № 7. – P. 339–369.

15. Tupitsyn, N. N. Immunophenotyping peculiarities of mobilized stem (CD34⁺) cells in blood from patients with severe spinal cord injury / N. N. Tupitsyn [et al] // Haematopoiesis Immunology. – 2007. – № 4. – P. 83–89.

РЕЗЮМЕ

Л. Ю. Гривцова

Экспрессия общелейкоцитарного антигена CD45 на мобилизованных (CD34⁺) стволовых клетках крови здоровых доноров

CD34⁺-стволовые клетки крови (СКК) представляют собой гетерогенный клеточный пул, включающий как истинно стволовые CD34⁺lin⁻, так и линейно-коммитированные унипотентные CD34⁺/low lin⁻ клетки. Выявление новых маркеров, позволяющих оценить субпопуляцию наиболее ранних СКК, до сих пор актуально. Одной из таких молекул может оказаться общелейкоцитарный антиген CD45. В данной работе проанализирована экспрессия CD45 и маркеров, ассоциированных с фракцией ранних СКК – молекул HLA-DR и CD38 в 63 образцах мобилизованных стволовых гемопоэтических (CD34⁺) клеток доноров кроветворной ткани для аллогенной трансплантации. В 72% образцов продемонстрировано наличие четкой популяции CD34⁺CD45⁻-клеток, и в 16% случаев количество таких клеток было более 20,0%. В большинстве образцов 40% CD34⁺CD45^{neg}-клеток не экспрессировали молекулу HLA-DR и более 50% таких клеток были отрицательны по CD38. Таким образом, показана возможность существования различных, дискретных субпопуляций CD45^{neg}-стволовых CD34⁺-клеток в образцах кроветворной ткани здоровых доноров, отличающихся как по уровням экспрессии CD45, так и по экспрессии молекул HLA-DR и CD38.

Ключевые слова: стволовые клетки крови, общий лейкоцитарный антиген, здоровые доноры.

SUMMARY

L. Yu. Griutsova

Expression of common leucocyte antigen CD45 on mobilized peripheral blood stem cells (CD34⁺) in healthy individuals

CD34⁺ blood stem cells (BSC) represent a highly heterogeneous cell pool which includes both true stem cells (CD34⁺Lin⁻) and lineage committed precursors (CD34[±]low Lin⁺). Study of CD45 expression seems helpful in early CD34⁺ BSC characterization. We have investigated both CD45 and early stem cell markers (HLA-DR, CD38) on mobilized BSC in 63 samples of leukapheresis product (from donors for allogeneic haematopoietic stem cell transplantation). Evident proportion of CD34⁺CD45⁻ BSC fraction was noted in 72% of the samples, in 16% of the samples the number of such cells was over 20%. In most CD34⁺CD45⁻ cases more than 40% of BSC did not express HLA-DR, and more than 50% were CD38-negative. So, fractions of CD45-negative mobilized BSC may exist in most healthy individuals, and immaturity of these cells can be additionally confirmed by absence of membrane HLA-DR and CD38.

Key words: blood stem cells, common leucocyte antigen, healthy donors.

© В. А. Ершов, К. В. Федосенко, 2009 г.
УДК 616.36-006.6-079.4

В. А. Ершов, К. В. Федосенко

К ВОПРОСУ ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНОЙ МОРФОЛОГИЧЕСКОЙ ДИАГНОСТИКИ ПЕРВИЧНОЙ АДЕНОКАРЦИНОМЫ ПЕЧЕНИ

Городской клинический онкологический диспансер, Санкт-Петербург

Одной из проблем в онкоморфологии является дифференциальная диагностика редко встречаемых в нашей стране вариантов первичного рака печени железистого строения – гепатоцеллюлярной аденокарциномы и холангиоцеллюлярного рака [1, 2, 9]. Сходство гистологического строения опухолей, утрата опухолевыми клетками, особенно при снижении дифференцировки, морфологических критериев, позволяющих ассоциировать их с исходными клеточными формами, отсутствие достоверных специфических иммуноморфологических маркеров существенно затрудняют дифференциальную диагностику железистого варианта гепатоцеллюлярного и холангиоцеллюлярного рака, необходимую для проведения адекватного лечения больных [2, 9].

Целью нашего исследования являлось сопоставление гистологических и цитологических картин гепато- и холангиоцеллюлярной аденокарциномы и выявление характерных для них дифференциальных критериев.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проанализированы результаты морфологического исследования трепан-биоптатов узловых образований печени 10 больных гепатоцеллюлярной аденокарциномой и 13 больных холангиоцеллюлярным раком, находившихся на обследовании и лечении в Санкт-Петербургском городском клиническом онкологическом диспансере с апреля 2004 г. по март 2009 г. включительно. Среди них были 9 мужчин и 14 женщин 24–79 лет. Соотношение мужчин и женщин, больных гепатоцеллюлярной аденокарциномой составило – 1:2,3, холангиоцеллюлярным раком – 1:1,2. Наибольшее количество больных гепато- и холангиоцеллюлярным раком (7 и 9 человек соответственно) выявлено в возрастной группе 60–69 лет.

Материал для гистологического и цитологического исследований в получали в результате трепан-биопсии пораженного участка печени, проводимой по стандартной методике под контролем УЗИ [3, 11].

От трепан-биоптата для приготовления цитологических препаратов отсекали хирургическим скальпелем 3 кусочка по 0,1–0,2 см и размещали на 3 предметных стекла по одному на каждое, после чего каждый кусочек ткани, плотно прижимая к предметному стеклу, перемещали по одной из его половин. Оставшиеся фрагменты помещали на другую

половину предметного стекла, накладывали на него второе предметное стекло и аккуратно раздавливали между ними, одновременно размазывая по их поверхности. Оставшийся столбик ткани помещали в 10% раствор формалина и направляли для гистологического исследования [3].

Гистологические препараты трепан-биоптатов окрашивали гематоксилином и эозином, альциановым синим, по методу ван Гизон. В 13 случаях дополнительно проводили иммуногистохимические исследования с использованием специальных наборов производства фирмы *Dako* для определения панцитокератина (АЕ1/АЕ3), цитокератина 7 (СК7), моноклонального ракового эмбрионального антигена (СЕА). Цитологические препараты окрашивали азуром-эозином, альциановым синим и суданом III.

При гистологическом исследовании определяли форму, степень дифференцировки рака, структуру опухоли, с помощью видеонализатора «ВидеоТесТ-Морфология» рассчитывали объемные плотности ее паренхиматозного и стромального компонентов, оценивали клеточные и внеклеточные изменения.

При цитологическом исследовании определяли форму и степень дифференцировки рака, соотношение клеточных комплексов в препаратах, используя видеонализатор «ВидеоТесТ-Морфология», оценивали форму и размеры клеток, ядерные и цитоплазматические изменения в них.

Заключения о форме и степени дифференцировки рака печени формулировали в соответствии с гистологической классификацией опухолей печени [12].

Достоверность различий между исследуемыми показателями оценивали на основании критериев Стьюдента и Вилкоксона–Манна–Уитни с уровнем значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При гистологическом исследовании наблюдали высоко-, умеренно- и низкодифференцированные аденокарциномы тубулярной, тубулярно-папиллярной или скirrosной структуры. Во всех случаях в гистологических препаратах объемная плотность паренхиматозного компонента уменьшалась при снижении дифференцировки опухоли (таблица).

В гистологических препаратах высокодифференцированных опухолей наблюдали железы округлой формы мелких размеров, выстланные однослойным кубическим или уплощенным цилиндрическим эпителием с базальным расположением гиперхромных ядер и гомогенной цитоплазмой. Просветы желез в гистологических препаратах высокодифференцированного железистого гепатоцеллюлярного рака заполнены желчью или слизью, в препаратах холангиокарциномы – скоплениями муцина.

В гистологических препаратах – умереннодифференцированных опухолей железы округлой и неправильной формы средних и крупных размеров, выстланные одно- и двухрядным эпителием. Клетки преимущественно округлой и цилиндрической формы с базально расположенными гиперхромными ядрами, гомогенной или вакуолизированной обильной цитоплазмой с включениями

ми муцина. В гистологических препаратах умереннодифференцированной холангиоцеллюлярной аденокарциномы в просвете крупных желез отмечены папиллярные структуры. В 28,8 % гистологических препаратов железистого варианта гепатоцеллюлярного рака в просвете желез наблюдали мелкие комочки желчи, в остальных случаях – умереннодифференцированных гепатоцеллюлярной аденокарциномы и холангиокарциномы – слизистые массы.

Паренхима низкодифференцированных опухолей представлена железами средних и мелких размеров вытянутой формы с узкими щелевидными просветами, выстланными 1–3 слоями клеток эпителия неправильно округлой формы, формирующими в просвете некоторых желез солидные участки.

Строма первичных и вторичных опухолей печени представлена эластическими или продуцирующими кислые мукополисахариды коллагеновыми волокнами, формирующими межжелезистые прослойки и участки фиброза (таблица). В препаратах высокодифференцированных опухолей наблюдали преимущественно рыхлую структуру стромы с диффузной лимфоидной инфильтрацией, дополняемую в случаях умереннодифференцированных опухолей плотными фиброзными участками. В препаратах рака с низкой дифференцировкой преобладала плотная компоновка фиброцитов. Стромальный компонент умереннодифференцированных опухолей частично, а низкодифференцированных полностью отграничивал опухолевую паренхиму от окружающей паренхимы печени. В собственных сосудах умеренно- и низкодифференцированных опухолей печени наблюдали раковые эмболы и экстравазию.

В случае высокодифференцированного железистого варианта гепатоцеллюлярного рака опухолевые железы окружали участки паренхимы печени ацинарной структуры. В остальных наблюдениях гистоархитектоника печени была сохранена, и в прилежащих к опухолевым структурам гепатоцитах отмечена белковая дистрофия.

При цитологическом исследовании гепато- и холангиоцеллюлярной аденокарциномы определяли высокую, умеренную и низкую дифференцировку железистого рака. Опухолевые клетки в цитологических препаратах расположены разрозненно или сгруппированы в комплексы.

В препаратах высокодифференцированной аденокарциномы наблюдали клетки мелких размеров кубической и цилиндрической формы со смещенными к одному из полюсов нормохромными ядрами округлой и овальной формы с глыбчатым хроматином, 1–2 ядрышками и с, преимущественно, гомогенной цитоплазмой.

Клетки умереннодифференцированного железистого рака преимущественно средних размеров, цилиндрической, овальной и округлой формы с округлыми гиперхромными ядрами с глыбчатым хроматином, 1–2 ядрышками. В ядрах $0,52 \pm 0,14$ % клеток препарата видны мелкие

Гистологические критерии гепатоцеллюлярной и холангиоцеллюлярной аденокарциномы

| Форма рака печени | Степень дифференцировки опухоли | Объемная плотность паренхимы опухоли (%) | Гистологическая структура опухоли | Тип стромы |
|------------------------------------|---------------------------------|--|-----------------------------------|-----------------------------|
| Гепатоцеллюлярная аденокарцинома | Высокая | $98,72 \pm 0,22$ | Тубулярная | Эластическая |
| | Умеренная | $75,24 \pm 0,86$ | Тубулярная | Эластическая и коллагеновая |
| | Низкая | $35,65 \pm 0,96$ | Скиррозная | Коллагеновая |
| Холангиоцеллюлярная аденокарцинома | Высокая | $96,42 \pm 0,37$ | Тубулярная | Эластическая |
| | Умеренная | $84,18 \pm 0,72$ | Тубулярно-папиллярная | Эластическая и коллагеновая |
| | Низкая | $60,36 \pm 0,97$ | Тубулярная | Коллагеновая |

вакуоли. Цитоплазма в $30,14 \pm 0,92$ % клеток мелко- и $16,52 \pm 0,74$ % крупновакуолизированная. Количество многоядерных клеток составило $6,84 \pm 0,50$ %, клеток с митозами – $1,52 \pm 0,24$ %, клеток с патологическими митозами – $2,00 \pm 0,09$ % от общей численности клеток рака в препарате.

Клетки низкодифференцированной аденокарциномы средних и крупных размеров округлой и овальной формы с гиперхромными уродливыми крупными ядрами с глыбчатым хроматином, 1–4 ядрышками. В ядрах $3,52 \pm 0,36$ % из них видны одна крупная или несколько мелких вакуолей. Цитоплазма в $29,12 \pm 0,91$ % опухолевых клеток мелко-, в $10,82 \pm 0,62$ % – крупновакуолизированная. Встречали многоядерные клетки ($6,96 \pm 0,50$ %), клетки с митозами ($2,22 \pm 0,29$ %), в том числе патологическими ($0,82 \pm 0,18$ %).

В опухолевых клетках в цитологических препаратах гепатоцеллюлярной аденокарциномы, окрашенных суданом III, наблюдали жирные кислоты, дополняемые в единичных из них ($1,69 \pm 0,26$ %) скоплениями желчного пигмента. В ходе анализа выявлено, что при снижении дифференцировки железистого варианта гепатоцеллюлярного рака уменьшалось число клеток с липидами с $49,93 \pm 1,00$ % в препаратах высокодифференцированной опухоли до $33,25 \pm 0,94$ % в препаратах низкодифференцированного рака.

В цитограммах первичных аденокарцином печени в зависимости от их дифференцировки отметили преобладание в численном отношении того или иного вида клеточного комплекса. Так, в цитологических препаратах гепатоцеллюлярной аденокарциномы во всех случаях первое место по численности занимали розетковидные комплексы, количество которых в препаратах высокодифференцированных опухолей составило $72,76 \pm 0,89$ %, умереннодифференцированных – $60,46 \pm 0,98$ %, низкодифференцированных – $81,92 \pm 0,77$ % соответственно. В препаратах высоко- и низкодифференцированной холангиокарциномы преобладали папиллярные комплексы ($57,48 \pm 0,99$ % и $36,38 \pm 0,96$ % соответственно), в препаратах умереннодифференцированного рака – розетковидные ($36,84 \pm 0,96$ %) группировки.

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия эпителиального маркера AE1/AE3, более характерная для гепатоцитов [8], обнаружена в опухолевых клетках в 87,5 % случаев железистого варианта гепатоцеллюлярного рака. Из них положительная реакция на панцитокератин отмечена в клетках высокодифференцированной, низкодифференцированной и в 4 из 5 исследований

умереннодифференцированной гепатоцеллюлярной аденокарциномы. Во всех иммуногистохимических исследованиях умеренно- и низкодифференцированной холангиокарцином в опухолевых клетках выявлена экспрессия AE1/AE3. В окружающих опухоль гепатоцитах во всех наблюдениях обнаружена экспрессия AE1/AE3, что подтверждает их эпителиальный генез [5].

При иммуногистохимическом исследовании экспрессия СК7, более специфичная для клеток желчных протоков [4, 5, 7, 8, 12], выявлена в 50 % случаев гепатоцеллюлярной и в 60 % случаев холангиоцеллюлярной аденокарцином. Из них в препаратах железистого варианта гепатоцеллюлярного рака экспрессия СК7 обнаружена в опухолевых клетках высокодифференцированной опухоли, в 2 из 5 случаев умеренно- и в половине случаев низкодифференцированной гепатоцеллюлярной аденокарциномы. При иммуногистохимическом исследовании холангиокарциномы экспрессия СК7 выявлена в трети случаев умеренно- и во всех случаях низкодифференцированного рака. В окружающих опухоль гепатоцитах во всех наблюдениях реакция на цитокератин 7 была отрицательной, что подтверждает специфичность данного маркера для эпителия желчных протоков.

Экспрессия СЕА, характерная для гепатоцеллюлярного и холангиоцеллюлярного рака [5, 6], обнаружена в опухолевых клетках в 3 из 5 случаев умереннодифференцированной гепатоцеллюлярной аденокарциномы и в трети наблюдений умереннодифференцированного холангиоцеллюлярного рака. В окружающих опухоль гепатоцитах во всех исследованиях реакция на СЕА была отрицательной.

ВЫВОДЫ

1. Наличие в просвете желез желчных кислот и липидов в опухолевых клетках является характерным признаком гепатоцеллюлярной аденокарциномы, который позволяет при морфологическом исследовании трепан-биоптатов первичных опухолей печени отличить ее от холангиоцеллюлярного рака.

2. Сопоставление степени дифференцировки, гистологической структуры и преобладающего в цитологическом препарате вида клеточного комплекса можно использовать как дополнительный критерий в дифференциальной диагностике гепато- и холангиоцеллюлярной аденокарцином.

3. Экспрессия цитокератина 7 в клетках гепатоцеллюлярной аденокарциномы может служить признаком завершения процесса метаплазии малигнизированных гепатоцитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Гарин, А. М.* Злокачественные опухоли пищеварительной системы / А. М. Гарин, И. С. Базин. – М., 2003. – 264 с.

2. *Головин, Д. И.* Ошибки и трудности гистологической диагностики опухолей / Д. И. Головин. – Л., 1982. – 303 с.

3. *Ершов, В. А.* Диагностика узловых образований печени в онкологической практике / В. А. Ершов, А. Г. Рылло, В. С. Сидорин; под ред. Г. М. Манхаса. – СПб., 2007. – 84 с.

4. *Непомнящая, Е. М.* Морфологическая характеристика первичного и метастатического рака печени / Е. М. Непомнящая, С. А. Гусарев. – Ростов н/Д, 2006. – 157 с.

5. *Петров, С. В.* Руководство по иммуногистохимической диагностике опухолей человека / С. В. Петров, Н. Т. Райхлин. – Казань, 2004. – 456 с.

6. *Серов, В. В.* Морфологическая диагностика заболеваний печени / В. В. Серов, К. Лапиш. – М., 1989. – 336 с.

7. *Щеголев, А. И.* Первичный плоскоклеточный рак печени / А. И. Щеголев [и др.] // Архив патол. – 2006. – Вып. 68. – № 3. – С. 28–30.

8. *Diagnostic immunohistochemistry* / eds by D. J. Dabbs. – Edinburgh, 2003. – 673 p.

9. *Okuda, K.* Hepatobiliary diseases: pathophysiology and imaging / K. Okuda [et al]. – Oxford, 2001. – 820 p.

10. *Prokop, M.* Spiral and multislice computed tomography of the body / M. Prokop, M. Galanski. – N.-Y., 2003. – 1090 p.

11. *Rockey, D. C.* Liver biopsy / D. C. Rockey [et al] // *Hepatology*. – 2009. – Vol. 49. – № 3. – P. 1017–1044.

12. *Tumours of the liver and intrahepatic bile ducts* // *Pathology and genetics of tumours of the digestive system: World Health Organization classification of tumours* / eds by S. R. Hamilton, L. A. Aaltonen. – Lyon, 2000. – P. 157–202.

РЕЗЮМЕ

В. А. Ершов, К. В. Федосенко

К вопросу дифференциальной морфологической диагностики первичной аденокарциномы печени

Исследовано 23 биопсии больных первичным железистым раком печени. Наличие в просвете желез желчных кислот и в опухолевых клетках липидов являются морфологическими критериями гепатоцеллюлярной аденокарциномы. Сопоставление степени дифференцировки, гистологической структуры и преобладающего в цитологическом препарате вида клеточного комплекса можно использовать как дополнительный критерий в дифференциальной диагностике гепато- и холангиоцеллюлярной аденокарцином. Экспрессия цитокератина 7 в клетках гепатоцеллюлярной аденокарциномы может служить признаком завершения процесса метаплазии малигнизированных гепатоцитов.

Ключевые слова: аденокарцинома, печень, липиды, экспрессия.

SUMMARY

W. A. Ershov, K. V. Fedosenko

The problem of differential morphological diagnostics of the liver primary adenocarcinoma

Twenty-three biopsies from patients with the liver adenocarcinoma have been investigated. Presence of bile acids in the gland lumen and presence of lipids in the tumor cells are morphological criteria of hepatocellular adenocarcinoma. Comparison of the differentiation level, of the histological structure, and of the prevailing type of the cellular complex in cytological preparations may serve as an adjuvant criterion in differential diagnosis of hepato- and cholangiocellular adenocarcinomas. Cytokeratin-7 expression in the cells of hepatocellular adenocarcinoma may signify the end of the malignant hepatocyte metaplasia process.

Key words: adenocarcinoma, liver, lipids, expression.

© Ю. А. Хрусталева, 2009 г.
УДК 616-036.88:614.29

Ю. А. Хрусталева

АНАЛИЗ ПРИЧИН СМЕРТИ ПОСТРАДАВШИХ В СЛУЧАЯХ УСТАНОВЛЕНИЯ ЭКСПЕРТАМИ ПРИЧИННО-СЛЕДСТВЕННЫХ СВЯЗЕЙ

Кафедра судебной медицины Военно-медицинской академии имени С. М. Кирова

Одним из главных вопросов, подлежащих решению при судебно-медицинской экспертизе, является вывод о причине смерти [3]. Причины смерти разнообразны, иногда задача, поставленная перед экспертами, выполняется легко, вместе с тем не редко имеются затруднения в резюме о причине смерти [2, 4]. Смежным с причиной смерти является решение вопроса об установлении причинно-следственных связей между повреждениями и смертью [5]. В последнее время данной проблеме в судебной медицине уделяется большое внимание [1].

Цель исследования: анализ причин смерти пострадавших в случаях установления экспертами причинно-следственных связей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен анализ архивных материалов: государственного учреждения здравоохранения Санкт-Петербургского Бюро судебно-медицинской экспертизы (БСМЭ) за 2000–2004 гг. и кафедры судебной медицины ФГОУВПО «Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова» МО РФ (ВМА) за 1998–2003 гг.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ архивного материала БСМЭ за 2000–2004 гг. показал, что за рассматриваемое время было выполнено 2282 экспертизы по оценке гибели пострадавших на месте происшествия, из которых в 1164 (51,0%) «заключения экспертов» рассматривался вопрос об установлении причинно-следственных связей между явлениями, такие заключения по видам разбираемых травм распределились: тупая травма – 679 документов (58,3%); травма острыми предметами – 215 (18,5%); огнестрельная и взрывная травма – 77 (6,6%); механическая асфиксия – 29 (2,5%); отравления – 6 (0,5%); термическая травма – 1 (0,1%); комбинированная травма – 147 (12,6%); сочетание травмы и заболевания – 9 (0,8%); заболевание – 1 (0,1%).

Анализ архивного материала кафедры судебной медицины ВМА за 1998–2003 гг. позволяет отметить, что экспертных документов в отношении погибших в клиниках академии было зафиксировано 1029, установление причинно-следственных связей проведено в 385 матери-

лах (37,4%). По видам травм, где оценивались причинно-следственные связи, экспертные документы разделились: тупая травма – 298 (77,4%); травма острыми предметами – 33 (8,6%); огнестрельная и взрывная травма – 17 (4,4%); отравления – 1 (0,3%); термическая травма – 16 (4,2%); комбинированная травма – 13 (3,4%); сочетание травмы и заболевания – 5 (1,3%); заболевание – 2 (0,5%).

Приведенный количественный анализ документов, где рассматривались вопросы причинно-следственных связей при исследовании смерти потерпевших на месте происшествия и в клиниках академии, показывает, что чаще всего оценивались случаи по основным повреждающим механическим факторам – повреждения тупыми, острыми предметами, огнестрельным оружием.

В зависимости от действия механических повреждающих факторов при смерти пострадавших на месте происшествия, в случаях установления экспертами причинно-следственных связей, по данным БСМЭ, врачами были установлены следующие причины смерти.

В эпизодах получения пострадавшими повреждений в результате транспортной травмы чаще всего причиной смерти была «тупая сочетанная травма тела с переломами костей скелета и повреждениями внутренних органов» – 302 (85,3%), меньшую долю составила «черепно-мозговая травма (ЧМТ) с ушибом головного мозга» – 35 (9,9%).

При травме в следствие падения с высоты (28 происшествий) причиной смерти в 26 случаях (92,9%) была «тупая сочетанная травма тела с переломами костей скелета и повреждениями внутренних органов», в 2 (7,1%) – «ЧМТ с ушибом головного мозга». При падении на плоскости во всех 6 случаях причина смерти «ЧМТ с ушибом головного мозга». При падении на лестничном марше (1 случай) – «тупая травма груди и живота с переломами ребер и разрывами внутренних органов».

При травме тупым предметом (285 случаев) чаще всего экспертами определялись следующие причины смерти: «ЧМТ с ушибом головного мозга» – 173 (60,7%), «тупая травма живота с повреждением внутренних органов» – 25 (8,8%), «закрытая тупая травма груди с множественными переломами ребер, осложнившаяся острой дыхательной недостаточностью» – 21 (7,4%), «тупая травма груди и живота с повреждением внутренних органов» – 18 (6,3%), «тупая травма туловища» – 12 (4,2%).

Причины смерти пострадавших после получения травм острыми предметами чаще всего были следующие: «колото-резаное ранение груди, проникающее в плевральную полость, полость перикарда, с повреждением сердца» – 41 (19,0%), «колото-резаное ранение груди, проникающее в плевральную полость, с повреждением внутренних органов» – 30 (13,9%), «колото-резаные ранения груди и живота, проникающие в плевральную и брюшную полости, с повреждением внутренних органов» – 20 (9,3%), «колото-резаное ранение груди, проникающее в плевральную полость, с повреждением легкого» – 14 (6,5%), «проникающее колото-резаное ранение живота с повреждением внутренних органов» – 13 (6,0%), «колото-резаная рана шеи с повреждением сосудов» – 9 (4,2%).

У пострадавших с огнестрельными ранениями чаще всего устанавливались такие причины смерти: «огнестрельное ранение головы, проникающее в полость черепа, с повреждением головного мозга» – 24 (32,4%), «огнестрельные ранения тела с повреждением внутренних органов» – 11 (14,9%), «огнестрельное ранение груди, проникающее в плевральную полость, с повреждением внутренних органов» – 8 (10,8%).

Анализ представленных материалов позволяет отметить, что смерть пострадавших на месте происшествия чаще всего наступает от травм несовместимых с жизнью или от повреждений жизненно важных органов, закономерно заканчивающихся летальным исходом.

По данным архивного материала ВМА, у потерпевших, умерших в клиниках академии в посттравматический период, при установлении применительно к таким случаям причинно-следственных связей причиной смерти чаще всего была сочетанная травма тела. Вместе с тем при смерти пострадавших в ранний и поздний посттравматический период большой интерес представляют не только причины смерти, но и непосредственные причины их гибели в зависимости от сроков.

Непосредственные причины смерти потерпевших, умерших в клиниках ВМА, в зависимости от сроков наступления смерти разделились следующим образом: острая массивная кровопотеря, общее количество 127 случаев (33,0%), – погибших в первые 1–11 часов – 101 человек (79,5%), 12–24 часа – 14 (11,0%), 2–3 сутки – 11 (8,7%), 4–5 – 1 (0,8%); ушиб головного мозга – 46 (11,9%) – 1–11 часов – 15 (32,6%), 12–24 часа – 8 (8,7%), 2–3 сутки – 17 (36,9%), 4–5 – 9 (19,6%), 6–10 – 1 (2,2%); ушиб и разможжение головного мозга – 6 (1,6%) – 1–11 часов – 4 (66,7%), 12–24 часа – 1 (16,7%), 2–3 сутки – 1 (16,7%); отек головного мозга 9 (2,3%) – 1–11 часов 2 (22,2%), 2–3 сутки – 4 (44,4%), 4–5 – 3 (33,3%); отек и дислокация головного мозга – 2 (0,5%) – 2–3 сутки; ушиб головного мозга и сердца – 1 (0,3%) – 2–3 сутки; травматический шок – 1 (0,3%) – 12–24 часа; ожоговый шок – 2 (0,5%) – 1–11 часов – 1 (50,0%), 2–3 сутки – 1 (50,0%); инфекционно-токсический шок – 1 (0,3%) – 4–5 сутки; острая ишемия миокарда – 2 (0,5%) – 2–3 сутки – 1 (50,0%), 16–20 – 1 (50,0%); острый инфаркт миокарда – 1 (0,3%) – 1–11 часов; сердечно-сосудистая недостаточность – 3 (0,8%) – 1–11 часов – 1 (33,3%), 2–3 сутки – 1 (33,3%), 26–30 – 1 (33,3%); острая легочно-сердечная недостаточность – 5 (1,3%) – 1–11 часов – 1 (20,0%), 2–3 сутки – 1 (20,0%), 4–5 – 2 (40,0%), 6–10 – 1 (20,0%); геморрагический инсульт – 1 (0,3%) – 1–11 часов; отек легких – 3 (0,8%) – 12–24 часа – 1 (33,3%), 2–3 сутки (33,3%), 6–10 – 1 (33,3%); острая дыхательная недостаточность – 1 (0,3%) – 1–11 часов; острая почечная недостаточность – 2 (0,5%) – 12–24 часа – 1 (50,0%), 2–3 сутки – 1 (50,0%); эрозивный гастрит с массивной кровопотерей – 1 (0,3%) – 1–11 часов; пневмония – 61 (15,8%) – 2–3 сутки – 3 (4,9%), 4–5 – 13 (21,3%), 6–10 – 22 (36,1%), 11–15 – 7 (11,5%), 16–20 – 6 (9,8%), 21–25 – 4 (6,6%), 26–30 – 2 (3,3%), 2 месяца и больше – 4 (6,6%); бронхопневмония – 48 (12,5%) – 2–3 сутки – 6 (12,5%), 4–5 – 11 (22,9%), 6–

10 – 17 (35,4%), 11–15 – 7 (14,6%), 16–20 – 4 (8,3%), 21–25 – 1 (2,1%), 26–30 – 1 (2,1%), месяц и больше – 1 (2,1%); плеврит – 1 (0,3%) – 4–5 сутки; сепсис – 47 (12,2%) – 4–5 – 1 (2,1%), 6–10 – 7 (14,9%), 11–15 – 10 (21,3%), 16–20 – 6 (12,8%), 21–25 – 5 (10,6%), 26–30 – 2 (4,3%), месяц и больше – 11 (23,4%); 2 месяца и больше – 5 (10,6%); менингоэнцефалит – 3 (0,8%) – 16–20 – 1 (33,3%), месяц и больше – 2 (66,7%); менингит – 1 (0,3%) – 6–10 сутки; перитонит – 6 (1,6%) – 2–3 сутки – 1 (16,7%), 4–5 – 2 (33,3%), 6–10 – 1 (16,7%), 11–15 – 1 (16,7%), больше месяца – 1 (16,7%); панкреонекроз – 3 (0,8%) – 1–11 часов – 1 (33,3%), 2–3 сутки – 1 (33,3%), 4–5 – 1 (33,3%); вторичное легочное кровотечение – 1 (0,3%) больше месяца.

Проведенный анализ непосредственных причин смерти пострадавших подчеркивает закономерность течения травматической болезни, где определяется зависимость между частотой причин смерти и длительностью посттравматического периода.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В установлении причинно-следственных связей судебно-медицинские эксперты должны определять связь между травмой (как правило, причиной смерти) и непосредственной причиной смерти [5]. При этом очень важно учитывать транзитивность отношения причинности (если в причинной цепи А может рассматриваться как причина В, а В – как причина С, то А может рассматриваться как причина С) [6]. Кроме того, надо помнить, что причинно-следственные связи, соединяясь между собой, образуют звенья причинно-следственной цепи [6]. Анализ причин и непосредственных причин смерти позволяет отметить, что причиной смерти пострадавших на месте происшествия, как правило, является травма, несовместимая с жизнью, и в таких случаях цепь изменений, происходящих в организме человека, может состоять из одного (чаще всего) или нескольких звеньев причинно-следственной связи. У пострадавших, умерших в ранний посттравматический период, также может отмечаться наличие в цепи изменений одного или нескольких звеньев причинно-следственной связи. У умерших в поздний посттравматический период в цепи изменений будет наблюдаться, как правило, много звеньев причинно-следственной связи. Для правильного установления причинности эксперт должен определить наличие связи в каждом звене цепи причинно-следственной зависимости, и только решив это, можно будет делать вывод о наличии связи первого звена (в звене – причины) с последним (в звене – следствием).

ЛИТЕРАТУРА

1. Ардашкин, А. П. Методологические основы судебно-медицинской экспертизы : автореф. дис. ... д-ра мед. наук / А. П. Ардашкин. – М., 2004. – 24 с.
2. Ильина, Е. Р. Оценка заключения судебно-медицинского эксперта по уголовным делам / Е. Р. Ильина, В. В. Сергеев, А. А. Тарасов. – М., 2008. – 224 с.
3. Купрюшин, А. С. Оптимизация изучения танатогенеза в судебно-медицинской практике : автореф. дис. ... канд. мед. наук / А. С. Купрюшин. – М., 2005. – 24 с.

4. Лобан, И. Е. Судебно-медицинская деятельность в уголовном судопроизводстве: правовые, организационные и методические аспекты / И. Е. Лобан, Г. И. Заславский, В. Л. Попов. – СПб., 2003. – 467 с.

5. Солохин, А. А. Проблема причинно-следственных отношений в практической судебной медицине / А. А. Солохин [и др.] // Суд.-мед. эксперт. – 1984. – № 1. – С. 3–7.

6. Философский словарь / ред. И. Т. Фролов. – 7-е изд., перераб и доп. – М., 2001. – С. 462.

РЕЗЮМЕ

Ю. А. Хрусталева

Анализ причин смерти пострадавших в случаях установления экспертами причинно-следственных связей

В установлении причинно-следственных связей судебно-медицинские эксперты должны определять связь между травмой (как правило, причиной смерти) и непосредственной причиной смерти, при этом очень важно учитывать транзитивность отношения причинности. Для правильного установления причинности эксперт должен определить наличие связи в каждом звене цепи при-

чинно-следственной зависимости, и только решив это, можно будет делать вывод о наличии связи первого звена с последним.

Ключевые слова: причина смерти, непосредственная причина смерти, место происшествия, посттравматический период, звенья, причинно-следственные связи.

SUMMARY

J. A. Khrustaleva

Analysis of the victims death causes in determination of the cause-and-effect relations

When elucidating the cause-and-effect relations the forensic medicine expert should out the relations between the trauma (the most common cause of death) and the immediate cause of death with an allowance for transitivity of the causative factor. To correctly ascertain causativity the expert should first of all verify the relation in each link of the cause-and-effect dependence. Only after that will it be possible to draw a conclusion on whether or not there is some relation between the first and the last links.

Key words: cause of death, immediate cause of death, place of accident, posttraumatic period, links, cause-and-effect relations.

© О. М. Фандеева, 2009 г.
УДК 572.524.12-07:616-082

О. М. Фандеева

НАСЛЕДОВАНИЕ ФОРМИРОВАНИЯ ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ НА ПАЛЬЦАХ РУК И НОГ В СЕМЕЙНЫХ ГРУППАХ

Бюро судебно-медицинской экспертизы Комитета по здравоохранению Ленинградской области

Дерматоглифика, «наука об изучении кожных узоров» [3], сегодня приобретает все большее применение в различных областях. Научное исследование гребешковой кожи началось еще в конце XIX в. и неоднократно вызвало активные дискуссии в ученых кругах.

Среди ученых в последнее десятилетие развернулась широкая полемика по вопросу «доминирования» одного из родителей и роли второго родителя в передаче дерматоглифических признаков ребенку. Авторы теории «доминирования» одного из родителей [1, 2] основывались на исследовании числа прямых совпадений типов узоров. Ими были исследованы выборки, не превышающие 100 триплетов. В настоящем исследовании проведен сравнительный анализ 200 истинных (отец – мать – ребенок) и 200 ложных (отец – мать – ложный ребенок) триплетов.

Подсчитано общее число совпадений по 4 группам признаков, не только на пальцах рук, но также и на пальцах ног. В 56 % случаев ребенок больше похож на мать, в 40 % – на отца, и лишь в 4 % одинаково – и на того, и на

другого. Признаки ребенка совпадают с матерью в среднем в 55,19 числе случаев (при максимально возможном – 80), с отцом в – 54,71, с обоими – 51,13. Исследование группы с ложными детьми показало, что чужой ребенок больше похож на «мать» в 50 % случаев, на «отца» – в 46 %, на обоих «родителей» также 4 % случаев. При этом среднее число совпадений признаков ребенка с матерью составило 51,08, с отцом – 49,39, с обоими – 46,00. Эти данные свидетельствуют о том, что, во-первых, лишь в 4 % случаев ребенок одинаково похож на обоих родителей, и с той же вероятностью он может быть похож и на посторонних людей. Во-вторых, ребенок похож на «доминирующего родителя» в среднем на 68,4–69,0 %, на другого родителя – на 58,4–59,1 %. Случайное совпадение признаков между не родственниками в среднем составляет 61,7–63,6 %. Поэтому нет смысла в определении доминирующего родителя на основании прямого сопоставления признаков родителей, так как различие между доминирующим родителем и посторонним человеком составляет лишь 4–7 %. Также исследован переход «доминирующего» родителя в разряд «рецессивного» при смене родного ребенка на чужого. При прямом сопоставлении признаков оказалось, что в 107 случаях из 200 доминирующий и второй родитель меняются «ролями», при этом в 51 случае чужой ребенок стал «родным», родной чужим, а в 14 случаях число совпадений признаков чужого ребенка с одним из родителей было таким же, как у своего. Поэтому выделение доминирующего родителя по принципу прямого сопоставления признаков и дальнейшее сравнение ребенка лишь с одним родителем нам представляется нецелесообразным.

Определены частоты встречаемости типов узоров на пальцах верхних и нижних конечностей в семьях и в группе «родители – ложные дети».

Исследование проводилось с учетом пола родителей, пол ребенка не учитывался. Различные типы узоров в популяции на разных пальцах распределены неравномерно, поэтому вероятность формирования одного и того же типа узора для каждого пальца своя. Например, если на гомологичных пальцах рук у обоих родителей имеются дуги, то формирование дуги на I пальце правой руки ребенка оценивается в 5 баллов, на I пальце левой руки – 4 балла, на II и III пальцах левой руки – 3 балла. Для остальных пальцев достоверных различий между своим и чужим ребенком по данному признаку не выявлено. Формирование завитка из двух завитков родителей лишь на V пальце правой руки приравнивается 3 баллам, в то время как на других пальцах значение для данной комбинации равно двум. При относительно невысоком значении для тройной комбинации завитков нужно отметить ее достоверность почти для всех пальцев рук. Невысокое значение данной комбинации можно объяснить относительно высокой насыщенностью некоторых пальцев завитковыми узорами и связанным с этим частым случайным совпадением завитков на гомологичных пальцах своего и ложного ребенка. Лишь для II пальца левой руки в комбинации с наличием завитка (Lr–W–Lu) значение признака равно 2 баллам. В остальных комбинациях, где присутствует хотя бы 1 завиток, вероятность подтверждения или опровержения родства достаточно высока и часто составляет 4–5 балла (без учета знака), что подтверждает высокую информационную значимость данного типа узора. Более частое наследование завитков подтверждают комбинации Lu–W–W (3); W–Lu–W (3); а также опосредовано следующие сочетания: Lu–Lu–W (–5); и W–W–Lu (–6); A–A–W (–5); Lu–W–Lu (–5) и др.

В связи с преобладанием в популяции ульнарных петель над остальными типами узоров В. П. Войтенко и соавт. предлагали не использовать ульнарные петли в расчетах. Наши исследования показали, что ульнарная петля все же имеет идентификационную значимость. Например, в комбинациях W–W–Lu (–5, –6); Lu–W–Lu (–5, –6); W–LW–Lu (–6). Однако образование ульнарной петли из гомологичных узоров родителей достоверно лишь для I пальцев рук, III пальца левой руки и IV пальца правой руки. Если ребенок и наследует ульнарные петли отца, то только в присутствии петлевого узора матери. На II пальце левой руки неоднократно встречалась комбинация Lr–W–Lu (2), что свидетельствует о возможности образования ульнарной петли в результате сложного взаимодействия других типов узоров.

Радиальные петли – редкий тип узора на пальцах рук, для этого признака мы выявили лишь 2 достоверных комбинации формообразования: на II пальце левой руки – W–Lr–Lr (3) и на III пальце правой руки – Lu–Lr–Lr (3). Радиальная петля может образоваться из завитка, либо из радиальной петли. Однако сочетание Lu–Lr–Lu (1) показывает, что радиальная петля может выступать в качестве переходного типа узора. Сочетание ульнарной и радиальной петель может привести к образованию завитка (на III пальце левой руки).

На пальцах ног образование гомологичных узоров более асимметрично, что можно объяснить большим разнообразием комбинаций узоров, обусловленным увеличением частоты встречаемости завитков и сложных узоров.

Завитки и сложные узоры пальцев ног, как и пальцев рук, наследуются преимущественно по «доминантному» типу. Взаимодействие же между завитками и сложными узорами можно назвать конкурирующим. Вероятность образования завитка из 2-х завитков выявлена только для второго пальца правой ноги, а формирование сложного узора из двух таких же узоров в нашем исследовании вообще оказалось недостоверным. Сложный узор может образоваться из двух завитков, а завиток – из сложного узора и фибулярной петли. Завиток может образоваться из тиббиальной петли отца и дуги матери; образованию сложного узора на этом же пальце может способствовать наличие дуги у отца и завитка у матери. Сложные узоры на пальцах ног способны быть «рецессивными» по отношению к дугам, что в норме не наблюдается на пальцах рук.

На III пальце левой ноги и на V пальце правой ноги образование фибулярной петли при одноименных узорах у родителей в семейных группах достоверно выше, чем при случайном совпадении, кроме того, образование фибулярных петель наблюдалось в комбинации LW–LW–Lf (2).

В формировании дуг на пальцах верхних и нижних конечностей имеются и сходство и различия. Сходство состоит в том, что в комбинации с завитком дуга проявляет себя как рецессивный признак. На пальцах ног дуги могут образовываться на I пальце левой ноги в комбинации Lt–Lf–A (3); на II пальце правой ноги в комбинации A–A–A (3); на II пальце левой ноги в комбинации Lf–A–A (3); на III пальце левой ноги в комбинации LW–A–A (3). Одновременное присутствие дуг у отца и матери не увеличивает вероятности появления дуги у ребенка. Различие же между дугами верхних и нижних конечностей заключается в том, что на пальцах ног дуги могут быть как «доминантными», так и «рецессивными».

Тиббиальная петля на III пальце левой ноги может образоваться из завитка отца, при условии, что у матери на гомологичном пальце дуга. Других достоверных особенностей формирования тиббиальных петель в наших исследованиях не выявлено, что обусловлено малой частотой встречаемости данного узора. Сочетание тиббиальной петли и дуги может привести к образованию завитка, что обнаруживает сходство этого типа узора с радиальной петлей на пальцах рук – Lt–A–W (3). На IV пальце правой ноги тиббиальная петля в сочетании со сложным узором другого родителя является рецессивной, т. е. ребенок, вполне вероятно, унаследует именно сложный узор.

Распределение дельт на пальцах верхних и нижних конечностей имеет следующие особенности. Вероятность образования одной дельты на пальце ребенка при таком же числе дельт на одноименных пальцах родителей оказалась относительно низкой – 2 балла для I, III пальца правой руки, IV пальцев рук и 1 балл для I пальца левой руки

и V пальца правой руки. Для других пальцев достоверных данных для данной комбинации не выявлено. Образование двудельтового узора при одноименных узорах у родителей достоверно отличается от случайного совпадения на I, IV пальцах рук, на II пальце левой руки – 2 балла, а также на V пальце правой руки – 3 балла. Невысокие баллы хорошо коррелируют с данными, полученными по типам узоров. Только на двух пальцах – III и V пальцах левой руки – оказались достоверными комбинации, в которых ребенок наследует двудельтовый узор от одного из родителей, когда у другого на гомологичном пальце расположен однодельтовый узор. На I пальцах, на II, IV левых и на V правом пальцах ребенка наличие одной дельты, при двух дельтах у каждого из родителей отвергает кровное родство (–5, –6). Также маловероятно образование двух дельт на I пальце ребенка при наличии на гомологичных пальцах родителей однодельтовых узоров (–5).

Высокую информационную значимость имеет отсутствие дельт на I пальцах родителей, несколько меньшую – на II, III пальцах левой руки (3 балла). Нами выявлена только одна комбинация, в которой ребенок более вероятно унаследует бездельтовый узор отца, – 0–1–0 (3), что наблюдалось на II пальце правой руки. Гораздо чаще бездельтовые узоры наследуются от матери (I палец левой руки, III, IV пальцы обеих рук, V палец правой руки). Не менее интересны информационные признаки, свидетельствующие об отсутствии родства, например, 2–2–1 (–5, –6); 1–1–2 (–5); 0–2–2 (–5); 0–0–2 (–5); 1–0–2 (–5); 2–2–0 (–3) и многие другие. Редкая встречаемость на пальцах рук узоров с тремя дельтами не позволила выявить особенности их формирования.

Для образования одной дельты на пальцах ног ребенка при таком же числе дельт на одноименных пальцах родителей выявлены следующие комбинации: 1–1–1 (2) – на III, V пальцах правой ноги, IV пальце правой ноги; 2–0–1 (1) – на I пальце левой ноги; 0–1–1 (2) на II–III пальцах левой ноги.

К отсутствию дельт на пальцах ног ребенка предрасполагают либо наличие дуги на II, III пальцах матери – 1–0–0 (3), 2–0–0 (3), либо отсутствие дельт на II пальцах правых ног у обоих родителей.

При наличии у одного из родственников двудельтового узора достоверными оказались следующие комбинации: 0–2–2 (2); 2–2–2 (3); 1–2–2 (3); 2–1–2 (3), что соответствует доминантному типу наследования. Однако этому положению не соответствует сочетание 2–0–0 (3) на III пальце левой стопы. Для образования сложного узора с тремя дельтами выявлена лишь одна достоверная комбинация – 1–0–3 (6), на II пальце левой ноги.

На пальцах рук двудельтовые узоры представлены преимущественно завитками и лишь в редких случаях сложными узорами, на пальцах же ног сложных узоров с двумя дельтами значительно больше. В ряде случаев дуги на пальцах ног можно отнести к промежуточному типу узора. Если у матери на пальце ноги дуга, то, наиболее вероятно, что и у ребенка образуется бездельтовый узор. Если

у отца на пальцах ног нет завитков, то в подавляющем числе случаев количество дельт на пальцах детей не выше числа дельт на пальцах матери.

Распределение высоты узора на пальцах верхних и нижних конечностей. Высокие узоры не имеют какой-либо информационной значимости. Высота узора имеет значение лишь на первых пальцах рук, на II пальце левой руки и на V пальце правой руки. Детальная оценка высотно-широтного показателя узоров для каждого пальца рук возможно лишь при сравнении выборок семейных групп и не родственников численностью в десятки тысяч человек.

На пальцах ног высота узоров оказалась незначимой на I–II пальцах обеих стоп, на III пальце левой стопы, а также на V пальце правой. На III пальце правой стопы родство подтверждают средняя высота узоров у всех членов семьи, для остальных пальцев значимо наличие низких узоров. В пользу отсутствия кровной связи указывают сочетания n–n–s (–5), s–s–n (–5) и s–v–s (–6). Последняя комбинация характерна лишь для V пальца левой стопы.

Распределение формы потока линий в центрах узора на пальцах верхних и нижних конечностей. Самым «устойчивым» сочетанием признаков на пальцах рук оказалось образование S-формы потока линий у ребенка при такой же форме потока линий у обоих родителей (I пальцы, II, IV пальцы левой руки и V палец правой руки). Кроме образования параллельной формы потока линий из двух P-форм у родителей (I, IV пальцы левой руки и IV, V пальцы правой руки), на втором пальце правой руки значима комбинация P–S–S (2). Остальные сочетания признаков имеют высокие отрицательные значения, способствующие большей дифференциации чужого ребенка от родного. Несмотря на относительно редкую встречаемость T-формы и невозможность объяснения механизма ее образования, выявленные на разных пальцах комбинации (T–P–S (–5), S–S–T (–4), S–T–P (–6)) позволяют предположить, что T-форму потока линий в центре узора можно расценивать как диагностический признак. Всесторонне оценить значимость T-формы возможно лишь после исследования значительно большего числа истинных и ложных семейных групп.

На пальцах ног спиральная форма потока линий наследуется по доминантному типу. Вероятно, она не связана с полом: S–P–S (3), P–S–S (3), T–S–S (2). Определить особенности взаимодействия T-формы с P-формой потока линий в центре узора на пальцах ног не представляется возможным ввиду малой встречаемости T-формы.

Таким образом, исследованы 80 дерматоглифических признаков пальцев рук и ног. Получены информационные признаки, не только подтверждающие родство, но и отвергающие его.

При морфологическом сходстве дерматоглифики пальцев кистей и стоп имеются значительные различия в частотах встречаемости признаков, поэтому одноименные (для пальцев рук и ног) признаки имеют неодинаковую идентификационную значимость. Главными причинами разной частоты встречаемости и асимметричной лока-

лизации признаков на верхних и нижних конечностях являются более позднее созревание гребешковой кожи на пальцах ног и эволюционно обусловленная неодинаковая функциональная активность пальцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Божченко, А. П.* Установление личности на основе генетического анализа дерматоглифических признаков пальцев рук : автореф. дис... канд. мед. наук / А. П. Божченко. – М., 2000. – 24 с.

2. *Ракитин, В. А.* Способ идентификации тела погибшего : патент № 2096021 / В. А. Ракитин, В. В. Щербаков, Ю. Ф. Гончаров и др. – М., 1996. – 8 с.

3. *Cummins, H.* Finger Prints, Palms and Soles. An Introduction to Dermatoglyphics / H. Cummins, C. Midlo. – Philadelphia, 1943. – 319 p.

РЕЗЮМЕ

О. М. Фандеева

Наследование формирования дерматоглифических признаков на пальцах рук и ног в семейных группах

Анализ способов использования дерматоглифических признаков в идентификационных исследованиях выявил существующие противоречия в принципе отбора и оценке специалистами информативности некоторых дерматоглифических признаков. Устранение характерных недочетов позволит расширить применение дерматоглифического метода в экспертной практике.

Ключевые слова: дерматоглифика, папиллярный рисунок рук и ног, отпечатки пальцев, типы узоров.

SUMMARY

O. M. Fandeyeva

Heredofamilial formation of dermatoglyphic signs on the palms and soles

Analysis of the ways of how the forensic medicine specialists use some dermatoglyphic signs in identification procedures has revealed existing controversy in the principles of their choice and evaluation of their informativeness. Elimination of the most common drawbacks will widen the sphere of dermatoglyphic methods application in forensic medicine practice.

Key words: dermatoglyphics, papillary pattern of palms and soles, fingerprints, types of patterns.

ВНИМАНИЮ ЧИТАТЕЛЕЙ!

Сообщаем Вам, что на журнал «Ученые записки» проводится подписка по каталогу «Роспечати». Подписной индекс для организаций и частных лиц – **29579**.

Информацию о подписке на журнал «Ученые записки» Вы также можете получить в издательстве СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.

Адрес: 193089, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8

Телефон: (812) 234-27-78, 953-73-17

Факс: (812) 234-01-25

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 572.524.12-07(471.6)

**Л. А. Алексина, А. Л. Фандеев,
В. И. Ригонен, О. М. Фандеева**

АНАЛИЗ ДЕРМАТОГЛИФИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ ЖИТЕЛЕЙ ЮГА РОССИИ

Бюро судебно-медицинской экспертизы Комитета по здравоохранению Ленинградской области, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова, Петрозаводский государственный университет

Дерматоглифика – многоплановая дисциплина. Помимо изучения морфологических особенностей узоров и папиллярных линий рук и ног, достаточно большое количество работ посвящено исследованию этнических групп. Таблицы частот и особенностей распределения дерматоглифических признаков в различных расах, популяциях и народностях необходимы для определения информационной значимости («веса») того или иного признака и проведения правильной экспертной оценки метода посемейного анализа.

Целью исследования было выявление особенностей в частоте встречаемости типов узоров у представителей европеоидной расы (центрально- и южноевропейской локальных рас: жителей Ростовской области), определение статистической представительности используемой выборки.

Фенотипические особенности популяции исследовали в группе не состоящих в родственных связях 300 мужчин и 300 женщин. Проанализирована встречаемость узоров на одноименных пальцах, проведены теоретические расчеты встречаемости комбинаций узоров при гипотезе о независимости событий. Близость полученных значений свидетельствует о том, что контрольная выборка может быть применена в дальнейших исследованиях.

Согласно гипотезе наследуемости, если вероятность образования одноименных признаков в родственных группах выше, чем в ложных группах, можно рассчитать идентификационную значимость исследуемого признака.

Как и ожидалось, на различных конечностях и пальцах дерматоглифические признаки распределены достаточно неравномерно.

Ульнарные (Lu), фибулярные (Lf) и радиальные (Lr) петли на правых и на левых конечностях распределены приблизительно одинаково. Имеется тенденция симметричного расположения сложных узоров (LW) на пальцах стоп. Вероятно, размер выборки не позволил выявить достоверную разницу между частотами встречаемости сложных узоров на II и IV пальцах правой и левой ног. Однако если частоты встречаемости завитков на I и II пальцах левой руки близки между собой, то на I пальце правой руки завитки встречаются значительно чаще, чем на II. Реже всего

завитки и сложные узоры встречаются на V пальцах стоп, для этих пальцев наиболее характерны дуги.

Завитки чаще всего встречаются на IV пальцах рук и на III пальцах ног, дуги – на II пальцах рук и в половине случаев – на V пальцах ног, радиальные петли – на II пальцах, а тибиальные петли – на V пальцах, ульнарные петли – на V пальцах, фибулярные же петли – на I пальцах.

Доля присутствия одного типа узора по отношению к другим типам узоров на пальцах рук не разу не совпала с положением этого же узора на пальцах ног. Исключением является лишь совпадение самой низкой частоты встречаемости завитков и сложных узоров на V пальцах конечностей.

В распределении узоров на руках и ногах имеются и сходство и различие. Петли ульнарной (фибулярной) направленности на руках и на ногах расположены симметрично. Так же распределены радиальные петли на пальцах рук и сложные узоры на пальцах ног. Признаки асимметрии на верхних и нижних конечностях выражены приблизительно в равной степени, но на руках и ногах «смещение» частот встречаемости узоров на соседние или ближние пальцы происходит на разных пальцах и для разных типов узоров.

На пальцах рук, как и на пальцах ног, чаще других узоров (в среднем более чем в 50 %) встречаются петли ульнарной (фибулярной) направленности. На руках почти вдвое реже встречаются завитки (около 28 %), на ногах же на втором месте стоят дуги (чуть менее 25 %), затем завитки (около 11 %) и сложные узоры (около 8 %) и в конце – тибиальные петли. Присутствие радиальных петель примерно соответствует средней частоте тибиальных петель.

Среднестатистическое распределение типов узоров на правых верхних и нижних конечностях в сравнении с левыми приблизительно можно считать симметричным, так как полученные значения очень близки между собой и различаются на десятые и сотые процента. Максимальная разница была выявлена для завитков и составила 3,1 %.

Таким образом, в распределении типов узоров на пальцах рук и ног жителей юга России одновременно имеются признаки общего сходства и значительного различия. Различия обусловлены величиной «вклада» того или иного типа узора на одноименных пальцах рук и ног.

Исследование выборки жителей юга России показало неравномерность распределения дерматоглифических признаков на конечностях и пальцах, что необходимо учитывать в дальнейших посемейных исследованиях. Полученные корреляционные коэффициенты в целом совпадают с опубликованными во второй половине XX в. среднестатистическими данными в целом по народонаселению России.

Таким образом, проведенные исследования подтвердили представительность выбранной нами контрольной группы и соответствие в ней статистики встречаемости типов узоров и их частных характеристик литературным данным.

© Ю. С. Астахов, С. Н. Тульцева, 2009 г.
УДК 617.735-005.6:616-008.841.5

Ю. С. Астахов, С. Н. Тульцева

РЕЗУЛЬТАТЫ МОЛЕКУЛЯРНО-ГЕНЕТИЧЕСКОГО ТИПИРОВАНИЯ ФАКТОРОВ СИСТЕМЫ ГЕМОСТАЗА БОЛЬНЫХ С ТРОМБОЗОМ ВЕН СЕТЧАТКИ

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова

В последние годы получила признание концепция мультифакторного генеза тромбоза ретинальных вен, предполагающая, что данное заболевание развивается при сочетании генетических и приобретенных факторов риска, провоцирующих развитие тромбофилии.

Установлена четкая связь наличия мутации G1691A в гене фактора V (FV Leiden), G20210A в гене протромбина и C677T в гене метилентетрагидрофолат редуктазы (МТГФР), сопровождающаяся гипергомоцистеинемией

Распределение полиморфизмов компонентов системы гемостаза у больных с тромбозом вен сетчатки и в здоровой популяции

| Полиморфизм; генотип | Контрольная группа (здоровая популяция) n=50 | Ишемический тромбоз n=90 | Неишемический тромбоз n=92 |
|--|--|---|--|
| Гликопротеин GrIa (807C T) 807 (C/C) 807(C/T) 807(T/T) | 19 (38,0 %) 22 (44,0 %) 9 (18,0 %) | 30 (33,3 %) 39 (43,3 %) 21 (23,3 %) * | 32 (34,8 %) 41 (44,5 %) 19 (20,6 %) |
| Гликопротеин GrIb (434C T) 434(C/C) 434(C/T) 434(T/T) | 42 (84,0 %) 7 (14,0 %) 1 (2,0 %) | 65 (72,2 %) 24 (26,6 %) * 1 (2,1 %) | 77 (83,7 %) 14 (15,2 %) 1 (1,1 %) |
| Гликопротеин GrIIIa (1565T T) 1565(T/T) 1565(T/C) 1565(C/C) | 41 (82,0 %) 8 (16,0 %) 1 (2,0 %) | 57 (63,3 %) 31 (34,4 %) * 2 (2,2 %) | 71 (77,2 %) 20 (21,7 %) 1 (1,1 %) |
| Фактор I 455G A 455(G/G) 455(G/A) 455(A/A) | 26 (52,0 %) 21 (42,0 %) 3 (6,0 %) | 48 (53,3 %) 40 (44,4 %) 2 (2,2 %) | 52 (56,5 %) 39 (42,4 %) 1 (1,1 %) |
| Фактор II 20210G A 20210(G/G) 20210(G/A) 20210(A/A) | 49 (98,0 %) 1 (2,0 %) 0 (0,0 %) | 88 (97,7 %) 1 (1,1 %) 1 (1,1 %) | 89 (96,7 %) 3 (3,3 %) 0 (0,0 %) |
| Фактор V 1691G A 1691(G/G) 1691(G/A) 1691(A/A) | 48 (96,0 %) 2 (4,0 %) 0 (0,0 %) | 87 (96,6 %) 3 (3,3 %) 0 (0,0 %) | 90 (97,8 %) 2 (2,2 %) 0 (0,0 %) |
| PAI-I -675 "4G/5G" 675(4G/4G) 675(4G/5G) 675(5G/5G) | 9 (18,0 %) 27 (54,0 %) 14 (28,0 %) | 25 (27,7 %) * 50 (55,5 %) 15 (16,6%)* | 26 (28,3 %) * 51 (55,4 %) 15 (16,3 %)* |
| МТГФР 677C T 677(C/C) 677(C/T) 677(T/T) | 25 (50,0 %) 20 (40,0 %) 5 (10,0 %) | 41 (45,5 %) 49 (54,4 %) 0 (0,0 %) | 43 (46,7 %) 49 (53,3 %) 0 (0,0 %) |

* достоверная разница с группой контроля.

с развитием тромбоза ретинальных вен у пациентов молодого возраста. Также имеются данные о том, что полиморфизм фактора I (-455 G/A) и ингибитора тканевого активатора плазминогена I типа (PAI-I, -675 4G/5G), сопровождающиеся изменением уровня этих белков в плазме, а также полиморфизмы генов тромбоцитарных рецепторов (Ia, Iba, IIIa), оказывающих влияние на функциональную активность кровяных пластинок, играют значимую роль в патогенезе сосудистых заболеваний глаза.

В 2003–2008 гг. на кафедре офтальмологии СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова совместно с лабораторией свертывания крови Российского НИИ гематологии и трансфузиологии изучались изменения в системе гемостаза у больных с ишемическим и неишемическим типами тромбоза ЦВС, связанные с различными вариантами полиморфизмов гена тромбоцитарных рецепторов гликопротеина GrIIIa, GrIbα и GrIa, гена МТГФР, фактора I, ингибитора тканевого активатора плазминогена PAI-I, протромбина и мутацией фактора V. Всем пациентам определялся уровень тканевого активатора плазминогена и активность его ингибитора PAI-I, уровень гомотеина в плазме крови, а также исследовалась ВАТ и выполнялась расширенная коагулограмма.

Всего были обследованы 182 пациента с тромбозом вен сетчатки в возрасте от 18 до 65 лет. В группы наблюдения вошли пациенты только с «острой» стадией тромбоза, т. е. поступившие на лечение в первые 10 дней от начала заболевания.

Особый интерес представили данные по распределению полиморфизмов различных гликопротеиновых комплексов среди групп больных с тромбозом ретинальных вен. У пациентов с ишемической формой тромбоза чаще, чем в других группах, встречался генотип 807(T/T) GrIa, генотип 434(C/T) GrIbα и генотип 1565(T/C) GrIIIa. Так, генотип 807(T/T) GrIa встречался у 21 из 90 человек, вошедших в группу с ишемическим тромбозом, что составило 23,3 % против 20,6 % из групп с неишемической формой заболевания. Генотип 434(C/T) GrIbα – у 24 из 90 пациентов (26,6 %) против 15,2 % из группы с неишемическим тромбозом. Генотип 1565(T/C) GrIIIa – у 32 из 90, что составило 34,4 % и 29,3 % противопоставляемой группы (таблица).

Достоверной разницы в распределении этих полиморфизмов в группе контроля и группе пациентов с неишемическими формами тромбоза получено не было. Это позволило сделать вывод, что перечисленные выше генотипы тромбоцитарных гликопротеинов характерны именно для заболевания, сопровождающегося нарушением как артериального, так и венозного кровообращения, т. е. для ишемического тромбоза вен сетчатки.

Сумма активных форм тромбоцитов и число тромбоцитов, вовлеченных в агрегаты, практически не зависит от вариантов полиморфизмов гена GrIa, являющегося «коллагеновым» рецептором тромбоцитов и отвечающим за первые этапы их агрегации. Мы не получили достоверной разницы между этими показателями в группах больных с ишемическим и неишемическим тромбозом вен сетчатки.

Изучение зависимости ВАТ от вариантов полиморфизмов гена *GpIb*, отвечающего за адгезию тромбоцитов и гена *GpIIIa*, ответственного за агрегацию и являющегося «фибриногеновым» рецептором тромбоцитов, позволило выявить четкую зависимость между гиперактивностью тромбоцитов и наличием полиморфизмов 434(С/Т) и 1565(Т/С) в группе с ишемическим тромбозом ретинальных вен.

Сравнительный анализ полученных результатов с нормальными показателями ВАТ достоверно показал, что полиморфизмы 434(С/Т) гена *GpIb* и 1565(Т/С) гена *GpIIIa* можно рассматривать как маркеры, ассоциированные с гиперагрегацией тромбоцитов и факторы риска развития ишемических форм тромбоза ретинальных вен. Полученные данные согласуются с результатами зарубежных исследований, проведенных в этом направлении.

Обратило на себя внимание распределение полиморфизмов гена PAI-1. Полиморфизм 4G/4G встречался в 28% случаев у больных с тромбозом вен сетчатки и в 18% в контроле. Частота встречаемости полиморфизма 4G/5G была в этих группах практически одинаковой (55,5% против 54%). Полиморфизм 5G/5G встречался значительно чаще у группы здоровых людей (28% против 16,3%). Полученные данные соответствуют имеющимся ранее представлениям о распределении полиморфизмов данного гена в других популяциях.

Повышение активности PAI-1 в крови определялась в 66,7% случаев в равной степени у больных с ишемическим и неишемическим типами окклюзий вен сетчатки и в 23% случаев в группе контроля ($p < 0,03$). При этом активность PAI-1 в группе больных, имеющих полиморфизм гена PAI-1 4G/5G и 4G/4G, был несколько выше, чем в группе, имеющей 5G/5G генотип. Однако статистический анализ показал эту разницу недостоверной ($p < 0,09$).

Молекулярно-генетический анализ системы гемостаза в 54,5% случаев выявил мутацию С677Т MTHFR. Однако только в 12% случаев этот полиморфизм сопровождался повышением уровня гомоцистеина в плазме кро-

ви. Содержание гомоцистеина в сыворотке больных варьировало в пределах от 4,4 до 63,2 мкмоль/л, при средней концентрации 19,52 мкмоль/л, что на 49,18% превышало среднее значение у здоровых людей ($9,6 \pm 0,35$) данной возрастной группы. При этом у 72,7% больных концентрация гомоцистеина превышала 10,5 мкмоль/л (пограничное значение, превышение которого рассматривается как независимый фактор риска атеротромбоза). У 27,2% пациентов имелась умеренно-выраженная (15–30 мкмоль/л), а у 21,2% – средняя степень ГГЦ (30–100 мкмоль/л). Среднюю степень ГГЦ имели 65,2% больных с ишемической формой заболевания и только 12,1% – с неишемической. Особый интерес представляла группа больных, у которых заболевание носило рецидивирующий характер (7,2% от общего числа обследованных). Они также имели среднюю степень ГГЦ.

Мутации факторов I и V у пациентов с тромбозом вен сетчатки обнаружено не было. В 5,5% случаев наблюдалась мутация G20210A гена протромбина.

Многофакторный анализ показал корреляцию между наличием гиперхолестеринемией, гипергомоцистеинемией и повышением активности PAI-1 в плазме крови больных с тромбозом вен сетчатки. Учитывая, что стойкое повышение уровня холестерина и гомоцистеина приводит к повреждению, а следовательно, нарушению функции эндотелия сосудов, нарушается выработка tPA и PAI-1. При этом может наблюдаться как общее, так и локальное нарушение фибринолитической активности плазмы крови, объясняющее снижение концентрации tPA в структурах глазного яблока и слезной жидкости.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Независимыми факторами риска развития тромбоза вен сетчатки можно считать гипергомоцистеинемию, повышение активности ингибитора тканевого активатора пламиногена в плазме крови, полиморфизмы 434(С/Т) гена *GpIb* и 1565(Т/С) гена *GpIIIa*, ассоциированные с гиперагрегацией тромбоцитов.

© Е. В. Крылова, 2009 г.
УДК 616.5-053-07

Е. В. Крылова

ВОЗМОЖНОСТИ АУТОФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ ДЕРМАТОСКОПИИ ДЛЯ ОЦЕНКИ ВОЗРАСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ

Центр лазерной медицины, Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова

В последнее время проблеме фото- и хроностарения кожи уделяют много внимания, что обусловлено бурным

развитием дерматокосметологии. Увеличилось количество научных исследований, посвященных этим проблемам и в смежных специальностях, таких как патологическая физиология, генетика. Эффективность коррекции инволюционных изменений традиционно подтверждалась гистологическими исследованиями кожи, однако к косметологам обращаются, как правило, здоровые люди, которые неохотно идут на такие травмирующие процедуры.

Большинство исследователей в сфере возрастных изменений кожи выделяют биологическое старение (хронологическое, менопаузальное старение) и фотостарение. Отмечается сочетанность и неравномерность проявлений указанных видов старения у разных людей.

Фотостарение является следствием длительного воздействия ультрафиолетового излучения и рассматривается как

процесс, дополняющий хроностарение. Перспективным представляется использование флуоресцентной дерматоскопии, являющейся простым, неинвазивным методом для диагностики изменений кожи *in vivo*, позволяющим выявлять патологические участки ткани по изменению яркости и спектральным характеристикам свечения.

Освещение при флуоресцентной дерматоскопии проводится ультрафиолетовым или фиолетовым излучением. Флуоресценция может быть обусловлена различными эндогенными веществами – белками (коллагеном и эластином), пиридиннуклеотидами, флавопротеинами и порфиринами, либо введенными извне специальными красителями – флуорохромами или фотосенсибилизаторам. Классическим примером применения флуоресценции кожи в дерматологической диагностике является использование лампы с фильтром Вуда, представляющей источник ультрафиолетового света с длиной волны около 360 нм. Лампа Вуда широко применяется для выявления и оценки состояния больных с грибковыми и другими заболеваниями кожи. В дальнейшем был разработан ряд специальных аппаратов для проведения флуоресцентной дерматоскопии, использующих различные длины волн и принципы регистрации («Dyaderm Professional» Biocam GmbH (Germany); «UVscope» Moritex, (Japan – USA); «The Clarity Pro System» Moritex, (Japan – USA); «FD lens», FotoFinder Systems Inc., (Germany); «EcoSkin», SOI-KOREA Center. KERI).

Задачами данного исследования было:

- провести анализ флуоресцентных изображений кожи у людей различных возрастных групп со 2 и 3 фототипом кожи по Фицпатрику;
- выявить общие закономерности в изменении флуоресцентной картины с возрастом (качественно и количественно);
- осуществить разработку стандартной методики регистрации и обработки данных;
- изучить различия во флуоресцентной картине кожи на участках, наиболее подверженных инсоляции и менее подверженных действию ультрафиолетового облучения;
- определить возможности количественной оценки биологического возраста и фотовозраста по данным флуоресцентной дерматоскопии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для регистрации и оценки флуоресценции кожи в нашей работе был использован флуоресцентный видеодерматоскоп «EcoSkin», разработанный в процессе российско-корейского научно-технического сотрудничества в SOI-KOREA Center. KERI. Прибор представляет собой компактное ручное устройство, возбуждение флуоресценции производится фиолетовыми лучами вблизи 400 нм с помощью светодиодов, а регистрация флуоресцентной картины осуществляется с помощью телевизионного RGB-детектора.

Высокая чувствительность прибора и выбранные условия возбуждения и регистрации позволяют получать флуоресцентные изображения кожи (в цветном виде) с высоким пространственным разрешением и контра-

стом. Спектральные различия флуоресцентной эмиссии отражаются в изменениях цветового тона и насыщенности формируемой картины.

Прибор функционирует под управлением специализированной программы «Skin-Matrix». Программа обеспечивает возможность документирования результатов исследования в режимах фото и видео и выполнения измерительных функций, позволяющих объективно оценивать параметры флуоресцентной картины по интенсивности, цветовым различиям и размерам.

Исследуемая группа составила 54 женщины в возрасте от 13 до 93 лет, из них 32 женщины со вторым фототипом кожи по Фицпатрику и 22 – с третьим.

Оценивались участки кожи, наиболее подверженные инсоляции, – в зоне лица участок щеки, и наименее подверженные инсоляции – участок кожи на внутренней поверхности плеча.

Для количественной оценки состояния кожи использовался интегральный показатель A , учитывающий изменения следующих параметров: величины сигналов R , G и B по отношению к выбранному стандарту флуоресценции и отношения R/G и B/G ($A=f(H, G, r/g, b/g)$). Программа «Skin-Matrix» позволяет получать цифровые значения GS , % – общий фон свечения, соотношение интенсивности свечения по цветовым каналам r/g , g/b .

Измерения коэффициента гетерогенности (H) осуществлялось при помощи специализированной программы Flt.exe., а обработка результатов измерений – в программе Microsoft Excel.

Вклад фотоповреждения оценивался по разнице между показателем A на инсолируемых участках и наименее подверженных инсоляции.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При помощи флуоресцентного дерматоскопа были выявлены изменения в картине свечения, которые коррелируют с изменениями в гистологической картине.

Нами был получен высокий коэффициент корреляции (0,79) показателя A и биологического возраста людей в обследуемой группе, что представлено графически на рис. 1.

Рис. 2 отражает изменения коэффициента корреляции, достоверно более высокого на неинсолируемых участках (0,91), что подтверждает различную выраженность фотоповреждения.

Самый низкий процент корреляции наблюдается при определении вклада фотоповреждения, который оценивался по разнице между показателем A на инсолируемых участках и наименее подверженных инсоляции. Коэффициент корреляции показателя фотоповреждения равен 0,44, что закономерно, так как люди одного возраста в разной степени подвергаются воздействию солнечного облучения в течение жизни и не все постоянно используют солнцезащитные средства, что видно из рис. 3.

При биологическом старении кожи происходит изменение существующих флуорофоров (кератин, эластин, коллаген), а при фотостарении – еще появление ряда новых

флуорофоров. В настоящее время известно пять основных факторов защиты кожи от повреждающего действия ультрафиолетового излучения, четыре из них связаны с появлением новых или изменением количества существующих флуорофоров, что отражается на флуоресцентной картине свечения кожи и регистрируется прибором количественно по цветовым каналам b и g и их соотношением. На участках тела, подверженных инсоляции, с возрастом происходит усиление кератинизации, приводящее к утолщению рогового слоя эпидермиса (в отличие от его истончения при хроностарении) и, как следствие, хронической стимуляции ультрафиолетовыми лучами. Входящие в состав кератина аминокислоты, такие как гистидин, тирозин, триптофан, не только поглощают, но и отражают ультрафиолет, а также ослабляют воздействие ультрафиолета путем рассеивания. При этом усиливается общий фон свечения, что соответствует замедлению отторжения ороговевших клеток эпидермиса (признаки гиперкератоза) в гистологической картине и утолщение эпидермиса. В зонах, менее подверженных инсоляции, изменения общего фона свечения с возрастом были менее показательными. Также на инсолируемых зонах появляется генетически детерминированная меланиновая пигментация. Меланин представлен двумя типами: эумеланином и феомеланином. Эумеланин (черный пигмент) поглощает свет во всем видимом и большей части ультрафиолетового света, а феомеланин (желто-коричневый пигмент) – только в видимом диапазоне (400 нм). Пигмент меланин относят к адсорбирующим хроматофорам, которые поглощают часть спектра флуоресценции, влияют на показатель A и характеризуют выраженность фотоповреждения. Часто с возрастом пигмент неравномерно распределяется, что более отчетливо видно в свете флуоресценции, по сравнению с фотографией в белом свете, соответственно, увеличивается гетерогенность наблюдаемой флуоресцентной картины. В молодом возрасте свечение однородное. Интенсивность общего фона флуоресценции на малоинсолируемых зонах всегда больше, чем на подверженных инсоляции. Это, очевидно, также связано с присутствием меньшего количества адсорбирующих хроматофоров. Однако изменения флуоресценции с возрастом в этих зонах меньше, чем на открытых участках кожи.

Кроме того, на изменения как прямых показателей интенсивности свечения по цветовым каналам b и g, так и их соотношения, возможно, влияют антиоксиданты, в том числе β -каротин, который диффундирует в дерму и эпидермис из подкожной жировой клетчатки, где проявляет мембраностабилизирующий эффект, ограничивающий повреждающее воздействие синглетной формы кислорода, образующегося под воздействием ультрафиолетового излучения. Косвенно оказывать свое влияние могут присутствующие в эпидермисе ферменты супероксиддисмутаза и глутатион-пероксидазы-редуктаза, которые селективно инактивируют реактивные формы кислорода (супероксиданион, O_2^-), генерированные ультрафиолетовым излучением, и таким образом защищают от повреждения липиды клеточных мембран. Супероксиддисмутаза защищает также эпидермальные и дермальные протеины (кератин, эла-

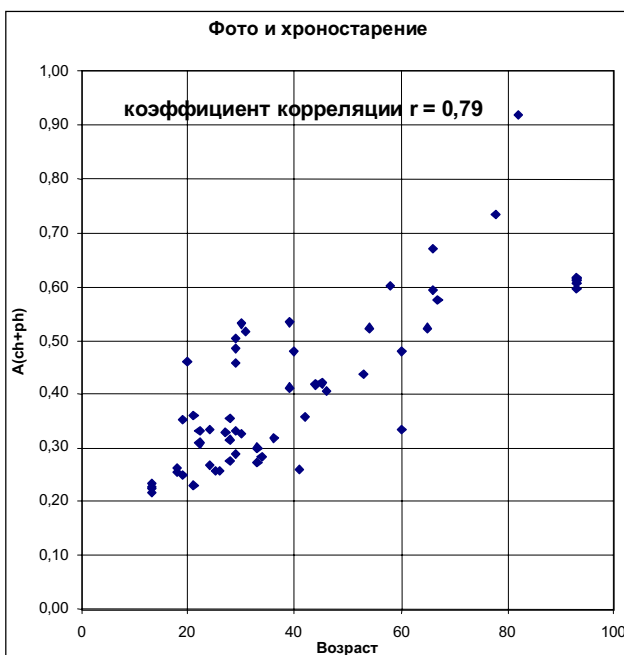


Рис. 1. Зависимость изменения показателя A (фото, хроно) на инсолируемых участках кожи от возраста человека

стин, коллаген) от воздействия реактивных видов кислорода. Активность этих факторов может влиять на индивидуальные особенности картины флуоресценции и выражен

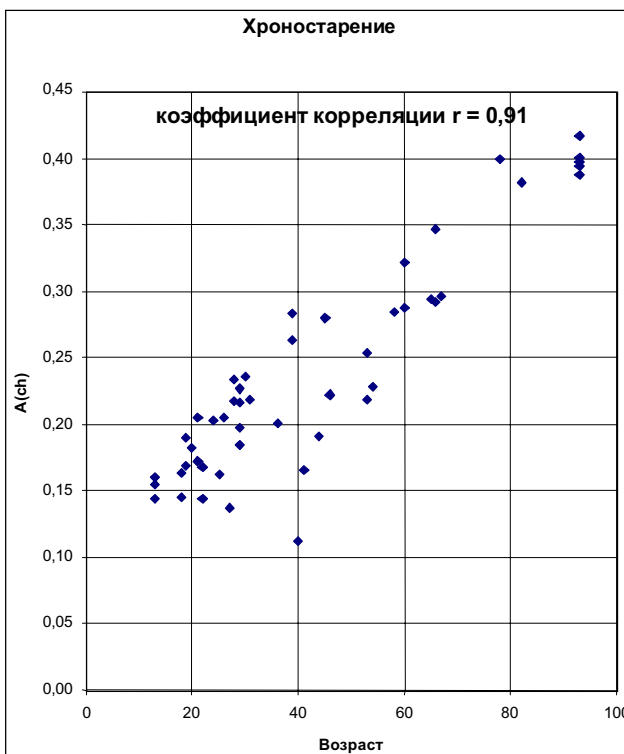


Рис. 2. Зависимость изменения показателя A (хроно) на неинсолируемых участках кожи от возраста человека. Самый высокий процент корреляции показателя A по отношению к возрасту наблюдается на наименее инсолируемых участках кожи

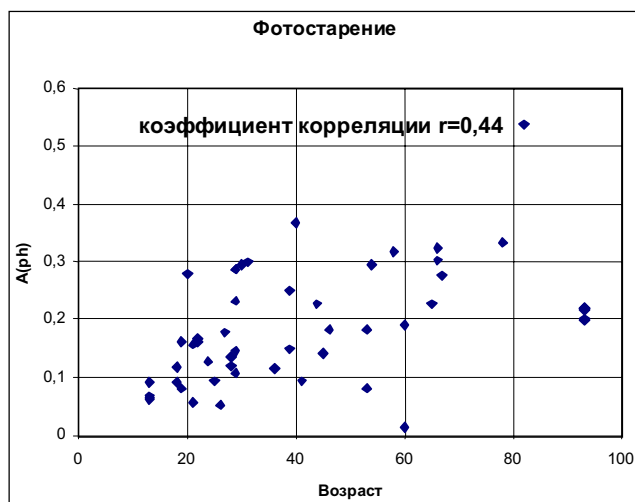


Рис. 3. Зависимость вклада фотоповреждения А (фото) от возраста человека. Показатель А фотостарения, оценивался по разнице показателя А на инсолируемых участках кожи и на не инсолируемых

ность фотостарения, так же как и фототип кожи человека. Поэтому для исследования нами были выбраны женщины только со 2–3 фототипом кожи и подсчет показателя А производился также отдельно в двух группах.

Важными флуорофорами для оценки состояния кожи и вклада фотоповреждения являются коллаген и эластин. Изменения в дерме обусловлены тем, что ультрафиолетовое излучение повреждает главную клетку дермы – фибробласт. Количество фибробластов увеличено, однако их функция нарушается: синтез нормального коллагена снижается и повышается синтез измененных эластических волокон. Уменьшение количества нормального дермального коллагена обусловлено также разрушением его матричными металлопротеазами (коллагеназой, желатиназой и стромализином), активность которых повышается при транскрипции фактора, который называет-

ся активатором протеина-1. Было установлено, что инсоляция активирует этот фактор и таким образом опосредованно вызывает деструкцию коллагена. При естественном старении, в противоположность фотостарению, коллаген более стабилен и устойчив к протеолизу. Значительное скопление измененных эластических волокон приводит к утрате кожей эластичности и обуславливает соответствующий внешний вид кожи: желтоватый цвет, грубая, шероховатая поверхность, образование мелких узелков, морщинок. Это состояние описано как солнечный (актинический) эластоз и рассматривается как хронический воспалительный процесс. Дермальные мастоциты частично дегранулированы. Массивная потеря коллагена и другие дегенеративные изменения матрикса, возможно, являются следствием активности протеаз и лимфокинов, освобожденных при дегрануляции мастоцитов. Количество гистиоцитов и других мононуклеаров увеличено. Снижение синтеза коллагена фибробластами, окружающими кровеносные сосуды, приводит к нарушению нормальной структуры сосудистой стенки. Многие сосуды полностью облитерированы, а оставшиеся – значительно расширены. В результате могут образовываться телеангиэктазии, которые так же, как и пигмент меланин, являются адсорбирующими хроматофорами и влияют на цифровые значения показателя А.

ВЫВОДЫ

Подобную технику можно использовать для оценки возрастных изменений кожи в косметологии, диагностики преобладающего влияния фотоповреждения, а также представляется интересным применение данного метода для контроля в процессе косметологического лечения и подбора дальнейшей тактики, которая отличается от тактики при преобладании биологического старения.

Работа выполнена при поддержке гранта Санкт-Петербургского медицинского университета им. акад. И. П. Павлова «Аутофлуоресцентная интравитальная органоскопия», 2009 г.

© Коллектив авторов, 2009 г.
УДК 617.7-007.681:575.224(470.23-2)

**А. Е. Мотушук, Н. А. Грудинина,
В. В. Рахманов, М. Ю. Манделъштам,
Ю. С. Астахов, В. Б. Васильев**

НОВАЯ МУТАЦИЯ Р369INS В ГЕНЕ *CYP11B1* У ПАЦИЕНТА С ПЕРВИЧНОЙ ВРОЖДЕННОЙ ГЛАУКОМОЙ ИЗ САНКТ- ПЕТЕРБУРГА

Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова

ВВЕДЕНИЕ

Современные тенденции в изменении структуры заболеваемости свидетельствуют о возрастании относительного значения генетически детерминированных заболеваний в патологии человека. Врожденные глаукомы – группа заболеваний, характеризующихся нарушением развития путей оттока водянистой влаги, в результате чего происходит повышение внутриглазного давления (далее – ВГД). Повышение ВГД может возникнуть внутриутробно или в любой момент после рождения ребенка. В нашей стране первичная врожденная глаукома (ПВГ) – очень редкая патология (1 на 10 000 новорожденных). Тем не менее как причина слепоты врожденные глаукомы выступают в 2,5–7 % случаев. ПВГ встречается во

всех этнических группах, но с разной частотой. Считается, что в России в 10–15 % случаев ПВГ носит наследственный (семейный) характер. Все это объясняет наш повышенный интерес к проблеме ПВГ вообще и изучению ее молекулярно-генетических основ в частности.

В 1997 г. I. Stoilov et al. у больных с глаукомой идентифицировал мутации в гене *CYP1B1*, кодирующем цитохром P4501B1, что сделало этот ген основным кандидатом для поиска мутаций при ПВГ в разных популяциях мира.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для изучения ПВГ была создана коллекция ДНК больных, страдающих глаукомой и прошедших лечение в Санкт-Петербургской педиатрической медицинской академии, детской городской больнице № 19 им. Раухфуса, городской больнице № 2, а также наблюдающихся в детском отделении Городского диагностического центра № 7. Численность этой группы составила 45 пациентов; они не являлись родственниками. Группу контроля составили 100 человек без патологии зрительно-нервного аппарата.

После подписания информированного согласия пациентами или, в случае несовершеннолетних пациентов, одним из родителей всем больным с целью верификации диагноза проводилось полное офтальмологическое обследование с использованием общепринятых методик.

Выделение геномной ДНК из периферической венозной крови проводили стандартным методом с фенольной экстракцией белков. Для амплификации фрагмента экзона 3 (экзона 3А) гена *CYP1B1* мы использовали оригинальные праймеры 5'-САССААСAGGGTATCCTGATGTG-3' и 5'-АТСАСТСТGCTGGTCAGGTC-3'. Продукты ПЦР выявляли при проведении электрофореза в 8 % полиакриламидном геле с последующим окрашиванием ДНК в геле раствором нитрата серебра. Анализ конформационного полиморфизма однонитевых фрагментов ДНК (SSCP-анализ) этого ампликона проводили по методике, предложенной А. Марковым (Markoff A.) и соавт. Фрагмент третьего экзона гена *CYP1B1*, содержащий мутацию, был клонирован в векторе pAL-TA («Евроген», Москва) и секвенирован в фирме «Евроген».

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У одного пациента при электрофорезе продуктов амплификации в полиакриламидном геле были обнаружены дополнительные фрагменты в амплификате экзона 3А, которые мы интерпретировали как гетеродуплексы. Секвенирование гетерозиготного образца с мутацией опре-

делило наличие инсерции в гене и для однозначного прочтения последовательности потребовало клонирования мутантного аллеля в плазмидном векторе.

Секвенирование мутантного аллеля выявило инсерцию тринуклеотида СТС и появление дополнительного остатка пролина в 369-м положении белка цитохрома. По правилам номенклатуры эту мутацию следует называть с. 1508ins3, или с.1508insСТС при нумерации по канонической последовательности кДНК NM_000104.3, или g.7942ins3 при нумерации по канонической последовательности U56438 гена *CYP1B1*, или же р.Р369ins при нумерации по последовательности белка человека NP_000095.1.

Мутация Р369ins была найдена только у одного из 45 пробандов с ПВГ и не обнаружена ни у одного из 100 доноров без патологии органа зрения, составляющих группу контроля. Лейциновый остаток в 369-м положении входит в состав последовательности RLP (аминокислотные остатки 368–370, нумерация по последовательности белка человека NP_000095.1), идентичной между белком человека и его гомологами у шимпанзе, собаки, быка, мыши, крысы, курицы и рыбы *Danio rerio*.

В результате мутации в белке цитохрома *CYP1B1* возникает последовательность RPLP с двумя близко расположенными остатками пролина. Остатки пролина образуют другой валентный угол в полипептидной цепи, чем остатки других аминокислот, и вставка дополнительного пролина должна существенно изменить пространственную укладку полипептидной цепи цитохрома, что скажется на его функции.

Описанная нами мутация не индексирована в Human Genome Mutation Database и в обзоре, обобщающем результаты поиска мутаций в *CYP1B1* в разных популяциях мира. Пациент с ПВГ унаследовал мутацию Р369ins от матери, которая не имеет патологии органа зрения и, по видимому, является генетическим компаундом, у которого мутацию во втором аллеле *CYP1B1* нам идентифицировать при тщательном скрининге экзонов этого гена не удалось.

ВЫВОДЫ

В настоящем исследовании нами была идентифицирована первая специфичная для России мутация гена *CYP1B1*, которая может способствовать развитию первичной врожденной глаукомы.

Исследования, описанные в настоящей статье, проведены при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 07-04-00476).

ПАМЯТКА ДЛЯ АВТОРОВ

«Ученые записки» Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени академика И. П. Павлова – официальный научный журнал СПбГМУ, публикующий статьи по проблемам медицинской науки, практики и преподавания.

В журнале имеются следующие разделы:

- передовые статьи;
- оригинальные статьи;
- обзоры и лекции;
- дискуссии;
- краткие сообщения;
- история и современность;
- исторические даты;
- информация о планах проведения конференций, симпозиумов, съездов;
- реклама.

Общими критериями работ, принимаемых для публикации в «Ученых записках» СПбГМУ, является актуальность, новизна материала и его ценность в теоретическом и/или прикладном аспектах. Обычной формой рукописи является оригинальная статья, текст которой включает в себя введение, материалы и методы исследования, результаты проведенной работы, иллюстрации, обсуждение результатов, список литературы. Аналогичную структуру имеют и краткие сообщения.

Обзоры, лекции, статьи по истории медицины и работы, доложенные и одобренные Научным советом СПбГМУ, принимаются после предварительного согласования с Редакцией или по ее заказу.

Редакция обеспечивает экспертную оценку (двойное закрытое рецензирование) рукописей. На основании письменных рецензий и заключения Редакционной коллегии рукопись принимается к печати, высылается автору (авторам) на доработку или отклоняется. В случае отказа в публикации статьи редакция направляет автору мотивированный отказ.

Статьи, посвященные диссертационным исследованиям, публикуются в журнале бесплатно.

Редакция оставляет за собой право публиковать принятые к печати статьи в том виде и в такой последовательности, которые представляются оптимальными для журнала.

ОФОРМЛЕНИЕ РУКОПИСИ

Статьи представляются в редакцию на дискетах, подготовленных на любом IBM-совместимом компьютере в текстовом редакторе «Word 2.0, 6.0, 7.0» (дискета 1,44 МВ или CD) с распечаткой текста на бумаге **в двух экземплярах**. Работы должны быть напечатаны через два интервала с полями сверху – 20 мм, слева – 30 мм, справа – 10 мм, снизу – 25 мм.

Таблицы. Каждая таблица должна быть напечатана на отдельной странице, иметь номер и название. Все графы в таблице должны иметь заголовки, сокращения слов в таблице допускаются только в соответствии с требованиями ГОСТ-1-5-68.

Рисунки должны быть выполнены в двух экземплярах на одной стороне отдельных листов плотной белой гладкой бумаги или ватмана, размером не более 20×30 см, черной тушью; *микрофотографии и рентгенограммы* – на глянцевой бумаге (холодный глянец). Размер фотографий – 9×12 см. На обратной стороне каждого рисунка или фото указываются ФИО первого автора, название статьи, номер рисунка и отмечается верх и низ. На рисунке должно быть минимальное количество обозначений, все пояснения выносятся в подрисовочные подписи. Для всех иллюстративных материалов в тексте указывается их место. Для иллюстраций (рисунков, схем, диаграмм, фотографий), имеющих **электронную версию**, необходимо представлять ее **в виде отдельного файла в форматах *.tif, *.psx, *.bmp, *.xls** и т. п. на дискетах.

Для оригинальной статьи суммарный объем (текст, иллюстрации, список литературы, резюме на русском и английском языках и ключевые слова) не должен превышать 10 страниц (бумага А4), напечатанных через 2 интервала.

Краткое сообщение (до 4-х страниц) оформляется аналогичным образом, число иллюстраций и таблиц – не более трех, список использованной литературы в краткое сообщение не включается, резюме не требуется.

Объем и оформление других видов работ (обзоры, лекции или иное) согласуются с Редакцией заранее.

СТАТЬИ, НАПРАВЛЕННЫЕ В ЖУРНАЛ, ДОЛЖНЫ ИМЕТЬ

Титульный лист (печатается на отдельной странице) включает ФИО автора (соавторов), место (места) выполнения работы, служебный адрес (адреса) и подпись автора (соавторов). В нижней части этого листа следует проставить должность, ученое звание, степень, а также телефон, факс и e-mail (если имеются) автора, с которым Редакция будет поддерживать связь.

Список литературы (печатается с новой страницы) составляется в алфавитном порядке: сначала работы отечественных авторов, затем иностранных. Работы отечественных авторов, опубликованные на иностранных языках, помещаются среди работ иностранных авторов, а работы иностранных авторов, опубликованные на русском языке – среди работ отечественных авторов.

Фамилии иностранных авторов, упоминаемые в тексте статьи, даются в оригинальной транскрипции.

Литература, цитируемая в статье, дается нумерацией в квадратных скобках (например, [1]).

Резюме, объемом не более 200 слов, включающее ФИО авторов, название работы и место ее выполнения; *ключевые слова* (не более 6) **на русском и английском языках**.

РАЗНОЕ

1. Титульный лист в общий объем оригинальной статьи или краткого сообщения не включается.
2. В материалах, направленных в журнал, должна быть использована система СИ, за исключением размерности величин, традиционно измеряемых в других мерах.
3. Все сокращения, используемые в статье, должны быть расшифрованы, кроме символов химических элементов и сокращенных названий метрических единиц.
4. Исправленные автором после рецензирования и перепечатанные рукописи возвращаются в редакцию не позднее одного месяца, а исправленные гранки – через одну неделю.
5. Авторский гонорар и оплата труда по рецензированию рукописей не предусмотрены.
6. Рукописи, не принятые к печати, авторам не возвращаются.

Оформленные в соответствии с настоящими Правилами рукописи следует направлять по адресу:

197022, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, 6/8,
Санкт-Петербургский государственный
медицинский университет им. акад. И. П. Павлова,
Редакция журнала «Ученые записки СПбГМУ».

телефоны: 234-27-28, 499-70-81
факс: 8(812) 233-45-88
e-mail publicher1@mail.ru
www.spbmedu.ru

Главный редактор – академик РАМН, профессор *Н. А. Яцикий*.

Зам. главного редактора – профессор *Е. В. Соколовский*

Отв. секретарь – проф. *Л. А. Алексина*; телефон 499-70-81 (634 местный).

REGULATIONS FOR AUTHORS

The Record of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University (IPP-SPSMU Record), is the official journal of the I.P. Pavlov St. Petersburg State Medical University (IPP-SPSMU). It publishes reports on a broad spectrum of medical and related issues, either fundamental or applied, as well as reviews and tutorials. The general criteria for publication of a manuscript submitted to the IPP-SPSMU Record, is novelty and significance in theoretical and/or practical aspects. High priority is given to a manuscript that had not been published elsewhere other than as an abstract. A usual type of the manuscript is a Regular Article, which incorporates Introduction, Materials & Methods, Results, Discussion, and List of References. The analogous sections should be presented in a Short Communication type of an article. Review Articles, Lectures, and History of Medicine Articles should be agreed with the Editorial Office beforehand unless requested by the Editorial Board itself, or reported on and approved for publication at a regular meeting of the Scientific Board of the IPP-SPSMU.

The Editorial Board assigns manuscripts to two external experts for reviewing. On the basis of the written reviews and the decision of the Editorial Board, a manuscript is to be either accepted or rejected; it can be also sent to the author (authors) for alterations in accordance with the reviewers comments.

The Editorial Board is authorized to publish the accepted manuscripts in such journal issues and contents sequences that are considered optimal for the Journal.

MANUSCRIPT PREPARATION

A manuscript of a Regular Article should be printed in triplicate, double-spaced using 2.5 cm wide margins all around, and restricted to 10 A4 numbered pages. The space allotted should incorporate all sections of the manuscript, including the numbered, alphabetically arranged, and full (with titles in quotation) List of References. In the text, the references are given as figures in the square parentheses. Figures and/or photos are submitted on the separate sheets, with indication of their optimal place on the left margins of the text. Up to six single (9×12 cm) or two composite (14×18 cm) halftone photos ready for PC-scanning are accepted, each one with a scale bar, markings (if necessary), and figure legends as well as magnifications and staining modes on a separate sheet. All illustrations should be identified on the back with figure number, running title of the paper, name of the first author, and an arrow indicating the top. Short Communication should not exceed four pages, with three single or one composite photos, ten quotations, and the arrangement as in a Regular Article. Style and length for the Review Articles, Lectures, and History of Medicine Articles are to be stipulated with the Editor before manuscript submission.

Manuscripts not conforming to the Regulations will be returned to the authors without assessment.

Title page

The title page bears name(s) of author(s), title of the manuscript, institution(s) where the work was done, all addresses and signatures of the authors. On the bottom of the Title Page, a full name, person's duties, academic degree(s), affiliation, as well as address, phone, facsimile, and e-mail coordinates are placed as to the author to whom the Journal should communicate.

Summary

On a separate sheet summary should be prepared, in 200 words or less, followed by up to six key words, in italics, on a separate line.

Disk Submission

The disk (1.44 MB) file of all sections of the paper, except for photos, should accompany the manuscript prepared on PC-IBM (not Apple Mackintosh) compatible computer. Include an ASCII version on the disc, together with the word-processed version.

MISCELLANEOUS

1. Title page, summary, any figures, and figure legends are not included in the space allotted to a manuscript, of either Regular Article or Short Communication type.

2. It is advisable for the contributors to return the revised and re-printed versions of the manuscripts, and also the approved galley proofs within two months and two weeks after receipt, respectively. Otherwise, publishing of the manuscripts can be delayed.

3. Author and reviewer royalties for papers published and revised in the IPP-SPSMU Record are not provided for.

4. The manuscripts rejected by the IPP-SPSMU Record are not to be returned to the contributors.

Submission Address:

IPP-SPSMU Record
I. P. Pavlov St. Petersburg State Medical University
6/8 Leo Tolstoy Str., 197022,
St. Petersburg, Russian Federation

Tel.: 7(812) 234-27-28 or 7(812) 499-70-81
Fax: 7(812) 233-45-88
E-Mail publicher1@mail.ru
www.spbmedu.ru