

Міністерство освіти і науки України

# Вісник

Харківського національного університету  
ім. В.Н. Каразіна

774/2007



ISSN 0453-8048

УДК: 616.1

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ

# ВІСНИК

Харківського національного університету  
імені В.Н. Каразіна

№ 774

МЕДИЦИНА  
Випуск 14

ХАРКІВ  
2007

Вісник містить статті, присвячені актуальним питанням сучасної експериментальної та клінічної медицини.

### ГОЛОВНІ РЕДАКТОРИ

М.І. Яблучанський, д-р мед. наук, проф.  
О.В. Мартиненко, д-р фіз.-мат. наук, проф.

### РЕДАКЦІЙНА РАДА

В.М. Казаков, д-р мед. наук, проф., акад. АМН України	О.Ю. Майоров, д-р мед. наук, проф.
Б.Я. Кантор, д-р техн. наук, проф.	О.С. Медведєв, д-р мед. наук, проф. (Росія)
М.М. Коренєв, д-р мед. наук, проф.	М.І. Хвисюк, д-р мед. наук, проф.
Н.В. Лисенко, канд. мед. наук, доцент	Є.Д. Хворостов, д-р мед. наук, проф.

### РЕДАКЦІЙНА КОЛЕГІЯ

Дж. Альперт, д-р мед. наук, проф. (США)	О.О. Корж, д-р мед. наук, проф., акад. АМН України
А. Ауберт, д-р мед. наук, проф. (Бельгія)	І.Г. Купновицька, д-р мед. наук, проф.
О.Я. Бабак, д-р мед. наук, проф.	П.Ф. Літвицький, д-р мед. наук, проф., чл.-корр. АМН Росії (Росія)
В.В. Бобін, д-р мед. наук, проф.	Дж. Люлечі, д-р філос., проф. (Туреччина)
В.О. Бобров, д-р мед. наук, проф., чл.-корр. НАН і АМН України	О.О. Мойбенко, д-р мед. наук, проф., акад. НАН України
В. Вертелецький, д-р мед. наук, проф. (США)	В.З. Нетяженко, д-р мед. наук, проф., чл.-кор. АМН України
Д.К. Гайдушек, д-р мед. наук, проф. (Франція)	О.М. Папіташвілі, д-р мед. наук, проф. (Грузія)
В.І. Грищенко, д-р мед. наук, проф., акад. НАН України	В.Г. Пасинок, канд. пед. наук, доц.
Г.В. Дзяк, д-р мед. наук, проф., акад. АМН України	М.М. Попов, д-р мед. наук, проф.
І.І. Залюбовський, д-р фіз.-мат. наук, проф., чл.-корр. НАН України	Ю.С. Сапа, д-р мед. наук, проф.
І.А. Зупанець, д-р мед. наук, проф.	В.М. Сокрут, д-р мед. наук, проф.
В.М. Коваленко, д-р мед. наук, проф., чл.-корр. АМН України	Г. Хуттен, д-р фіз.-мат. наук, проф. (Австрія)
П.Г. Кондратенко, д-р мед. наук, проф.	Юнер Тан, д-р мед. наук, проф. (Туреччина)

Адреса редакційної колегії: 61077, м. Харків, пл. Свободи, 6,  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна,  
факультет фундаментальної медицини,  
тел./факс (057) 702-04-55; 707-54-50,  
E-mail: [ffm@univer.kharkov.ua](mailto:ffm@univer.kharkov.ua)

Відповідальний секретар – Н.В. Лисенко, канд. мед. наук, доцент.

Друкується за рішенням Вченої ради Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Протокол № 11 від 27.10.2006 р.

Свідоцтво про державну реєстрацію ВОО № 948011 від 03.01.2003 р.

## З М І С Т

<b>Фундаментальні дослідження</b>	
<i>Волянський А.Ю., Никитченко Ю.В., Супрун Е.В., Смирненко Л.Л., Мізін В.В., Кучма І.Ю.</i> ВПЛИВ ТИРОКСИНУ НА СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІМУНІЗАЦІЇ АДП-АНАТОКСИНОМ	5
<i>Городницька Н.І., Мартинов А.В., Осолодченко Т.П.</i> БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ PSEUDOMONAS AERUGINOSA ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА РІЗНИХ ШТУЧНИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ	9
<i>Григор'єва Л.В.</i> НЕЙРОЛЕПТИЧНА АКТИВНІСТЬ НАТРІЄВОЇ СОЛІ 5-N, N-ДІЕТИЛСУЛЬФАМОЇЛ-3-МЕТОКСІФЕНІЛАНТРАНІЛОВОЇ КИСЛОТИ	13
<i>Калініченко С.В.</i> СТУПІНЬ АКТИВНОСТІ ФАКТОРІВ ПАТОГЕННОСТІ У ЦИРКУЛЮЮЧИХ ШТАМІВ ТОКСИНОУТВОРЮЮЧИХ КОРИНЕБАКТЕРІЙ	22
<i>Леонова І.С., Падалко В.І.</i> МОЖЛИВИЙ ВПЛИВ ФЕНОБАРБІТАЛУ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕРАПІЇ ГРИБКОВИХ ІНФЕКЦІЙ	28
<i>Петренко О.Ю., Сандомирський Б.П., Якімова Т.П., Ковальов Г.О.</i> ВПЛИВ СУМІСНОГО ВВЕДЕННЯ ЕМБРІОНАЛЬНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ І ГОЛОВНОГО МОЗКУ НА ВАЖКІСТЬ АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ	32
<i>Ремньова Н.О., Проценко О.С.</i> ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ ТИМУСА І КРИТЕРІЇ ДО- ТА ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПРОГНОЗУ ТІМЕКТОМІЇ У ЖІНОК З ГЕНЕРАЛІЗОВАНОЮ МІАСТЕНІЄЮ	36
<i>Романова О.А., Мартинов А.В., Ізумнова Н.І., Сидоренко Т.А., Чернявський В.І., Смілянська М.В., Перемот С.Д.</i> ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ СТИМУЛЯТОРІВ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ В ЕКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO	43
<i>Сіренко О.В.</i> ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ ЦИТОПЛАЗМАТИЧНИХ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДІВ БІОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІЇ ТА ФОСФОРЕСЦЕНЦІЇ	46
<i>Сорокіна І.В., Шерстюк С.О.</i> МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ ПЛОДІВ ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ВІД ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ МАТЕРІВ	50
<i>Стрижельчик Н.Г.</i> ДОСЛІДЖЕННЯ МУТАГЕННОЇ ТА МОДИФІКУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ССАВЦЯХ	55
<i>Федорищева В.О., Яблучанський М.І., Арнольд В., Наумова Е.О.</i> СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ ЛІНІЙНИХ ТА КУТОВИХ ПОКАЗНИКІВ ЧЕРЕПА НАСЕЛЕННЯ З КВАРТАЛУ ІХА ПІВНІЧНОГО РАЙОНУ ХЕРСОНЕСУ (XIII-XIV СТ Н.Е.)	62
<i>Цівенко І.О., Сорокіна І.В.</i> ПАТОМОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРИЧНОЇ ТА УЛЬТРАЗВУКОВОЇ ДИСЕКЦІЇ ТКАНИН НА ВИРАЖЕННЯ МІСЦЕВИХ ЗМІН ТА ДИНАМІКУ РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕСУ В ОРГАНАХ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ	68
<i>Якімова Т.П., Свинаренко А.В.</i> КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РАКУ ПРЯМОЇ КИШКИ	76

<b>Клінічні дослідження</b>	
<i>Бичков С.О.</i> НЕСПЕЦИФІЧНИЙ РЕАКТИВНИЙ ГЕПАТИТ У ХВОРИХ НА ЖОВЧНОКАМ'ЯНУ ХВОРОБУ	80
<i>Вовк К.В.</i> ДОСВІД ВЖИВАННЯ СИМВАСТАТИНУ ПРИ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ХОЛЕЦИСТИТ І ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ	84
<i>Гаркавий П.О., Єгорова А.Ю., Яблучанський М.І.</i> ТИПИ ОРТОСТАТИЧНИХ РЕАКЦІЙ СИСТОЛІЧНОГО АРТЕРІАЛЬНОГО ТИСКУ У ПАЦІЄНТІВ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ	89
<i>Дановська Є.В., Яблучанський М.І., Ремньова Н.О.</i> МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ТОВЩИНИ ІНТИМИ-МЕДІЇ ТА ДІАМЕТРУ СОННИХ І СТЕГНОВИХ АРТЕРІЙ У ПОМЕРЛИХ, ЩО СТРАЖДАЛИ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ	93
<i>Куц Є.Г.</i> ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДИХУВАНОВОГО ПОВІТРЯ ПІДЛІТКІВ З ХРОНІЧНОЮ ДИСПЕПСІЄЮ ЗА ДОПОМОГОЮ НОВИХ ГАЗОЧУТЛИВИХ СЕНСОРІВ: МЕТОДИЧНІ АСПЕКТИ	97
<i>Лебець І.С., Летяго Г.В.</i> ХАРАКТЕРИСТИКА ПСИХОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ТА АДАПТОВАНОСТІ ДО ЗАХВОРЮВАННЯ У ПІДЛІТКІВ ІЗ ОСТЕОАРТРОЗОМ	103
<i>Огнівенко О.В., Попов М.М., Романова О.А.</i> ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФАГОЦИТАРНИХ КЛІТИН ХВОРИХ ВЕРХНЬОЩЕЛЕПНИМ СИНУСИТОМ, ЩО СТРАЖДАЮТЬ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ	108
<i>Перетятко О.Г.</i> АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕНТЕРОКОКІВ, ЯКІ ВИЛУЧЕНІ ЗІ ЗМІСТУ ТРОФІЧНИХ ВИРАЗОК ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ	115
<i>Попов М.М., Савченко А.В., Висеканцев І.П.</i> МІКРОФЛОРА НАДГОРТАННИКА ХВОРИХ КАТАРАЛЬНОЮ ТА НЕКРОТИЧНОЮ ФОРМАМИ ЕПІГЛОТИТА	118
<i>Проценко О.С., Полякова О.В., Пономарчук Р.М.</i> РОЛЬ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЕСТРОГЕНУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ ПРИ ПРИЗНАЧЕННІ ГОРМОНАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ ХВОРИМ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ В РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУПАХ	123
<i>Проскуріна Т.Ю.</i> ПРЕДИКТОРИ НЕВРОТИЧНИХ РОЗЛАДІВ У ПІДЛІТКІВ	128
<i>Щербіна І.М.</i> СТАН Т-КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ЖІНОК В ПЕРИМЕНОПАУЗАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ	132
<b>Лекції</b>	
<i>Яблучанський М.І.</i> СУЧАСНА ТЕРАПІЯ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ: ЗНАЧЕННЯ АНТАГОНІСТІВ АЛЬДОСТЕРОНУ	134

УДК: 61:612.017:615.371

## ВЛИЯНИЕ ТИРОКСИНА НА СОСТОЯНИЕ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЙ СИСТЕМЫ КРОВИ КРЫС ПРИ ИММУНИЗАЦИИ АДС-АНАТОКСИНОМ

*А.Ю. Волянский, Ю.В. Никитченко, Э.В. Супрун, Л.Л. Смирненко, В.В. Мизин, И.Ю. Кучма*  
Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины г. Харьков,  
Украина

### РЕЗЮМЕ

Исследована динамика изменения содержания гидроперекисей липидов, концентрации ферментативно-активного церулоплазмينا, супероксиддисмутазной и глутатионпероксидазной активности в сыворотке крови 3-месячных крыс при длительном введении тироксина, в процессе формирования на этом фоне иммунного ответа к дифтерийному и столбнячному анатоксинам (составляющим АДС-вакцины). Обнаружено, что в ответ на введение тироксина содержание продуктов перекисного окисления липидов увеличивалось, а активность антиоксидантных ферментов снижалась. Показано, что в процессе формирования иммунного ответа к дифтерийному и столбнячному анатоксинам АДС-вакцины в сыворотке крови гипертиреоидных крыс содержание ферментативно-активного церулоплазмينا и активность глутатионпероксидазы увеличивались.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** прооксидантно-антиоксидантный баланс, тироксин, АДС-анатоксин, крысы

Многочисленные исследования свидетельствуют, что состояние системы иммунитета в значительной степени зависит от гормонального статуса организма и, в особенности, от функционального состояния системы гипофиз-щитовидная железа [6, 7, 13]. Доказано нами, что изменение процесса формирования антитоксического иммунного ответа на дифтерийный и столбнячный анатоксины в составе АДС-анатоксина у крыс разного возраста тесно связаны с изменением тиреоидного статуса и прооксидантно-антиоксидантного баланса крови [1, 2, 4]. Определено также, что кратковременное и длительное введение тироксина крысам приводит к активации перекисного окисления липидов (ПОЛ) и накоплению продуктов свободнорадикального повреждения липидов и белков, которые связаны с увеличением генерации активных форм кислорода в редокс-цепях митохондрий и микросом [9-11]. С другой стороны, причиной накопления продуктов свободнорадикального повреждения биомолекул при гипертиреозе может быть снижение функции ферментативной и неферментативной антиоксидантной системы тканей [5, 12, 16, 18].

В связи с тем, что состояние прооксидантно-антиоксидантной системы тесно связано с иммунногормональным статусом организма, целью работы было исследование особенностей действия тироксина на содержание продуктов ПОЛ и активность антиоксидантных ферментов в сыворотке крови крыс при иммунизации АДС-анатоксином.

Работа выполнена в рамках НИР «Исследование влияния функциональных нарушений тиреоидного статуса организма на антителогенез при вакцинации в эксперименте»

(№ госрегистрации 0105U001109) Института микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование состояния прооксидантно-антиоксидантной системы крови при иммунизации на фоне введения тироксина (Т<sub>4</sub>) проведено на 3-месячных крысах-самцах линии Вистар и выполнено с соблюдением правил Европейской конвенции по защите позвоночных животных (Страсбург, 1986), используемых для экспериментальных и научных целей. В опыте было 10 групп животных: 1 группа – контрольная, крысам вводили физиологический раствор внутривентриально 1 раз в сутки в объеме 0,15 мл на 100 г массы тела; 2-10 группы – подопытные животные, которым в течение всего эксперимента вводили L-тироксин внутривентриально 1 раз в сутки в дозе 50 мг на 100 г массы тела. Подопытным крысам 3, 5, 7, 9 и 10 групп после третьего введения гормона вводили АДС-анатоксин подкожно однократно в дозе 15 ЛФ дифтерийного и 5 ОЗ столбнячного анатоксинов в 0,25 мл препарата. Эта доза как минимально эффективная была заранее определена при разработке модели иммунного ответа на АДС-анатоксин [3]. Подопытные группы состояли из 3-4 животных, а контрольная – из шести.

Подопытных крыс выводили из опыта декапитацией через 3, 7, 14, 21 и 28 суток после иммунизации, что соответствовало 6, 10, 17, 24 и 31 суткам введения Т<sub>4</sub>. Контрольных животных декапитировали через 6 суток после введения физиологического раствора. Кровь собирали, получали сыворотку и хранили ее на холоду до использования в опыте.

Измерение концентрации гидроперекисей липидов проводили по методу Asakawa [14]. Спектр поглощения окрашенного продукта регистрировали на двулучевом спектрофотометре Specord UV VIS и разницу экстинкций измеряли при 535 и 520 нм. Содержание гидроперекисей липидов рассчитывали в эквивалентных количествах малонового диальдегида соответственно коэффициенту молярной экстинкции  $1,56 \cdot 10^5 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

Глутатионпероксидазную активность (КФ 1.11.1.9) определяли по методу Ланкина В.З. и соавт. [8] в 50 мМ  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ -фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 1 мМ ЭДТА, 0,1 мМ NADPH, 1 ед. глутатионредуктазы дрожжей, 0,4 мМ перекиси водорода, 0,2% тритон X-100 и 2 мМ азида Na для ингибирования каталазы. Реакцию проводили при температуре 37°C и постоянном перемешивании. Глутатионпероксидазную активность регистрировали при 340 нм на двулучевом спектрофотометре Specord UV VIS (Германия). Активность выражали в мкмоль NADPH/мл сыворотки с учетом коэффициента молярной экстинкции  $6,22 \cdot 10^3 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

Супероксиддисмутазную активность (КФ 1.15.1.1) определяли как описано в работе [15]. Метод состоит в определении степени ингибирования реакции восстановления нитротетразолия синего супероксидными радикалами, которые генерируются с определенной скоростью в ксантин-ксантиноксидазной системе. Супероксиддисмутазную активность измеряли в среде, содержащей 50 мМ  $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$ -фосфатный буфер (рН 7,8), 50 мМ  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , 0,1 мМ ЭДТА, 25 мкМ нитротетразолий синий, 0,1 мМ ксантин, 0,003 ед. ксантиноксидазы. За единицу супероксиддисмутазной активности принимали 50% ингиби-

разолия синего при температуре 37°C. Супероксиддисмутазную активность регистрировали при 560 нм на двулучевом спектрофотометре Specord UV VIS (Германия) и рассчитывали в единицах активности на 1 мл сыворотки крови.

Содержание ферментативноактивного церулоплазмينا (КФ 1.16.3.1) определяли как описано в работе [17] в среде, содержащей 0,1 М ацетатного буфера (рН 5,5) и 0,1% парафенилендиамин. Сыворотку крови добавляли в количестве 0,02 мл на 2 мл реакционной среды. Длительность инкубации – 1 час при температуре 37°C. Реакцию останавливали добавлением 0,01% азида натрия. Оптическую плотность окрашенных образцов регистрировали на двулучевом спектрофотометре Specord UV VIS (Германия) при 530 нм, содержание церулоплазмينا выражали в мг на 100 мл сыворотки крови.

Статистическую обработку результатов исследования проводили на ПК с использованием пакета прикладных программ "Excel". Достоверно разными считались результаты при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Содержание гидроперекисей липидов в сыворотке крови крыс, получавших в течение 6 суток  $T_4$ , существенно увеличивалось (на 34%) по сравнению с контрольными животными (табл. 1). В дальнейшем, через 10, 17 и 24 суток введения гормона, содержание этих продуктов ПОЛ в крови подопытных крыс оставалось на столь же высоком уровне. Введение на фоне  $T_4$  АДС-анатоксина не оказывало влияния на динамику изменения концентрации гидроперекисей липидов.

рование скорости восстановления нитротет-

Таблица 1

**Влияние тироксина на содержание гидроперекисей липидов и глутатионпероксидазную активность в сыворотке крови крыс при иммунизации АДС-анатоксином ( $M \pm sd$ )**

Группа животных	Гидроперекиси липидов, нмоль МДА/мл	Глутатионпероксидаза, мкмоль NADPH/мин·мл
Контроль	2,84±0,13	1,23±0,17
$T_4$ , 6 сут	3,81±0,15 *	1,02±0,14
$T_4$ , 6 сут + АДС	3,63±0,31 *	0,66±0,04 *
$T_4$ , 10 сут	3,84±0,23 *	0,66±0,01 *
$T_4$ , 10 сут + АДС	3,91±0,19 *	0,66±0,12 *
$T_4$ , 17 сут	3,99±0,25 *	0,60±0,04 *
$T_4$ , 17 сут + АДС	3,94±0,10 *	1,00±0,08 **
$T_4$ , 24 сут	3,94±0,10 *	0,67±0,03 *
$T_4$ , 24 сут + АДС	3,84±0,30 *	1,59±0,30 **
$T_4$ , 31 сут + АДС	3,64±0,10	1,78±0,16 *

\* -  $P < 0,05$  по сравнению с контролем;

\*\* -  $P < 0,05$  по сравнению с соответствующей группой животных, получавших только  $T_4$ .

Активность фермента, утилизирующего гидроперекиси липидов, – глутатионпероксидазы значительно снижалась (в 1,9 раза) к 10 суткам введения  $T_4$  и в дальнейшем оста-

валась на столь же низком уровне (табл. 1). Полученные результаты согласуются с данными других исследователей, которые показали снижение глутатионпероксидазной ак-

тивности в сердце гипертиреоидных крыс тией тиреоидных гормонов [12]. Введение на фоне T<sub>4</sub> АДС-анатоксина приводило к достоверному снижению глутатионпероксидазной активности уже к 6 суткам после начала эксперимента. В дальнейшем, к 17, 24 и 31 суткам, глутатионпероксидазная активность крови вакцинированных животных значительно увеличивалась. Так, к 17 и 24 суткам эксперимента (14 и 21 сутки после введения АДС-анатоксина) активность изучаемого фермента оказалась в 1,7 и 2,4 раза выше, чем у крыс, получавших только T<sub>4</sub>. Важно отметить, что к 31 суткам эксперимента (28 сутки после введения АДС-анатоксина) глутатионпероксидазная активность

[18] и в крови людей с повышенной продукцией тиреоидных гормонов [12]. Введение на фоне T<sub>4</sub> АДС-анатоксина приводило к достоверному снижению глутатионпероксидазной активности уже к 6 суткам после начала эксперимента. В дальнейшем, к 17, 24 и 31 суткам, глутатионпероксидазная активность крови вакцинированных животных значительно увеличивалась. Так, к 17 и 24 суткам эксперимента (14 и 21 сутки после введения АДС-анатоксина) активность изучаемого фермента оказалась в 1,7 и 2,4 раза выше, чем у крыс, получавших только T<sub>4</sub>. Важно отметить, что к 31 суткам эксперимента (28 сутки после введения АДС-анатоксина) глутатионпероксидазная активность

[18] и в крови людей с повышенной продукцией тиреоидных гормонов [12]. Введение на фоне T<sub>4</sub> АДС-анатоксина приводило к достоверному снижению глутатионпероксидазной активности уже к 6 суткам после начала эксперимента. В дальнейшем, к 17, 24 и 31 суткам, глутатионпероксидазная активность крови вакцинированных животных значительно увеличивалась. Так, к 17 и 24 суткам эксперимента (14 и 21 сутки после введения АДС-анатоксина) активность изучаемого фермента оказалась в 1,7 и 2,4 раза выше, чем у крыс, получавших только T<sub>4</sub>. Важно отметить, что к 31 суткам эксперимента (28 сутки после введения АДС-анатоксина) глутатионпероксидазная активность

Таблица 2

**Влияние тироксина на супероксиддисмутазную активность и содержание ферментативно-активного церулоплазмينا в сыворотке крови крыс при иммунизации АДС-анатоксина (M±sd)**

Группа животных	Супероксиддисмутаза, усл.ед./мл	Церулоплазмин, мг/100 мл
Контроль	264,9±15,9	15,07±0,51
T <sub>4</sub> , 6 сут	208,0±19,6 *	11,05±1,80 *
T <sub>4</sub> , 6 сут + АДС	194,3±19,9 *	10,68±1,91 *
T <sub>4</sub> , 10 сут	203,8±22,2 *	8,99±2,51 *
T <sub>4</sub> , 10 сут + АДС	212,7±10,7 *	8,95±1,34 *
T <sub>4</sub> , 17 сут	200,8±22,3 *	9,39±1,10 *
T <sub>4</sub> , 17 сут + АДС	217,6±1,6 *	12,78±0,76 ***
T <sub>4</sub> , 24 сут	202,1±23,5 *	12,08±0,87 *
T <sub>4</sub> , 24 сут + АДС	187,3±6,8 *	16,10±1,07 **
T <sub>4</sub> , 31 сут + АДС	207,6±7,6 *	14,35±1,95

\* - P < 0,05 по сравнению с контролем;

\*\* - P < 0,05 по сравнению с соответствующей группой животных, получавших только T<sub>4</sub>.

Содержание ферментативноактивного церулоплазмينا – второго белка сыворотки крови, способного эффективно утилизировать супероксидные радикалы, – в ответ на введение гормона значительно снижалось (в 1,7 раза) к 10 суткам эксперимента, а затем несколько увеличивалось к 24 суткам, оставаясь достоверно ниже уровня у контрольных крыс. У подопытных животных, получавших на фоне T<sub>4</sub> АДС-анатоксин, содержание ферментативно-активного церулоплазмينا на 6 и 10 сутки эксперимента (3 и 7 сутки после введения АДС-анатоксина) снижалось в 1,4 и 1,7 раза, соответственно, и затем, к 24 и 31 суткам (21 и 28 сутки после введения АДС-анатоксина), увеличивалось до уровня контрольных крыс. Обнаруженное увеличение (к 24 и 31 суткам эксперимента) содержания ферментативно-активного церулоплазмينا в сыворотке крови гипертиреоидных животных, получавших АДС-анатоксин, может объясняться тем фактом, что у эутиреоидных крыс формирование анатоксичного иммунного ответа на дифтерийный и столбнячный анатоксин связано со значительным увеличением концентрации церулоплазмينا в сыворотке [2].

Полученные данные свидетельствуют, что введение животным тироксина приводит к

увеличению содержания гидроперекисей липидов и снижению концентрации ферментативно-активного церулоплазмينا, супероксиддисмутазной и глутатионпероксидазной активности сыворотки крови. Такие изменения прооксидантно-антиоксидантного баланса могут приводить к возникновению окислительных повреждений и, как следствие, развитию иммунопатологического состояния организма. Введение на фоне тироксина АДС-анатоксина не оказывало влияния на динамику изменений концентрации гидроперекисей липидов и активности супероксиддисмутазы. Вместе с тем, обнаруженное увеличение концентрации ферментативно-активного церулоплазмينا и, особенно, активности глутатионпероксидазы в сыворотке крови гипертиреоидных крыс на поздних сроках после введения АДС-анатоксина может свидетельствовать о повышении функции ферментативной антиоксидантной защиты в крови подопытных животных в процессе формирования иммунного ответа к дифтерийному и столбнячному анатоксинам.

## ВЫВОДЫ

1. Введение тироксина животным приводит к увеличению содержания продуктов



- ПОЛ в сыворотке крови и к снижению концентрации ферментативно-активного церулоплазмину, активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы.
2. В процессе формирования иммунного ответа к дифтерийному и столбнячному анатоксинам в составе АДС-вакцины в сыворотке крови гипертиреоидных крыс содержание ферментативноактивного це-

рулоплазмину и активность глутатионпероксидазы увеличивалось.

Представляется целесообразным дальнейшее изучение изменений ферментативной антиоксидантной системы крови в зависимости от антигенной нагрузки и состояния системы гипопаратиреоидная железа с целью разработки дополнительных тестов эффективности иммунизации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Волянський А.Ю., Никитченко Ю.В., Симиренко Л.Л. // Аналі Мечниківського інституту. - 2006. - № 3. - Web: <http://hniimi.da.ru.-Journal>.
2. Волянський А.Ю., Никитченко Ю.В., Симиренко Л.Л. и др. // Аналі Мечниківського інституту. - 2007. - № 2. - Web: <http://hniimi.da.ru.-Journal>.
3. Волянський А.Ю., Симиренко Л.Л., Кучма І.Ю. и др. // Інфекц. хвороби. - 2006. - № 4. - С. 62-65.
4. Волянський А.Ю., Симиренко Л.Л., Палій І.Г. та ін. // Biomedical and Biosocial Anthropology. - 2006. - № 7. - С. 159-164.
5. Данис Ю.К., Марчуленіта Д.Ю., Даніте Э.Ю. и др. // Пробл. эндокр. - 1990. - Т. 36 - № 5. - С.21-23.
6. Красных М.С., Бахметьев Б.А., Ширшев С.В. // Мед. иммун. - 2003. - Т. 5. - № 3-4. - С.226 - 227.
7. Ланин Д.В., Шилов Ю.И., Ширшев С.В. // Мед. иммунология. - 2002. - Т. 4. - № 2. - С. 125-126.
8. Ланкин В.З., Гуревич С.М. // Докл. АН СССР. - 1976. - Т. 226. - № 3. - С. 705-708.
9. Лемешко В.В., Никитченко Ю.В. // Биохимия. - 1982. - Т. 47. - № 5. - С. 752-759.
10. Лемешко В.В., Никитченко Ю.В., Калиман П.А. // Укр. биох. журн. - 1983. - Т. 55. - №2. - С.206-209.
11. Никитченко Ю.В., Падалко В.И., Белостоцкая Л.И. и др. // Проблемы старения и долголетия. - 2005. - Т. 14. - прил. - С. 40-41.
12. Ademoglu E., Gokkusu C., Yarmen S., et al. // Pharmacol. Res. - 1998. - Vol. 38. - № 2. - P. 93-96.
13. Arpin C., Pihlgren M., Fraichard A. et al. // J. Immunol. - 2000. - Vol. 164. - № 1. - P. 152-160.
14. Asakawa T., Matsushita S. // Lipids. - 1980. - Vol. 15. - № 3. - P. 137-140.
15. Beavchamp C., Fridovich I. // Anal. Biochem. - 1971. - Vol. 44. - № 1. - P. 276-287.
16. Mano T., Shinohara R., Sawai Y. et al. // J. Endocrinol. - 1995. - Vol.145. - P. 131-136.
17. Ravin H.A. // Lancet. - 1956. - Vol. 1. - P. 7267-7271.
18. Shinohara R., Mano T., Nagasaka A. et al. // J. Endocrinol. - 2000. Vol. 164. - № 1. - P. 97-102.

## ВПЛИВ ТИРОКСИНУ НА СТАН ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОЇ СИСТЕМИ КРОВІ ЩУРІВ ЗА УМОВ ІМУНІЗАЦІЇ АДП-АНАТОКСИНОМ

*А.Ю. Волянський, Ю.В. Никитченко, Е.В. Супрун, Л.Л. Симиренко, В.В. Мізін, І.Ю. Кучма*  
Інститут мікробіології і імунології імені І.І. Мечникова АМН України, м. Харків, Україна

### РЕЗЮМЕ

Досліджено динаміку змін вмісту гідроперекисів ліпідів, концентрації ферментативно-активного церулоплазмину та супероксиддисмутазної і глутатионпероксидазної активностей у сироватці крові 3-місячних щурів за тривалого введення тироксину та в процесі формування на цьому тлі імунної відповіді до дифтерійного та правцевого анатоксинів у складі АДС-вакцини. Виявлено, що у відповідь на введення тироксину вміст продуктів перекисного окислення ліпідів зростає, а активність антиоксидантних ферментів знижувалась. Показано, що в процесі формування імунної відповіді до дифтерійного та правцевого анатоксинів у складі АДС-вакцини у сироватці крові гіпертиреоїдних щурів вміст ферментативно-активного церулоплазмину та активність глутатионпероксидази зростали.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** прооксидантно-антиоксидантний баланс, тироксин, АДП-анатоксин, щури

## THE EFFECT OF THYROXINE ON THE STATE OF PROOXIDANT-ANTIOXIDANT SYSTEM OF RAT BLOOD UNDER ADT-ANATOXIN IMMUNIZATION

*A.Yu. Volyanskiy, Yu.V. Nikitchenko, E.V. Suprun, L.L. Simirenko, V.V. Misin, I.Yu. Kuchma*  
I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the Academy of Medical Science of Ukraine, Kharkiv

### SUMMARY

The dynamics of change of lipid hydroperoxides content, enzymatically active ceruloplasmin concentration, and superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood serum of 3-month old rats under long-term administration of thyroxine and in the process of forming of immune response to diphtheria and tetanus anatoxins of ADT-vaccine was investigated. There was revealed that in response to thyroxine administration the content of lipid peroxidation products was increased and the activity of antioxidant enzymes was decreased. The content of enzymatically active ceruloplasmin and glutathione peroxidase activity were shown to be increased in blood serum of hyperthyroid rats in the process of forming of immune response to diphtheria and tetanus anatoxins of ADT-vaccine.

**KEY WORDS:** prooxidant-antioxidant balance, thyroxine, ADT-anatoxin, rats

УДК: 616.98: 579. 841. 11.

## БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА РАЗЛИЧНЫХ ИСКУССТВЕННЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

*Н.И. Городницкая, А.В. Мартынов, Т.П. Осолодченко*

Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины г. Харьков, Украина

### РЕЗЮМЕ

В работе представлены результаты изучения биологических свойств вакцинного штамма *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16 при культивировании на различных питательных средах. В результате проведенных исследований было установлено, что морфологические, культуральные и биохимические свойства не отличались при культивировании *Pseudomonas aeruginosa* на стандартных средах и на средах, полученных путем кислотного гидролиза продуктов переработки крови.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** штамм *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16, биологические свойства, питательные среды

Синегнойная палочка является одним из главных этиологических факторов более чем 70% случаев гнойно-септических заболеваний, и борьба с этим заболеванием остается актуальной задачей современной медицины. Одной из проблем в лечении синегнойной инфекции является плазмидо-опосредованная множественная антибиотикорезистентность [1, 2].

В последние годы наблюдается быстрое развитие биотехнологии, поэтому наряду с антибиотиками широко используют в профилактике и лечении синегнойной инфекции продукты микробного происхождения – вакцины, анатоксины, бактериофаги. Важным этапом в создании технологии производства таких препаратов является подбор и оптимизация питательной среды для культивирования и наращивания биомассы продуцента. При производстве и разработке питательных сред особое внимание уделяется доступности сырья, где особое место занимают продукты службы крови (сыворотки, плазма, эритроцитарная масса, отходы гамаглобулинового производства) [3,4].

Целью нашей работы было сравнить биологические свойства вакцинного штамма *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16, который используется в производстве анатоксина синегнойной палочки, а также вакцин и диагностических препаратов, при культивиро-

вании на стандартных питательных средах и средах, полученных из промышленных отходов крови.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для культивирования нами был использован штамм *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16, который используется в разработках вакцин и анатоксинов. Штамм *Pseudomonas aeruginosa* культивировался в аэробных условиях при температуре 37 °С 18-24 часа на мясопептонном агаре с добавлением раствора 40% глюкозы. Культуру одновременно выращивали на средах Эндо, где можно было различить 5 типов колоний:

- 1) простые неправильной формы;
- 2) колонии, напоминающие колонии *E. coli* в S-форме;
- 3) складчатые (цветок маргаритки);
- 4) слизистые;
- 5) карликовые или точечные.

Также в опыт брали селективные среды 2-х типов. Первый тип – это среды с ацетамидом, где включение ацетамида как составной части такой среды обусловлено тем, что в отличие от других грамотрицательных микроорганизмов, а также от всех остальных видов *Pseudomonas*, синегнойная палочка обладает способностью использовать это соединение в качестве единственного источника азота и углерода. Второй тип – среды, в

состав которых входят химические вещества, обладающие антимикробным действием в отношении бактерий – возможных ассоциантов синегнойной палочки, а в качестве селективного агента добавляли цетилтриметиламмоний бромид (цетримид-агар). При культивировании вакцинного штамма учитывали: морфологию клеток при микроскопии (размер клеток, ширина и длина). Морфологию колоний (размер, пигментобразование, цвет, структура) определяли при культивировании на питательных средах (на кровяном агаре устанавливали наличие зон гемолиза, на средах Чистовича – реакцию лизиса). Нарастивание биомассы культуры микроорганизмов определяли по логарифмической степени роста. Концентрацию белка в экзотоксине, который является основным компонентом вакцины, определяли фотокolorиметрическим методом, предварительно проведя отмывание буферным раствором и центрифугирование биомассы культуры клеток при 3000об/мин 30' [5]. Для определения биохимических свойств использовали реакции ферментации глюкозы и цитохромоксидазы.

Сырьем для экспериментальных сред служили: эритроцитарная масса крови человека с просроченным сроком годности (10 лет хранения), отходы IV-й фракция гаммаглобулинового производства, которая состоит из смеси иммуноглобулинов и альбумина, отходы V-й фракции – чистый альбумин. Питательную среду готовили следующим образом: 100 г исходного сырья (отходы крови) растирали в ступке и заливали 12 н соляной кислотой на сутки, а затем в течение 3-х дней отмывали водой. Смесь фильтровали и стерилизовали в автоклаве 30 минут при давлении 1 кг/см<sup>2</sup>. После автоклавирования полученную смесь осветляли активированным углем, затем определяли аминный азот как критерий питательной основы, автоклавировали при 1 кг/см<sup>2</sup> в течение 30 минут, отстаивали, промывали повторно. После повторного автоклавирования проверяли концентрацию аминного азота, доводили рН до 7,2, затем добавляли

агар-агар в

концентрации 2,0% (2,0 г агара на 100 мл среды) и проводили повторную стерилизацию. Всего было приготовлено 5 серий среды на каждую основу. В качестве контроля на разных этапах исследования использовали мясопептонный бульон (МПБ), бульон Мартена, а также при культивировании питательный агар (МПА) на основе мясопептонного бульона [6]. Определяли М – среднее значение показателя аминного азота, m – стандартное отклонение. Полученные результаты обрабатывались статистически [7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате эксперимента было установлено, что оптимальным подходом к получению питательных основ из промышленных отходов крови, включающих показатели степени расщепленности сырья, накопления аминного азота, физико-химические свойства и биологические характеристики питательной среды, может служить использование кислотного гидролизата, независимо от белковой основы исходного сырья.

Одним из наиболее значимых критериев качества питательной среды является концентрация аминного азота. Соответственно, был поставлен опыт по определению количества аминного азота в питательной основе в зависимости от способов его получения из различных промышленных отходов крови.

Как видно из приведенных данных в табл. 1, полученные гидролизаты характеризуются высоким содержанием аминного азота (329,8±11,66) мг% по сравнению со стандартным мясопептонным бульоном, где концентрация азота составляет (85,7±12,2) мг%, однако достоверно ниже, чем в бульоне Мартена (490,0±27,6) мг%. Высокие значения аминного азота отмечались в средах, полученных из эритроцитарной массы и отходов IV и V фракции гаммаглобулинов, которые проводились при гидролизе уксусной и соляной кислотами (347,2±10,7) мг%.

Таблица 1

**Концентрация аминного азота в составе питательных сред, полученных из промышленных отходов службы крови (M±m)**

Вид гидролиза	Показатели аминного азота при различных типах гидролиза из отходов крови в мг%		
	Эритроцитарная масса	Отходы IV фракции	Отходы V фракции
HCl 37,0 %	332,5±10,2	333,2±9,5	326,8±12,8
Уксусная кислота 0,2 %	323,0±12,5	322,4±11,6	316,7±11,2
HCl 37,0 % + уксусная кислота 0,2%	354,5±9,8	347,4±12,3	339,8±10,1
NaOH 20,0 %	325,1±11,9	328,3±11,5	318,6±11,4
NaOH 20,0% + уксусная кислота 0,2%	320,0±17,6	331,3±10,7	329,7±11,8
Контроль:	МПБ	85,7±12,2	
	Бульон Мартена	490,0±27,6	

Примечание: n\*=6, p&lt;0,05

Из данных гидролизатов были приготовлены питательные среды для культивирования опытного штамма. Морфологические, культуральные и биохимические свойства *Pseudomonas aeruginosa* изучались на опытных средах.

Конечную концентрацию аминного азота подбирали опытным путем с учетом количество выросших колоний на средах, полученных из разного сырья и с различной концентрацией аминного азота. В эксперименте бы-

ло отмечено, что с нарастанием концентрации аминного азота от 140-180 мг% и выше, количество колоний на приготовленных средах на порядок снижается или не меняется по сравнению с культивированием на стандартных средах, что указывает на перенасыщенность среды питательной добавкой. Поэтому для опытных питательных сред концентрация аминного азота составила 100-120 мг%, что соответствует показателям стандартизированных сред (табл. 2).

Таблица 2  
Сравнительная характеристика биологических свойств штамма *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16 при культивировании на различных питательных средах (M±m)

Свойства	Среда Эндо	Среда 1 типа	Среда 2 типа	R-масса	Отходы IV-й фракции	Отходы V-й фракции	Контроль МПА
Размер колоний	0,2±0,05 мм	0,2±0,05 мм	0,2±0,05 мм	0,2±0,05 мм	0,2±0,05 мм	0,2±0,05 мм	0,2±0,05 мм
Морфология колоний	Металлические, фиолетово-красные колонии, слизистые колонии, напоминающие <i>E. coli</i> в S-форме	Сине-зеленые колонии, слизистые колонии	Сине-зеленые колонии, слизистые колонии	Зеленоватые слизистые колонии	Зеленоватые слизистые колонии	Зеленоватые слизистые колонии	Зеленоватые слизистые колонии
Морфология клеток	Гр-палочка, 1,5-3,0* 0,4-0,6 мкм, (одиночно, парами, короткие цепочки)	Гр-палочка, 1,5-3,0* 0,4-0,6 мкм, (одиночно, парами, короткие цепочки)	Гр-палочка, 1,5-3,0* 0,4-0,6 мкм, (одиночно, парами, короткие цепочки)	Гр-палочка, 1,5-3,0* 0,4-0,6 мкм, (одиночно, парами, короткие цепочки)	Гр-палочка, 1,5-3,0* 0,4-0,6 мкм, (одиночно, парами, короткие цепочки)	Гр-палочка, 1,5-3,0* 0,4-0,6 мкм, (одиночно, парами, короткие цепочки)	Гр-палочка, 1,5-3,0* 0,4-0,6 мкм, (одиночно, парами, короткие цепочки)
Лецитиназа	+	+	+	+	+	+	+
Ферментация глюкозы	+	+	+	+	+	+	+
Цитохром-оксидаза	+	+	+	+	+	+	+
*Количество микроорганизмов при засеве 10 <sup>4</sup> кол/мл	5,5±0,5	5,5±0,5	5,5±0,5	5,5±0,5	5,5±0,5	5,5±0,5	5,5±0,5
Количество белка в экзотоксине мг/мл	2,2±0,5	2,4±0,4	2,3±0,4	2,1±0,3	2,0±0,2	2,0±0,3	2,4±0,5

\* Учет обсемененности по степени логарифмирования. Результат через 24 часа.

Биологические свойства штамма *Pseudomonas aeruginosa* 66-16 при культивировании на различных питательных средах и морфология колоний (размеры, пигмента-

ция) была однотипной. В зависимости от типа среды наблюдалось изменение цвета среды и колоний от зеленого до зеленовато-синего. Исследования биохимических свойств,

таких как ферментация глюкозы, лецитиназная реакция, наличие зон гемолиза и тест на цитохромоксидазу показали, что штамм *Pseudomonas aeruginosa* 66-16 сохраняет эти свойства при росте на средах из промышленных отходов крови, а микроскопия нативных мазков свидетельствовала о наличии грамотрицательных, небольших по размеру полиморфных палочек, у которых не наблюдалось каких-нибудь отличий. Культивирование *Pseudomonas aeruginosa* на различных промышленных стандартных средах, а также опытных средах, показало отсутствие достоверных различий между этими двумя группами. Критерием ростовых качеств питательных сред является увеличение микробной биомассы при культивировании. Исследование по учету количества выросших колоний указывает на увеличение биомассы микроорганизмов при культивировании на экспериментальных средах, полученных из эритроцитарной массы. Степень роста *Pseudomonas aeruginosa* на средах из отходов гаммаглобулинового производства была ниже, чем на контрольных. Это свидетельствует о целесообразности использования данных сред в промышленной микробиологии. Учет концентрации белка вакцинного штамма *Pseudomonas aeruginosa* №66-16 показал, что его концентрация в экзотоксине синегнойной палочки достоверно не

изменяется при культивировании на различных экспериментальных питательных средах.

## ВЫВОДЫ

1. Разработана методика получения питательной основы путем кислотного гидролиза продуктов переработки крови.
2. На полученных экспериментальных средах проведено сравнительное изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств штамма *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16, где показано что свойства штамма не отличались.
3. Концентрация белка в экзотоксине, полученного из штамма *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16, который является основным компонентом вакцины, не отличается при культивировании на различных питательных средах.

Перспективы дальнейшего исследования в этом направлении. Дальнейшее изучение морфологических, культуральных и биохимических свойств штамма *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16 на новых питательных средах, полученных путем гидролиза продуктов переработки крови, позволит применять данные среды для культивирования штамма *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16 при создании вакцинных препаратов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Порт С.В. Адгезивні та колонізаційні властивості клінічно значущих штаммів *Pseudomonas aeruginosa*.// Автореф. дис. ...канд. мед. н. Харків. - 2006. - С. 24.
2. Григоров Ю.Б., Тарабан И.А., Порт Е.В. // Харківська хірургічна школа. - 2004. - № 4 (13). - С. 70-73.
3. Городницька Н. І., Ясна Н.С., Мартинов А.В., и др. // Аналі Мечниківського інституту. - 2006. - № 3. - С. 56-60. ([www.imiampn.org/journ](http://www.imiampn.org/journ)).
4. Пиотрович В.А. Разработка питательных сред для культивирования клеток. Автореф. дис. ... канд. мед. н. Київ. - 2002. - С. 18.
5. Межидов М.М. Справочник по микробиологическим питательным средам. -М.:Медицина. - 2003. - 306 с.
6. Ніколаєнко В.М., Осолодченко Т.П., Чупрінова С.І., та ін. // Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. Серія «Медицина». - Харків. - 2006. - № 738. - вип.13. -С. 40-43.
7. Дрегваль О.А., Черватюк И.В., Черевач Н.В. // Мікробіологічний журнал. - 2003. - Т. 65. - № 3. - С. 14-20.

## БІОЛОГІЧНИ ВЛАСТИВОСТІ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА РІЗНИХ ШТУЧНИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

*Н.І. Городницька, А.В. Мартинов, Т.П. Осолодченко*

Інститут мікробіології і імунології імені І.І. Мечникова АМН України, м. Харків, Україна

## РЕЗЮМЕ

В роботі представлені результати вивчення біологічних властивостей вакцинного штаму *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16 при культивуванні на різних живильних середовищах. В результаті проведених досліджень було встановлено, що морфологічні, культуральні та біохімічні властивості не відрізнялись при культивуванні *Pseudomonas aeruginosa* на стандартних середовищах та на середовищах, отриманих шляхом кислотного гідролізу продуктів переробки крові.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** штам *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16, біологічні властивості, живильні середовища

## **BIOLOGICAL PROPERTIES OF *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* GROWN IN DIFFERENT ARTIFICIAL NUTRITIONAL MEDIA**

*N.I. Gorodnytska, A.V. Martynov, T.P. Osolodchenko*

I.I. Mechnykov Institute of Microbiology and Immunology of the Academy of Medical Science of Ukraine, Kharkiv

### **SUMMARY**

In this article the results of study of biological properties of *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16 vaccine strains, that was cultivated in different artificial nutritional media were presented. It was shown, that mediums from industrial waste don't differ from standart ones by *Pseudomonas aeruginosa* strains properties, that cultivated on.

**KEY WORDS:** *Pseudomonas aeruginosa* № 66-16, biological properties, nutritional media

УДК: 615.015:547.581.2

## **НЕЙРОЛЕПТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ НАТРИЕВОЙ СОЛИ 5-N, N-ДИЭТИЛСУЛЬФАМОИЛ-3-МЕТОКСИФЕНИЛАНТРАНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ**

*Л.В. Григорьева*

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

### **РЕЗЮМЕ**

Изучено нейролептическое действие и острая токсичность натриевой соли 5-N, N-диэтилсульфамойл-3-метоксифенилантраниловой кислоты (условное название метсульфенилат) в опытах на крысах линии Вистар и белых беспородных мышах. Установлено, что метсульфенилат влияет на спонтанную, вертикальную и горизонтальную двигательную активность, ориентировочную реакцию, оказывает миорелаксирующее действие, нарушает координацию движений, потенцирует действие наркотических веществ, уменьшает фенаминовую стереотипию, проявляет каталептогенное действие, вызывает увеличение латентного периода наступления условного оборонительного рефлекса избегания, а также повышает порог эмоциональных реакций у лабораторных животных. Острая токсичность метсульфенилата оказалась в 2,3 раза меньше, чем у аминазина.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** метсульфенилат, спонтанная, вертикальная и горизонтальная двигательная активность, ориентировочная реакция, координация движений, фенаминовая стереотипия, миорелаксирующее и каталептогенное действие, условные рефлексы, эмоциональные реакции, аминазин, барбитал-натрий, этаминал-натрий, гексобарбитал, тиопентал-натрий, хлоралгидрат

Синтезированные и внедренные в практику первые психофармакотерапевтические средства – нейролептики до настоящего времени занимают центральное место в современном лечении многих психических заболеваний и в том числе – шизофрении. По данным ВОЗ, шизофрения занимает девятое место по частоте среди причин инвалидности и является одним из самых «дорогих» психических заболеваний, поскольку обычно поражает больных в молодом возрасте, на пике их продуктивной деятельности [9, 12].

Опыт применения классических (типичных) нейролептических препаратов с момента использования хлорпромазина в психиатрической практике насчитывает более чем полувековой период. Нейролептические средства оказывают многогранное действие на организм и в первую очередь – своеобразное

успокаивающее действие, сопровождающееся уменьшением реакций на внешние стимулы, ослаблением психомоторного возбуждения и аффективной напряженности, подавлением чувства страха, ослаблением агрессивности. Другим, не менее важным, эффектом нейролептиков является наличие у них антипсихотической активности, то есть способности подавлять бред, галлюцинации, автоматизм и другие психопатологические синдромы [8, 1].

Указанные основные свойства типичных нейролептических препаратов по современным представлениям обусловлены их общими нейрохимическими механизмами действия, заключающимися в способности избирательно блокировать дофаминовые D<sub>2</sub>-рецепторы различных отделов головного мозга [6].

Помимо рассмотренных основных клинических свойств типичные нейролептики в той или иной мере оказывают вегетотропное, гипотермическое, противошоковое, антигистаминное, противорвотное действие, а также обладают способностью потенцировать действие снотворных, наркотиков, анальгетиков, местных анестетиков и ослаблять эффекты психостимулирующих препаратов. Фармакологический спектр классических нейролептиков включает такие свойства, как угнетающее влияние на поведение и условные рефлексы, антагонизм по отношению к эффектам фенамина и апоморфина, способность вызывать каталепсию и ряд других эффектов [8, 12].

Перечисленные варианты активности большинства классических нейролептических препаратов с учетом уже рассмотренных механизмов связан также с их избирательным угнетением хеморецепторных пусковых («триггерных») зон продолговатого мозга, центральной и периферической антиадренергической активностью, а также проявлением противогистаминного и холинолитического действия [8].

Однако, несмотря на продолжительное и достаточно успешное применение традиционных (классических) нейролептиков, обусловленное как показано в том числе широким спектром их действия, данная группа препаратов имеет целый ряд ограничений при использовании, и в первую очередь в связи с частотой и выраженностью побочных эффектов [1, 8].

К нежелательным реакциям, вследствие особенностей психотропного действия указанных нейролептиков относятся – развитие вялости, сонливости, подавленности, плохого настроения, повышение судорожной готовности [1, 8, 13]. Наиболее часто, особенно в пожилом возрасте, развиваются экстрапирамидные расстройства: пароксизмальные дискинезии, акатизия, паркинсонизм, поздние дискинезии. Потенциально опасным является злокачественный нейролептический синдром. Среди эндокринных нарушений следует отметить: ожирение, гипергликемию, нарушение менструального цикла, нарушение потенции, гинекомастию, угнетение иммунных процессов. Влияние типичных нейролептиков на вегетативную функцию обусловлено возникновением нарушений сердечного ритма, артериальной гипотензии и ортостатического коллапса. Холинолитические побочные эффекты проявляются сухостью во рту, запорами, задержкой мочеиспускания, нарушением аккомодации. Несколько реже наблюдаются аллергические реакции, холестатическая желтуха, лейкопе-

ния [8, 9].

В настоящее время выяснено, что развитие превалирующих экстрапирамидных побочных расстройств обусловлено высоким аффинитетом типичных нейролептиков к D<sub>2</sub>-дофаминовым рецепторам nigrostriальной системы головного мозга [6, 12].

Попытки избежать появления нежелательных побочных эффектов путем использования недостаточно высоких доз препаратов ведут к развитию терапевтической резистентности. Снижает ценность классических нейролептиков при лечении психотических состояний их в том числе малая эффективность в отношении дефицитарных расстройств, возможность развития вторичной фармакогенной негативной симптоматики, что затрудняет реабилитацию пациентов после перенесенного обострения заболевания [2, 7].

Несомненным достижением психофармакологии последнего десятилетия стало появление нового, более эффективного поколения нейролептических (антипсихотических) препаратов, получивших название «атипичные» нейролептики, а также дальнейшее развитие нейрхимического и молекулярного направлений исследований, определивших существенный прогресс в понимании тонких механизмов действия нейролептиков [10].

Среди представителей этой группы психофармакологических средств можно выделить следующие препараты: рисперидон, раклоприд, ремоксиприд, оланзапин, кветиапин и другие. Атипичные нейролептики, обладая мощным антипсихотическим эффектом, в отличие от классических нейролептических средств значительно реже вызывают экстрапирамидные расстройства, оказывают воздействие как на позитивные, так и негативные симптомы при хронических психозах, эффективны при резистентных к традиционным нейролептикам состояниям [2, 7].

Фармакологический профиль атипичных нейролептиков в связи с особенностями их влияния на нейромедиаторные системы мозга также отличается от классических нейролептиков и характеризуется избирательностью действия по отношению к мезалимбической и межкортикальной дофаминергическим системам мозга. [17, 18].

С учетом современных научных данных характерными нейрхимическими свойствами нейролептиков нового поколения (атипичных) является их способность блокировать одновременно D<sub>2</sub>-дофаминовые и 5-HT<sub>2A</sub>-серотониновые рецепторы [4, 16]. При этом установлено, что сбалансированный центральный антагонизм атипичных нейролептиков к серотонину и дофамину снижает

выраженность экстрапирамидных побочных реакций и расширяет терапевтические возможности препаратов [4, 7].

При несомненном превосходстве новых нейролептических средств по многим параметрам терапевтической эффективности, наличию более благоприятного профиля переносимости, накопленные к настоящему времени клинические данные свидетельствуют о проявлении при длительном использовании указанных препаратов следующих достаточно серьезных осложнений: нарушение сердечного ритма, ортостатическая гипотензия, сонливость, утомляемость, нарушение концентрации внимания, аменорея, гинекомастия, приапизм, недержание мочи, увеличение массы тела, формирование хронической гипергликемии и опасность манифестации сахарного диабета [3, 15, 16].

Следовательно, на сегодняшний день по-прежнему до конца нерешенной, а потому – актуальной проблемой современной психофармакологии является поиск новых соединений среди различных классов химических веществ, обладающих высокой нейролептической активностью и не имеющих нежелательных побочных реакций.

На основании проведенного фармакологического скрининга нейротропной активности 5-сульфамойлзамещенных орто-галогенбензойной кислот для дальнейшего изучения специфической активности было отобрано наиболее активное соединение – натриевая соль 5-N, N-диэтилсульфамойл-3-метоксифенилантраниловой кислоты (условное название метсульфенилат).

Целью исследования явилось изучение спектра нейролептической активности натриевой соли 5-N, N-диэтилсульфамойл-3-метоксифенилантраниловой кислоты (метсульфенилата), синтезированного на кафедре аналитической химии Национального фармацевтического университета.

Работа выполнена в рамках научной программы научно-исследовательских работ Национального фармацевтического университета по проблеме «Создание новых лекарственных препаратов» (№ государственной регистрации 0198U007008).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Изучение механизма нейролептического действия отобранной субстанции – натриевой соли 5-N, N-диэтилсульфамойл-3-метоксифенилантраниловой кислоты (метсульфенилат) проведено в соответствии с методическими рекомендациями фармакологического комитета МЗ Украины. Спонтанную двигательную активность оценивали в актометре через 30, 60, 120 и 240 минут после

внутрижелудочного введения метсульфенилата, который растворяли в дистиллированной воде с добавлением твин-80. Опыты выполнены на беспородных белых мышах обоего пола массой 17-22 г [14].

Для оценки ориентировочной реакции, вертикальной и горизонтальной двигательной активности использовали методику открытого поля. Опыты поведены на беспородных мышах обоего пола массой 17-24 г. Ориентировочную реакцию оценивали по числу заглядываний мышей в норку, которые регистрировали в течение 5 минут через 30, 60 и 240 минут после внутрибрюшинного введения метсульфенилата. Вертикальную двигательную активность оценивали по количеству вставаний мышей за 5 минут, а горизонтальную двигательную активность оценивали по количеству перемещений за 5 минут через 30, 60, 120 и 240 минут после введения метсульфенилата [5].

Влияние метсульфенилата на длительность сна вызванного действием таких наркотических веществ как этаминал натрий (30 мг/кг), гексобарбитал (40 мг/кг), хлоралгидрат (165 мг/кг), барбитал-натрий (250 мг/кг), тиопентал-натрий (15 мг/кг) исследовали в опытах на крысах линии Вистар массой 170-210 г. Определяли процент уснувших крыс и длительность сохранения бокового положения (в минутах) после внутрибрюшинного введения исследуемых веществ.

Действие метсульфенилата на физическую работоспособность и двигательную активность в неадекватной ситуации исследовали на беспородных мышах массой 18-21 г с помощью теста принудительного плавания. Плавательный бассейн имел следующие размеры: длина 50 см, ширина 30 см, высота 25 см, глубина резервуара 18 см. Температура воды в бассейне поддерживалась, на постоянном уровне в пределах 20°C. Метсульфенилат вводили мышам внутрибрюшинно, а спустя 30 минут помещали их в плавательный бассейн. Мышь считали обессиленной при погружении под воду более чем на 7 секунд. Регистрировали время плавания мышей в бассейне [14].

Тест гиперактивности (фенаминовая стереотипия), вызванной фенамином проводили на белых крысах-самцах массой 160-180 г. Контрольным животным вводили дистиллированную воду. Животным опытных групп внутрибрюшинно вводили метсульфенилат в дозе 6,2 мг/кг, а спустя 30 минут под кожу вводили фенамин в дозе 10 мг/кг. Через 15 минут крыс помещали в камеру многоканального регистратора двигательной активности. Регистрацию проводили в течение 10



минут с интервалами в 30 минут на протяжении 2 часов [11].

Изучение каталептогенного действия метсульфенилата проведено на беспородных белых мышах обоего пола массой 17-21 г и белых крысах линии Вистар массой 180-220 г. Метсульфенилат вводили внутривентриально в дозе 6,2 мг/кг. В опытах на крысах каталепсию определяли по позе «мостик», а в опытах на мышах – по позе «стойка» Критерием наличия каталепсии считали сохранение данной позы не менее 2 минут. Наличие каталепсии исследовали через 1, 2 и 3 часа после введения метсульфенилата [14].

При оценке миорелаксирующего действия метсульфенилата и влияния его на координацию движений мышей помещали на цилиндрический барабан, скорость вращения 6 об/мин, экспозиция 2 минуты. Миорелаксирующее действие исследовали через 30, 60, 120 и 240 минут после внутрижелудочного введения метсульфенилата. Опыты проведены на белых мышах обоего пола массой 17-22 г. Миорелаксирующее действие определяли, по способности мышей держаться, на сетчатой поверхности вращающегося цилиндрического барабана [14].

Влияние метсульфенилата на элементарные условные рефлексы изучали на белых крысах-самках массой 200-230 г. Метсульфенилат вводили внутривентриально, контрольным крысам вводили соответствующий объем дистиллированной воды в течение 4 дней за 30 минут до помещения животных в установку. В первый день опыта все крысы, заходившие в темную камеру, получали стимулы электрическим током. В последующие дни регистрировали только среднее время пребывания животных в затемненной камере [5].

Для воспроизведения условно-оборонительного рефлекса была использована методика «вертикального стержня». Опыты были проведены на белых крысах линии Вистар массой 210-230 г. Метсульфенилат вводили внутривентриально. Сущность метода заключается в том, что крысы, стремясь избежать болевого раздражения от электрического тока, взбираются на вертикальный стержень. Условным сигналом является звук, а через 5 секунд к нему присоединяется электрическое раздражение пола, которое длится 5 секунд. Крысы быстро усваивали безусловную реакцию бегства, а затем у них вырабатывался условно-оборонительный рефлекс, получивший название «условного оборонительного избегания». Для проведения исследований были отобраны крысы с прочным коротколатентным условным рефлексом.

Изучение влияния метсульфенилата на

порог эмоциональных реакций проведено на белых крысах линии Вистар массой 125-150 г по методике измерения порогов эмоционального реагирования при электроболовом раздражении. Для раздражения животных использовали малый электрический ток (прямоугольные стимулы 0,5 м/с, 20 Гц, 60В). Исследуемые препараты вводили внутривентриально за 30 минут до электрической стимуляции [14]. В качестве препарата сравнения был взят аминазин.

Оценку острой токсичности метсульфенилата проводили на мышах, гибель которых регистрировали через каждые 24 часа. Наблюдение за животными проводили в течение 14 дней. ЛД<sub>50</sub> рассчитывали по методу Кёрбера [14] Метсульфенилат вводили в дозе 0,02 ЛД<sub>50</sub>.

Статистическую обработку полученных результатов проводили методом вариационных рядов. Определяли среднее значение (M) и ошибку среднего (m), достоверность оценивали по критерию Стьюдента-Фишера ( $p < 0,05$ ).

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Проведенные исследования влияния метсульфенилата на спонтанную, ориентировочную, вертикальную и горизонтальную двигательную активность (табл. 1) показывают, что метсульфенилат через 30 минут после внутрижелудочного введения в дозе 6,2 мг/кг вызывает достоверное уменьшение спонтанной двигательной активности у мышей в среднем на 35,2% ( $p < 0,05$ ). Через 60 минут спонтанная двигательная активность уменьшилась на 43,8%, через 120 минут – на 37,7% ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой. Спустя 240 минут наблюдалось постепенное восстановление спонтанной двигательной активности у мышей до исходных величин.

Аминазин через 30 минут вызывает уменьшение спонтанной двигательной активности на 28,3% ( $p < 0,05$ ), спустя 60 минут – на 36,8% ( $p < 0,05$ ), а через 120 минут – на 22,4% ( $p < 0,05$ ) однако по действию уступает метсульфенилату.

Нейролептические свойства метсульфенилата нашли подтверждение и в опытах с изучением его влияния на ориентировочные реакции мышей (табл. 1). Так, спустя 30 минут после введения метсульфенилата число заглядываний в норку уменьшилось на 27,6% ( $p < 0,05$ ). Наиболее выраженное угнетение ориентировочной реакции наблюдали через 60 минут после введения метсульфенилата, при этом количество заглядываний мышей в норку снизилось на 52,6% ( $p < 0,05$ ). Через 120 и 240 минут наблюдали восста-

новление ориентировочной реакции.

Метсульфенилат вызывает уменьшение вертикальной двигательной активности у животных (табл. 1). Так, спустя 30 минут после его введения, количество вставаний мышей за 5 минут уменьшилось на 44,1% ( $p < 0,05$ ), через 60 минут – на 35,3% ( $p < 0,05$ ). Через 120 и 240 минут вертикальная двигательная активность постепенно восстанавливалась до исходных величин.

Результаты влияния метсульфенилата на горизонтальную двигательную активность (табл. 1) показали, что метсульфенилат вызывает уменьшение количества перемещений мышей за 5 минут. Так, через 30 минут после введения метсульфенилата число горизонтальных перемещений уменьшилось на 27,6% ( $p < 0,05$ ). Максимальный эффект

наблюдали через 60 минут, когда горизонтальная двигательная активность мышей уменьшилась на 38,9% ( $p < 0,05$ ). Аминазин через 30 минут у мышей вызывает уменьшение горизонтальной двигательной активности на 20,3% ( $p < 0,05$ ), спустя 60 минут – на 27,8% ( $p < 0,05$ ), а через 120 минут – на 24,2% ( $p < 0,05$ ), однако по активности уступает метсульфенилату.

В тесте влияния метсульфенилата на работоспособность мышей при принудительном плавании в бассейне (табл. 2) установлено, что метсульфенилат оказывает седативное действие, вызывает уменьшение продолжительности плавания мышей на 54,4% ( $p < 0,05$ ) и по нейролептической активности превосходит аминазин на 20,3% ( $p < 0,05$ ).

Таблица 1

**Влияние метсульфенилата на спонтанную, ориентировочную, вертикальную и горизонтальную двигательную активность белых мышей**

Препараты, доза, мг/кг	Время, мин	Спонтанная двигательная активность		Ориентировочная двигательная активность		Вертикальная двигательная активность		Горизонтальная двигательная активность	
		М±m, мин	В % к контролю	М±m, Мин	В % к контролю	М±m, мин	В % к контролю	М±m, мин	В % к контролю
Контроль	30	176,2±6,3	100	15,2±1,3	100	18,6±1,7	100	77,9±2,1	100
Метсульфенилат 6,2	30	114,1±3,9*	64,8	9,3±0,8*	61,2	12,4±1,9*	66,7	56,4±1,7*	72,4
Аминазин 5,0	30	126,3±2,4*	71,7	10,4±0,6*	68,4	13,5±1,7*	72,6	62,1±2,4*	79,7
Контроль	60	180,4±4,9	100	15,2±1,3	100	16,7±1,5	100	75,9±2,4	100
Метсульфенилат 6,2	60	101,4±5,1*	56,2	7,2±0,8*	47,4	9,8±1,3*	58,7	46,4±1,8*	61,1
Аминазин 5,0	60	120,1±4,6*	66,6	9,6±0,6*	63,2	11,9±1,8*	71,3	54,8±2,3*	72,2
Контроль	120	174,6±4,5	100	16,5±1,3	100	15,8±1,9	100	74,8±2,5	100
Метсульфенилат 6,2	120	108,7±5,1*	62,3	10,9±1,3*	66,1	11,7±1,7*	74,0	51,2±2,6*	68,5
Аминазин 5,0	120	129,9±6,2*	74,4	12,8±1,6*	77,6	12,7±1,9*	80,4	56,7±3,1*	75,8
Контроль	240	180,5±5,2	100	15,2±1,1	100	14,8±1,9	100	72,4±1,9	100
Метсульфенилат 6,2	240	135,9±6,3*	75,3	12,3±1,3*	80,9	12,4±1,6*	83,9	62,9±3,1*	86,8
Аминазин 5,0	240	154,3±4,8*	85,5	13,1±1,6*	86,2	12,9±1,7*	87,2	64,3±2,8*	88,8

\* - достоверность разницы с контролем ( $p < 0,05$ ).

Таблица 2

**Влияние метсульфенилата на работоспособность белых мышей**

Доза, мг/кг	Длительность плавания в минутах			
	М±m, мин	Т	р	В % к контролю
Контроль	41,4±3,9	-	-	100
Метсульфенилат 6,2	18,9±3,3	2,38	0,02	45,6
Аминазин 5,0	27,3±2,4	2,46	0,04	65,9

Таким образом, в тесте принудительного плавания метсульфенилат вызывает достоверное укорочивание времени плавания у мышей.

Потенцирование действия наркотических веществ свойственно многим нейролептикам. В исследованной дозе 6,2 мг/кг метсульфенилат увеличивал продолжительность действия наркотических веществ (табл. 3).

Так, метсульфенилат в дозе 6,2 мг/кг уве-

личивает продолжительность этаминал-натриевого сна на 117% ( $p < 0,05$ ) гексобарбиталового – соответственно на 52,2% ( $p < 0,05$ ), хлоралгидратного – на 50,9% ( $p < 0,05$ ), барбитал-натриевого – на 63,1% ( $p < 0,05$ ), тиопентал-натриевого – на 131,3% ( $p < 0,05$ ).

Из сопоставительного анализа экспериментальных данных следует, что метсульфенилат оказывает достоверное потенцирующее действие наркотического эффекта тиопентал-натрия и этаминал-натрия.

Для суждения о продолжительности взаимодействия метсульфенилата с тиопентал-натрием, его вводили через 15-30-60 и 120 минут после введения метсульфенилата (табл. 4).

Таблица 3

## Влияние метсульфенилата на продолжительность действия наркотических веществ

Препараты, доза	Серия опытов	Средняя продолжительность наркоза, минут	
		М±m, мин	В % к контролю
Этаминал-натрий (30 мг/кг)	Контроль	92,4±4,9	100
Метсульфенилат (6,2 мг/кг) + этаминал-натрий (30 мг/кг)	Опыт	200,6±4,9*	217,0
Гексобарбитал (40 мг/кг)	Контроль	48,3±2,1	100
Метсульфенилат (6,2 мг/кг) + гексобарбитал (40 мг/кг)	Опыт	73,5±1,7*	152,2
Хлоралгидрат (165 мг/кг)	Контроль	56,0±1,7	100
Метсульфенилат (6,2 мг/кг) + хлоралгидрат (165 мг/кг)	Опыт	84,5±2,4*	150,9
Барбитал-натрий (250 мг/кг)	Контроль	60,4±2,9	100
Метсульфенилат (6,2 мг/кг) + барбитал-натрий (250 мг/кг)	Опыт	98,5±4,8*	163,1
Тиопентал натрий (15 мг/кг)	Контроль	5,1±0,9	100
Метсульфенилат (6,2 мг/кг) + тиопентал-натрий (15 мг/кг)	Опыт	11,8±0,4*	231,3

\* - достоверность разницы с контролем (p<0,05)

Таблица 4

## Влияние метсульфенилата в дозе 6,2 мг/кг на наркотический эффект тиопентал-натрия

Интервал времени между введением препаратов, минуты	Продолжительность наркоза (минуты)		
	М±m, мин	p	В % к контролю
Контроль	5,0±0,3	-	100
15	8,9±0,4	0,05	178,0
30	11,8±0,9	0,001	236,0
60	10,2±0,8	0,005	204,0
120	9,4±1,1	0,05	188,0
180	7,0±0,6	0,05	140,0

Установлено, что метсульфенилат оказывает максимальный потенцирующий эффект (136%) наркотического действия тиопентал-натрия, когда интервал времени между введениями составляет 30 минут. При увеличении интервала между введениями до 60-120-180 минут потенцирующий эффект снижался

от 136% до 40% (p<0,05).

В тесте фенаминовой стереотипии предварительное введение метсульфенилата в дозе 6,2 мг/кг привело к достоверному уменьшению (на 42,7%) числа стереотипных движений (табл. 5).

Таблица 5

## Влияние метсульфенилата (6,2 мг/кг) и аминазина (5 мг/кг) на двигательную активность после введения фенамина (10 мг/кг) у крыс-самцов

Препараты	Исходная	Двигательная активность после введения фенамина через			
		30 мин	60 мин	90 мин	120 мин
		М±m, мин	М±m, мин	М±m, мин	М±m, мин
Контроль	140,8±12,3	141,5±12,	138,5±12,	140,0±12,	137,5±14,2
Фенамин	195,5±11,3*	294,4±13,6*	328,5±14,7*	286,0±11,6*	246,5±11,7*
Метсульфенилат	114,6±10,3*	168,7±12,5*	150,8±16,4*	180,0±15,8*	197,5±15,3*
Аминазин	128,5±13,3	194,8±12,9	182,5±17,2	190,0±19,2	217,5±16,4

\* - достоверность разницы с контролем (p<0,05).

В соответствии с результатами экспериментальных данных метсульфенилат спустя 30 минут достоверно предупреждал развитие фенаминовой активности на 42,7% (p<0,05), а препарат сравнения аминазин – на 33,9% (p<0,05). Через 60 минут нейролептический эффект метсульфенилата был максимальным и составил 54,1% (p<0,01) и по активности превышал действие аминазина. Таким образом, в опытах на крысах метсульфенилат вызывает снижение психостимулирующего действия фенамина.

Одним из характерных проявлений действия нейролептиков является способность вызывать катаlepsию. Представленные результаты исследований (табл. 6) показали, что метсульфенилата проявляет каталептогенное действие.

Метсульфенилат в дозе 6,2 мг/кг вызывает развитие катаlepsии через 30-40 минут после введения дальнейшие результаты регистрировались через равные промежутки времени в течение 3 часов. Спустя 1 час метсульфенилат по отношению к контролю

вызывает увеличение продолжительности сохранения позы «стойка» на 32,1%, а аминазин – на 25%. Сохранение позы «мостик» по сравнению с контролем увеличилось на 13,7%, а под действием аминазина на 10,3% использованием методики «вращающегося цилиндрического барабана», которая позволяет объективно оценить мышечную релаксацию, нарушение равновесия и координа-

Таким образом, метсульфенилат вызывает каталепсию, и по активности сопоставим с аминазином.

Для количественной оценки нейролептического действия были проведены опыты с цию движений. Результаты полученных экспериментальных данных представлены в табл. 7.

Таблица 6

## Каталептогенное действие метсульфенилата

Препараты доза мг/кг	Сохранение позы «стойка» (в минутах)					
	Через 1 час		Через 2 часа		Через 3 часа	
	M±m, мин	В % к контролю	M±m, мин	В % к контролю	M±m, мин	В % к контролю
Контроль	2,8±0,4	100	2,3±0,1	100	1,9±0,1	100
Метсульфенилат 6,2	3,7±0,3*	132,1	2,9±0,3*	126,0	2,3±0,1*	121,0
Аминазин 5,0	3,6±0,2*	128,6	2,8±0,2*	121,7	2,2±0,2*	115,8
Сохранение позы «мостик» (в минутах)						
Контроль	2,9±0,1	100	2,4±0,1	100	2,3±0,1	100
Метсульфенилат 6,2	3,3±0,1*	113,7	2,8±0,1*	116,6	2,6±0,1*	113,1
Аминазин 5,0	3,2±0,1*	110,3	2,7±0,1*	112,5	2,5±0,1	108,7

\* - достоверность разницы с контролем (p<0,05).

Таблица 7

## Влияние метсульфенилата (6,2 мг/кг) и аминазина (5 мг/кг) на центральную релаксацию у белых мышей по методу «вращающегося цилиндрического барабана»

Препараты	Доза, мг/кг	Время нахождения на барабане (M±m, сек)	В % к контролю
Контроль	-	13,4±0,12	100
Метсульфенилат	6,2	4,7±0,13*	35,1
Аминазин	5,0	7,5±0,16*	55,9

\* - достоверность разницы с контролем (p<0,05).

Анализ полученных экспериментальных данных показывает, что метсульфенилат оказывает центральное релаксирующее действие, причем в дозе 6,2 мг/кг метсульфенилат вызывает уменьшение времени нахождения на вращающемся цилиндрическом барабане на 64,9% (p<0,05), а эталонный препарат сравнения аминазин – на

44,1% (p<0,05).

Таким образом, метсульфенилат по релаксирующему действию достоверно превосходит активность аминазина на 20,8%.

Исследование влияния метсульфенилата на выработку элементарных условных рефлексов выполнено на белых крысах-самцах линии Вистар (табл. 8).

Таблица 8

## Влияние метсульфенилата на выработку элементарных условных рефлексов

Препараты	Доза мг/кг	Сроки и средняя продолжительность пребывания в затемненной камере M±m, мин			
		1 день	2 день	3 день	4 день
Контроль	-	10,7±1,9	10,9±1,1	12,0±2,1	13,0±2,1
Метсульфенилат	6,2	14,91±1,2*	15,63±1,4*	16,74±1,5*	17,62±1,3*
Аминазин	5,0	12,70±1,6*	13,41±1,7*	14,22±1,9*	15,24±1,5*

\* - достоверность разницы с контролем (p<0,05).

Установлено, что в первый день метсульфенилат достоверно способствует увеличению продолжительности времени пребывания крыс в затемненной камере на 39,3% (p<0,05). На 2-й день средняя продолжительность пребывания крыс в затемненной камере увеличилась на 43,3% (p<0,05), на 3-й день – на 39,5% (p<0,05) и на 4-й день – на

35,5% (p<0,05). Препарат сравнения аминазин вызывает увеличение времени пребывания в затемненной камере в первый день на 18,7% (p<0,05), на 2-й день – на 23% (p<0,05), на 3-й день – на 18,5% (p<0,05) и на 4-й день – на 17,2% (p<0,05) по сравнению с контрольной группой.

Таблица 9

## Влияние метсульфенилата (6,2 мг/кг) и аминазина (5 мг/кг) на выработку условно-оборонительного рефлекса у белых крыс

Препараты	Доза, мг/кг	Время наступления условно-оборонительного рефлекса, M±m, сек	В % к контролю	Время, пребывания на вертикальном стержне, M±m, сек	В % к Контролю
-----------	-------------	--	----------------	---	----------------

Контроль	-	6,6±0,09	100	9,6±0,9	100
Метсульфенилат	6,2	10,9±0,4*	165,2	5,5±0,4*	57,3
Аминазин	5,0	8,1±0,4*	122,7	6,7±0,5*	69,8

\*- достоверность разницы с контролем (p<0,05).

Таким образом, по сравнению с аминазином метсульфенилат оказался более активным в отношении выработки элементарных условных рефлексов.

С целью дальнейшего изучения нейролептической активности метсульфенилата были проведены эксперименты по выработке условно-оборонительного рефлекса у крыс. Установлено, что метсульфенилат в дозе 6,2 мг/кг (табл. 9) вызывает увеличение латентного периода наступления условного оборонительного рефлекса избегания среднем на 65,2% (p<0,05). Препарат сравнения аминазин в дозе 5 мг/кг вызывал увеличение времени наступления условного рефлекса в среднем на 22,7% (p<0,05).

Метсульфенилат в изучаемых дозах уменьшает время пребывания животных на вертикальном стержне в среднем на 42,7%

(p<0,05), а аминазин уменьшает время – на 30,2% (p<0,05).

Таким образом, метсульфенилат вызывает увеличение времени выработки условно-оборонительных рефлексов и уменьшает время пребывания на вертикальном стержне.

Большинство нейролептиков оказывают седативное действие уменьшая уровень тревожности и эмоциональности. Приведенные результаты в табл. 10 свидетельствуют, что метсульфенилат проявляет нейролептические свойства уменьшая агрессивность поведения животных при нанесении электрических стимулов. Так, метсульфенилат повышает порог писка на 46,7% (p<0,05), порог агрессивности – на 42,7% (p<0,05). Аминазин повышает порог писка в среднем на 27,5% (p<0,05), а порог агрессивности – на 22,1% (p<0,05).

Таблица 10

#### Влияние метсульфенилата и аминазина на порог эмоциональных реакций у крыс

Препараты	Доза, мг/кг	Порог писка в вольтах		Порог агрессивности	
		М±m, вольт	В % к контролю	М±m, вольт	В % к контролю
Контроль	-	24,0±1,2	100	31,60±1,4	100
Метсульфенилат	6,2	35,2±1,9*	146,7	45,1±1,9*	142,7
Аминазин	5,0	30,6±2,4*	127,5	38,6±3,1*	122,1

\* - достоверность разницы с контролем (p<0,05).

Таким образом, метсульфенилат оказывает более выраженный нейролептический эффект, по сравнению с аминазином.

Проведенные исследования острой токсичности показали, что ЛД<sub>50</sub> метсульфенилата равна 125 мг/кг при внутрижелудочном введении, а ЛД<sub>50</sub> препарата сравнения аминазина равна 54 мг/кг. Следовательно, токсичность метсульфенилата в 2,3 раза меньше чем у аминазина, что является важным его преимуществом.

Совокупность полученных данных позволяет охарактеризовать метсульфенилат, как потенциальный нейролептик со своеобразным спектром действия и низкой токсичностью.

#### ВЫВОДЫ

1. Острая токсичность метсульфенилата (ЛД<sub>50</sub>) в 2,3 раза меньше, чем у препара-

та сравнения аминазина.

2. Метсульфенилат проявляет нейролептическую активность в тестах: спонтанной и ориентировочной двигательной активности, вертикализации, гиподинамии, потенцированию наркотических веществ, фенаминовой стереотипии, катаlepsии, условно-оборонительных рефлексов, эмоциональных реакций, выработку элементарных условных рефлексов.

Перспективы последующих исследований в данном направлении: изученное соединение, натриевая соль 5-N, N-диэтилсульфамоил-3-метоксифенилантраниловой кислоты (условное название метсульфенилат), обладающая нейролептической активностью, может явиться основой для дальнейших углубленных исследований безопасности, нейрохимических и молекулярных механизмов действия данного вещества.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Арана Д. Фармакотерапия психических расстройств: Практик. справочное руководство: Пер. с англ. -М.: Бином. - 2004. - 415 с.
2. Вильянов В.Б., Гамбург А.Л., Резникова Т.П. // Социал. и клин. психиатрия. - 2002. - № 3. - С. 61-64.

3. Громова О.А. Нейрометаболическая фармакотерапия. - М. - 2000. - 53 с.
4. Громов Л., Чайка Л., Гомон О. // Вісник фармакології та фармацевції. - 2003. - № 12. - С. 2-9.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Метод. рекомендації. / За ред. О.В. Стефанова. -К.: Авіцена. - 2001. - 528 с.
  
6. Калинин В.В. // Психиатрия и психофармакотерапия. - 2001. - № 3-4. - С. 129-131.
7. Маляров С. // Ліки України. - 2004. - № 5. - С. 95-96.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства: Пособие для врачей.-15-е изд., перераб., испр. и доп. - М.:Новая волна. - 2006. -1206 с.
9. Мосолов С.Н. // Фармакотерапия в неврологии и психиатрии. -М. - 2002. - С. 129-158.
10. Мосолов С.Н., Калинин В.В., Еремін А.В. // Новые достижения в терапии психических заболеваний.-М. - 2002. - С. 82-94.
11. Раевский К.С., Тимофеев В.А. // Бюлл. экспер. биол. – 1965. - Т.59. - № 6. - С.114-116.
12. Раевский К.С. // Международный медицинский журнал. - 2002. - № 1-2. - С.192-198.
13. Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств. / Гл. ред Г.Л. Вышковский. - М.:ООО «РЛС-2005». – 2005. - вып. 12. 1503 с.
14. Сернов Л.Н., Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. -М. - 2000. - 352 с.
15. Ястребов Д.В. // Русский медицинский журнал. - 2005. - Т.13. - № 22. - С. 1508-1512.
16. Gilad I., Shtauf B., Shiloh R. // Cell. Mol. Neurobiol. - 2001. - Vol.21. - № 6. - P. 705-716.
17. Le Pen G., Moreau J.L. // Neuropsychopharmacol. - 2002. - Vol. 27. - № 1. - P. 1-11.
18. Morimoto T., Hashimoto K., Yasumatsu H. // Neuropsychopharmacol.- 2002.- Vol. 26.- № 4. - P. 456-467.

## **НЕЙРОЛЕПТИЧНА АКТИВНІСТЬ НАТРІЄВОЇ СОЛІ 5-N, N-ДІЕТИЛСУЛЬФАМОЇЛ-3-МЕТОКСІФЕНІЛАНТРАНІЛОВОЇ КИСЛОТИ**

*Л.В. Григорьєва*

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

---

### **РЕЗЮМЕ**

Вивчені нейролептична дія та гостра токсичність натрієвої солі 5-N, N-діетилсульфамоміл-3-метоксіфенілантранілової кислоти (умовна назва метсульфенілат) в досліді на щурах лінії Вістар та білих безпородних мишах. Встановлено, що метсульфенілат впливає на спонтанну, вертикальну та горизонтальну рушійну активність, орієнтувальну реакцію, чинить міорелаксувальну дію, порушує координацію рухів, підсилює дію наркотичних речовин, зменшує фенамінову стереотипію, чинить каталептогенну дію, спричинює збільшення латентного періоду появи умовного захисного рефлексу уникання, а також підвищує поріг емоційних реакцій у лабораторних тварин. Гостра токсичність метсульфенілату виявилася у 2,3 рази меншою, ніж у аміназину.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** метсульфенілат, спонтанна, вертикальна та горизонтальна рушійна активність, орієнтувальна реакція, координація рухів, фенамінова стереотипія, міорелаксувальна та каталептогенна дія, умовні рефлексі, емоційні реакції, аміназин, барбітал-натрій, етамінал-натрій, гексабарбітал, тіопентал-натрій, хлоралгідрат

## **NEUROLEPTIC ACTIVITY OF 5-N, N-DIETHYLSULFAMOYL-3-METHOXYPHENYLANTHRANYLIC ACID SODIUM SALT**

*L.V. Grygoryeva*

V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

---

### **SUMMARY**

Neuroleptic activity and acute toxicity of 5-N, N-diethylsulfamoyl-3-methoxyphenylanthranilyc acid sodium salt (conditional name Methsulfenylate) were studied in experiments with Wistar rats and white mice. Methsulfenylate was found to affect spontaneous, vertical and horizontal motions, orientation response, has myorelaxing effect, destroys motion coordination, exponentiates the effect of narcotic drugs, reduces phenaminic stereotypes, exerts a cataleptogenic effect, prolongs latent period of appearance of defensive avoidance conditional reflex, as well as increases the threshold of emotional reactions in laboratory animals. Acute toxicity of Methsulfenylate was 2,3 times smaller than that of aminazine.

**KEY WORDS:** Methsulfenylate, spontaneous, vertical and horizontal motions, orientation response, motion coordination, phenaminic stereotypes, myorelaxing and cataleptogenic effect, conditional reflexes, emo-

tional reactions, aminazine, barbital sodium, pentobarbital sodium, hexobarbital, thiopental sodium, chloral hydrate

УДК: 537.868.047:579.871.1(043.3)

## СТУПІНЬ АКТИВНОСТІ ФАКТОРІВ ПАТОГЕННОСТІ У ЦИРКУЛЮЮЧИХ ШТАМІВ ТОКСИНОУТВОРЮЮЧИХ КОРИНЕБАКТЕРІЙ

*С.В. Калініченко*

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, м. Харків

### РЕЗЮМЕ

Проведено вивчення ступеню активності факторів патогенності циркулюючих культур токсиноутворюючих коринебактерій, вилучених від хворих на ЛОР-патологію, здорових носіїв та осіб, обстежених з профілактичною метою.

З'ясовано, що всі досліджені штами мали високу здатність до адгезії та були спроможні інактивувати комплемент. Більшість досліджених штамів мали досить високу активність ферментів колонізації та інвазії. Ступінь активності вказаних факторів обумовлює, в значній мірі, епідемічну значущість циркулюючих штамів коринебактерій.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** фактори патогенності, токсиноутворюючі коринебактерії

Реалізація епідемічного процесу дифтерійної інфекції на тлі вакцинопрофілактики відбувається переважно у вигляді бактеріоносійства, рівень якого може суттєво змінюватись [1, 2]. Різна інтенсивність циркуляції штамів пов'язана з періодичним формуванням епідемічно значущих, тобто більш вірулентних та пристосованих до колонізації епітелію популяцій збудника [3-5].

Інфікування здорових осіб у значній мірі обумовлено здатністю бактерій проникати через природні бар'єри та протидіяти неспецифічним факторам захисту організму людини [6, 7].

Ключовим механізмом заселення є адгезія бактерій, у той час як інвазію мікробів у міжклітинні прошарки обумовлюють, насамперед, гіалуронідаза і нейрамінідаза, а також антикомплементарні властивості бактерій [8, 9]. Ступінь активності вказаних ознак вказує на епідемічну значущість циркулюючих штамів [5-9].

Робота виконана в рамках НДР Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України "Вплив електромагнітних полів в широкому діапазоні частот на біологічні властивості збудників дифтерії та кашлюку", № держреєстрації 0103U001403.

Тривала персистенція бактерій в організмі біологічного хазяїна є достатньо поширеною формою їх взаємодії і може проявлятися у вигляді хронізації інфекційного процесу чи формуванні бактеріоносійства [7-11]. В патогенезі формування тривалого проживання прокариот виділяють два етапи взаємної адаптації хазяїна і паразита: колонізацію слизової оболонки та персистенцію патогена [10-12].

Ключовим механізмом колонізації є адгезія бактерій до епітелію слизових оболонок. Але, стійка адгезія і подальша колонізація макроорганізму відбуваються тільки тоді, коли мікроби можуть протистояти біоцидним та біостатичним факторам, одним з яких є комплемент. Цей фактор неспецифічної резистентності грає суттєву роль в захисті макроорганізму від чужосторонніх агентів. Тому при заселенні біологічних ніш макроорганізму бактерії мають уникати впливу комплементу, тобто вони повинні мати антикомплементарну активність [7, 9, 13].

В процесах колонізації коринебактеріями слизових оболонок, важливу роль відіграють і інші ферменти інвазії, до яких в першу чергу відносяться гіалуронідаза та нейрамінідаза [7, 9]. В подальшому, розмножуючись, коринебактерії продукують в значній кількості основний фактор патогенності – дифтерійний екзотоксин, який блокує синтез білка в органах макроорганізму, що найбільш інтенсивно наділені кров'ю (серцево-судинна система, міокард, периферична та центральна нервові системи, нирки та ін.) [5, 8].

Викладене свідчить про значущість вивчення факторів патогенності і ферментів інвазії циркулюючих штамів коринебактерій для подальшого епідемічного контролю за дифтерійною інфекцією.

У теперішній час, для визначення епідемічної значущості циркулюючих штамів коринебактерій користуються лише наявністю чи відсутністю у них здатності до токсиноутворення, не приймаючи до уваги здібність патогена до тривалої персистенції, що може сприяти формуванню стійкого бактеріоносій-

ства.

Мета роботи – вивчити ступінь активності факторів патогенності у циркулюючих штамів коринебактерій.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

diphtheriae mitis токсигенний (C.d.mitis tox+) – 36 штамів, Corynebacterium diphtheriae belfanti токсигенний (C.d.belfanti tox+) – 11 штамів, Corynebacterium ulcerans токсигенний (C.ulcerans tox+) – 5 штамів; вилучені від хворих на ЛОР-патологію, здорових носіїв та осіб, обстежених з профілактичною метою у період 2000-2005 рр. (м. Харків).

Виділення та ідентифікацію мікробів проводили у відповідності з Наказом №192 від 03.08.1999 р. МОЗ України «Про заходи щодо покращення бактеріологічної діагностики дифтерії в Україні».

Приготування поживних середовищ здійснювалось відповідно ГОСТу 10.444. 1 – 84 (СТСЭВ 3833-82) «Приготовление растворов, реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых в микробиологическом анализе». Контроль якості поживних середовищ проводили за рекомендаціями фірм-виробників, які викладено у сертифікатах до продукції, а також за Інформаційним листом МОЗ України № 05.4.1/1670 «Бактеріологічний контроль поживних середовищ», Київ, 2000.

Приготування суспензій мікроорганізмів із визначеною концентрацією мікробних клітин проводили за допомогою електронного приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema a.s, Чехія) по шкалі McFarland згідно інструкції до приладу [14].

Синхронізація культур перед проведенням дослідів досягалася одноразовим впливом низької температури [15].

Спектрофотометричні вимірювання проводили на «Spcord uv vis» (Німеччина) при 30°C.

Вивчення адгезивних ознак коринебактерій проводили згідно з методикою В.І.Бриліса зі співавторами [16].

Гіалуронідазну активність виявляли за схемою McClean у модифікації Кур'яти Н.В., 2005 [17]. Суспензії мікроорганізмів в кількості 0,5 мл вносили до пробірок, які містили 1,5 мл робочої дози гіалуронової кислоти. Пробірки інкубували при 37°C та через 120 хвилин міряли каламутність на спектрофотометрі при 350 нм. В якості контролів ставили реакцію з гіалуронідазоактивним референс-штамом Staphylococcus aureus ATCC 25923 та залишали одну пробірку з бульйоном та гіалуроновою кислотою не засіяною. В кінці дослідження додавали катіонний детергент ацетілтриметіламонію бромід. Результати

Об'єктом дослідження були 112 штамів токсиноутворюючих коринебактерій: Corynebacterium diphtheriae gravis токсигенний (C.d.gravis tox+) – 60 штамів, Corynebacterium

виражали в умовних одиницях (ум.од.).

Розрахунок проводили по формулі:

$$E = \frac{(Sn - Sk)}{t}, \quad (1)$$

де  $E$  – активність ферменту,

$Sn$  – початкова концентрація (од. опт. густ.)

$Sk$  – кінцева концентрація (од. опт. густ.)

$t$  – час

*Вивчення нейрамінідазної активності.* Нейрамінідазну активність вивчали за допомогою комерційних тест-систем NEIRAMI-NOtest (API bioMerieux, France). Активність нейрамінідази визначали за ступенем розщеплення сіалових кислот в супернатанті [18]. При визначенні ступеню активності даного ензиму користувалися шкалою, згідно якої активність ферменту оцінювалась як низька за показниками в межах 0–2,0 ммоль/мл, середня – 2,1-8,9 ммоль/мл, висока – 9,0-16,0 ммоль/мл, дуже висока – 16,1 ммоль/мл і вище [19].

*Вивчення антикомплементавної активності.* Антикомплементавну активність (АКА) штамів коринебактерій визначали за допомогою фотометричного методу [13, 20]. В якості джерела комплементу використовували ліофілізовану сироватку морської свинки (виробництва ВАТ “Біолек”, м. Харків). У дослідних пробах об'єднували по 0,1 мл маточної суспензії коринебактерій і комплементу, концентрація якого в фізіологічному розчині становила 20 С'Н<sub>50</sub>. В якості контролю використовували проби, в які замість суспензії коринебактерій додавали буферний розчин. Пробірки інкубували упродовж 2-х годин при 37 °С. Потім додавали по 3 мл 5% суспензії еритроцитів барана в фосфатному буфері (рН 7,2-7,4), сенсibiliзованих гемолітичною сироваткою, після чого суміш інкубували при 37 °С упродовж однієї години. Реакцію зупиняли, витримуючи пробірки 10 хвилин у холодильнику при температурі 4 °С. Пробірки центрифугували при 2000 об/хв 10 хвилин і вимірювали екстинцію при  $\lambda=480$  нм. АКА виражали в умовних анти-С'Н<sub>50</sub> одиницях розрахованих за формулою:

$$АКА = \frac{(E_k - E_d) \times C}{E_s}, \quad (2)$$

де  $E_k$  і  $E_d$  – контрольне і дослідне значення екстинції (од. опт. густ.),

$C$  – початкова концентрація комплементу



( $CH_{50}$  – одиниць),

$E_s$  – екстинція суспензії коринебактерій.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Здатність коринебактерій до адгезії є одним з факторів, що забезпечують персистенцію мікроорганізмів в біологічних нішах хазяїна [5, 7, 9].

Адгезія не є суто механічною взаємодією з клітинами макроорганізму. Безпосередня взаємодія адгезинів з рецепторами клітин еукаріот призводить до активації систем, які передають сигнали в середину клітин макроорганізму. У патогенних коринебактерій адгезинами є фімбрії, поверхневі білки та тейхоеві кислоти [7, 9].

Оцінку адгезивних ознак коринебактерій проводили згідно середнім показникам адгезії (СПА), коефіцієнту адгезії (КА) та індексу адгезивності мікроорганізмів (ІАМ).

Перша характеристика відображає середню кількість мікробних клітин прикріплених на одному еритроциті, друга – відсоток еритроцитів, що приймали участь в адгезії, а третя – відношення середньої кількості мікробних клітин розташованих на одному еритроциті до величини коефіцієнту адгезії в перерахунку на 100.

Щодо критеріїв адгезивності, то мікроорганізм вважають неадгезивним при  $ІАМ \leq 1,75$ ; низькоадгезивним – від 1,76 до 2,5; середньоадгезивним – від 2,51 до 4,0, та високоадгезивним при  $ІАМ$  більш ніж 4,0 [16].

Дослідження адгезивних властивостей токсиноутворюючих коринебактерій показало, що циркулюючі культури проявляли високу здатність прикріплюватись до клітин крові людини (рис. 1).

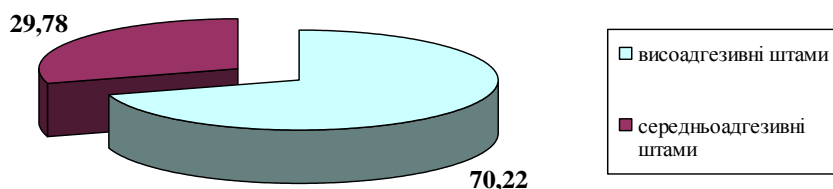


Рис. 1. Розподіл штамів по активності показників адгезії (частка штамів, %)

В середньому, циркулюючі штами мали наступні показники ступеню активності адгезивного процесу: СПА ( $4,51 \pm 0,16$ ), КА ( $85,37 \pm 0,88$ ), ІАМ ( $5,27 \pm 0,15$ ). Найбільш висока здатність до адгезії була притаманна штамам *C.ulcerans tox+* та *C.d.gravis tox+* (табл. 1).

Більшість середньоадгезивних штамів була вилучена від здорових носіїв, та осіб, яких було обстежено з профілактичною метою. Усі високоадгезивні штами токсиноутворюючих коринебактерій були вилучені від хворих на ЛОР-патологію.

Тривалість персистенції бактерій в значній мірі обумовлена здатністю мікроорганізмів успішно протистояти впливу захисних факторів макроорганізму, в першу чергу комплекменту.

Як відомо, функції комплекменту різноманітні: він приймає участь в лізисі мікробних та інших клітин (цитотоксичний вплив); має хемотаксичну активність; приймає участь в анафілаксії та відіграє важливу роль в опсонізації, фагоцитозі та позаклітинному кіллінгу мікроорганізмів [7, 9, 13, 19].

Таблиця 1

Показники адгезії у циркулюючих штамів коринебактерій

Назва штаму	Кількість штамів	Показники адгезії (M±m)		
		СПА	КА (%)	ІАМ
<i>C.d.gravis tox+</i>	60	$4,64 \pm 0,15$	$85,6 \pm 0,81$	$5,42 \pm 0,18$
<i>C.d.mitis tox+</i>	36	$4,34 \pm 0,18$	$85,2 \pm 0,92$	$5,09 \pm 0,12$
<i>C.d.belfanti tox+</i>	11	$4,26 \pm 0,12$	$84,8 \pm 0,83$	$5,02 \pm 0,18$
<i>C.ulcerans tox+</i>	5	$4,78 \pm 0,18$	$85,9 \pm 0,94$	$5,56 \pm 0,13$

За даними літератури у багатьох видів патогенних бактерій виявлена здатність до інактивації системи комплекменту [13]. Така здатність притаманна для *P.aeruginosa*, *E.coli*, *C.histoliticum*, *S.pyogenes*, що пов'язується як із секрецією специфічних протеаз,

так і з наявністю спеціалізованих сполук клітинної мембрани, які відповідають за інактивацію окремих компонентів комплекменту.

Усі досліджені нами циркулюючі штами коринебактерій мали антикомплементарну активність, яка в середньому складала у штамів

*C.d.gravis tox+* – (2,9±0,22) ум.од., у штамів *C.d.mitis tox+* – (2,7±0,21) ум.од., у штамів *C.d.belfanti tox+* – (2,5±0,22) ум.од., а у штамів *C.ulcerans tox+* – (2,1±0,17) ум.од. в перерахунку на анти-С'Н<sub>50</sub> одиниці.

Найнижча антикомплементарна актив-

ність була у штамів *C.ulcerans tox+*, тоді, як у штамів *C.d.gravis tox+* вказана активність була в 1,1-1,4 рази вища у порівнянні з іншими штамми досліджених коринебактерій (рис. 2).

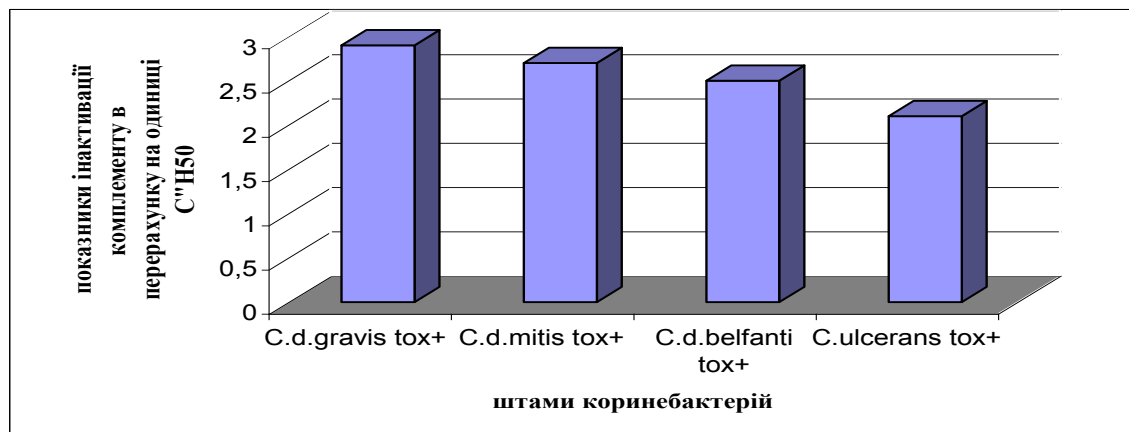


Рис. 2. Антикомплементарна активність штамів токсинотворюючих коринебактерій

Більшість патогенних мікробів продукують ферменти, які сприяють проникненню та розповсюдженню збудника до організму хазяїна. Один з таких ензимів – гіалуронідаза. Він розщеплює гіалуронову кислоту, яка є основним компонентом сполучної тканини, і заважає проникненню крізь неї чужорідних агентів. Цей фермент відноситься до числа ендогексамінідаз, що викликають полімеризацію чи гідролізацію гіалуронової кислоти. При цьому відбувається розрив глюкозаміних зв'язків у субстраті до N-глюкозаміна і

глюкуронової кислоти. Одним з наслідків дії гіалуронідази є зростання проникливості кровоносних судин та вихід плазми за їх межі, що призводить до набряку навколишніх тканин.

Дослідження показали, що тільки 3 із 112 штамів виявились гіалуронідазонегативними (рис. 3). Усі гіалуронідазонегативні штамми відносились до біовару гравіс та були вилучені від осіб, досліджених із профілактичною метою.



Рис. 3. Розподіл штамів за гіалуронідазною активністю (частка штамів, %)

Найбільш високу гіалуронідазну активність проявляли циркулюючі штамми *C.d.gravis tox+* – (0,47-0,49) ум. од. Штами *C.d.mitis tox+* і *C.d.belfanti tox+* мали показники –

(0,3-0,33) ум. од. та (0,24-0,27) ум. од. відповідно. Найбільш низькою гіалуронідазною активністю була у штамів *C.ulcerans tox+* – (0,16-0,19) ум. од. (рис. 4).

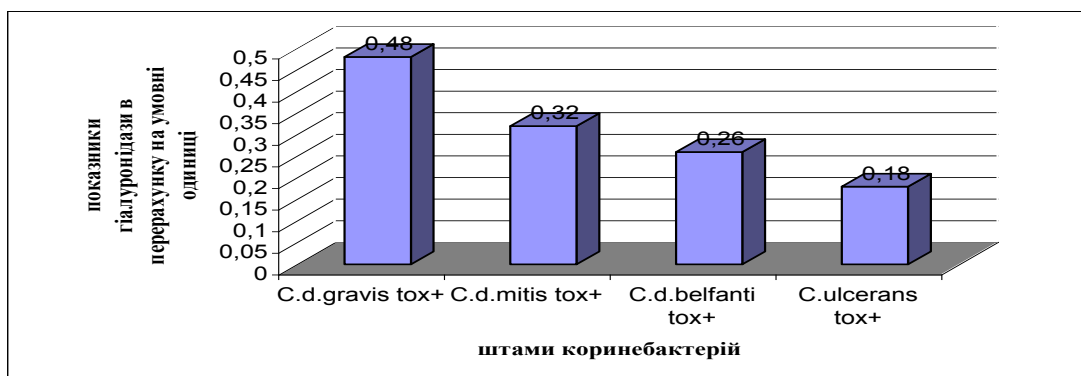


Рис. 4. Гіалуронідазна активність циркулюючих штамів коринебактерій

Виходячи з отриманих результатів можливо зробити припущення, що гіалуронідазна активність залежить не тільки від ступеню агресивності коринебактерій, але й від біоваріанту даного мікробу. Це може бути пов'язано з наявністю або відсутністю певних ферментів метаболічного циклу.

Нейрамінідаза (сіалідаза, КФ 3.2.1.18) розщеплює сіалову кислоту, що входить до складу поверхневих рецепторів клітин, завдяки чому останні набувають здатності взаємодіяти з адгезинами мікробів або з їх токсинами. За допомогою цього ферменту мікроби долають перший захисний бар'єр макроорганізму – муциновий прошарок, що вкриває поверхню слизових оболонок та має

значну кількість сіалових кислот. Слиз втрачає колоїдні властивості та руйнується, а епітеліальні клітини слизових оболонок стають доступними для колонізації. Цей ензим сприяє проникненню мікробів у клітину хазяїна та подальшому заселенню ними біологічних ніш [7, 9, 18].

Активність нейрамінідази умовно підрозділяють на низьку (0-2,0 ммоль/мл), середню (2,1-8,9 ммоль/мл), високу (9,0-16,0 ммоль/мл) та дуже високу (16,1 ммоль/мл і вище) [18].

Було встановлено, що всі досліджені нами штамми токсиноутворюючих коринебактерій продукували фермент нейрамінідазу, але в різних концентраціях (табл. 2).

Таблиця 2

Розподіл взятих у дослід штамів коринебактерій по активності нейрамінідази

Штами коринебактерій	Кількість штамів	Активність нейрамінідази			
		низька	середня	висока	дуже висока
<i>C.d.gravis tox+</i>	60	-	15	30	15
<i>C.d.mitis tox+</i>	36	-	-	14	22
<i>C.d.belfanti tox+</i>	11	-	-	11	0
<i>C.ulcerans tox+</i>	5	-	5	-	-
Всього	112	-	20	55	37

Штамів з низькою нейрамінідазною активністю серед циркулюючих токсиноутворюючих коринебактерій виявлено не було. Питома вага штамів з середньою нейрамінідазною активністю склала 17,85%, а з дуже високою – 33,05%. Найбільша кількість штамів 49,1% мала високу нейрамінідазну актив-

ність.

Експериментально визначено, що штамми *C.d.mitis tox*, *C.d.belfanti tox+* та більшість штамів *C.d.gravis tox+* мали високу активність цього ферменту, тоді як всі взяті у дослід штамми *C.ulcerans tox+* – середню (рис. 5).

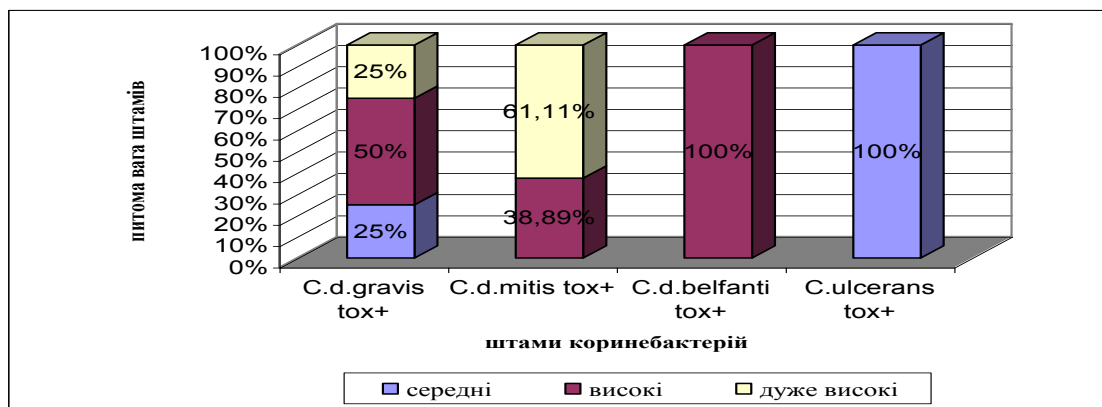


Рис. 5. Розподіл циркулюючих штамів по активності нейрамінідази

Штами, вилучені від хворих на ЛОР-патологію мали високу або дуже високу нейрамінідазну активність. Токсинуотворюючі коринебактерії, вилучені від здорових носіїв та осіб, обстежених з профілактичною метою, мали середню нейрамінідазну активність. Це може бути пов'язано зі ступенем агресивності досліджених бактерій.

Таким чином, незважаючи на низький дифтерії та джерелом дифтерійної інфекції. На наш погляд, на тлі достатнього імунного прошарку населення, визначення ступеню активності факторів патогенності у циркулюючих штамів коринебактерій є важливим для подальшого епідемічного контролю за дифтерійною інфекцією.

## ВИСНОВКИ

1. Усі взяті в дослідження циркулюючі культури токсинуотворюючих коринебактерій мали високу здатність до адгезії.
2. Спроможність інактивувати комплемент виявлена у всіх штамів досліджених коринебактерій. Антикомплемтарна активність була вищою в 1,1-1,4 рази у штамів *C.d.gravis tox+* порівняно з іншими культурами збудника дифтерії.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Турьянов М.Х., Беляева Н.М., Царегородцев А.Д., и др. -М.:Медикас. - 1996. - 254 с.
2. Anderson J., Haggold C., McLeod J. // J. Path. Bact. - 2001. - Vol. 34. - P. 667-681.
3. Подаваленко А.П., Головач Г.С., Карлова Т.А., и др. // Эпидемиология экология и гигиена: Сборник материалов 7-ой итоговой региональной конференции, посвященной 200- летию Харьковской высшей медицинской школы. - Харьков. - 2004. - Ч.2. - С. 15-19.
4. Марков В.В. // Журн. эпидем. - 2000. - №1. - С. 21-28.
5. Riegel, P., R. Heller, G. Prevost // Clin. Microbiol. Rev. - 2005. - Vol. 7. - P. 1107-1111.
6. Волянский Ю.Л., Бабич Е.М., Москаленко В.Ф., и др. Механизмы саморегуляции в микробиоценозах и новые аспекты профилактики менингококковой инфекции. / Под ред. Волянского Ю.Л. - Харьков. - 1999. - 280 с.
7. Бухарин О.В., Усвяцов Б.Я., Хуснутдинова Л.М. // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. - 2000. - № 4 (прил.). - С.82-85.
8. Casadevall A., Pirofski L.-A. // Infection and Immunity. - 1999. - Vol.67. - №8. - P.3703-3713.
9. Бухарин О.В. // Журн. микробиол., эпидемиол., иммунобиол. - 2000. - № 4 (прил.). - С.4-7.
10. Jack R.W., Tagg J.R., Ray B. // Microbiol. Rev. - 2005. - Vol.59. - № 2. - P.171-200.
11. Кветная А.С., Иванова В.В., Корженевская Т.Б. // Журн. микробиол. - 2000. - № 4. - С. 31-36.
12. Ценева Г.Я., Щедеркина Е.Е. // Журн. микробиол. - 2000. - № 6. - С. 10-13.

13. Брудастов Ю.А. Антикомплементарная активность бактерий. Автореф. дис...канд.мед.наук. - Челябинск. - 1992. - 22 с.
14. Волянський Ю.Л., Мироненко Л.Г., Калініченко С.В., і др. Стандартизація приготування мікробних суспензій. / Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я №163-2006. Міністерство охорони здоров'я України; Український центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ).
15. Баснакьян И.А. Культивирование микроорганизмов с заданными свойствами. -М.:Медицина.-1992. - С.29-59.
16. Брилис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., и др. // Лабораторное дело. - 1986. - № 4. - С.112-114.
17. Кур'ята Н.В. Адгезивні та імуномодулюючі властивості бактерій роду *Lactobacillus*: Дис...канд. биол. наук: 03.00.07. - Одесса. - 2005. - 171 с.
18. Метод. указ. к лаб. работам по клинической биохимии. -Х.:УИУВ (каф.мед.биох.). - 1988. - 116 с.
19. Вишнякова Л.А., Резцова Ю.В. // ЖМЭИ. - 1990. - № 2. - С.108-109
20. Лабинская А.С., Блинкова А.П., Ещина А.С. Общая и санитарная микробиология с техникой микробиологических исследований. -М.:Медицина. - 2004. - 576 с.

## **СТЕПЕНЬ АКТИВНОСТИ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ У ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ШТАММОВ ТОКСИНООБРАЗУЮЩИХ КОРИНЕБАКТЕРИЙ**

*S.V. Kalinichenko*

Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины, г. Харьков

---

### **РЕЗЮМЕ**

Проведено изучение степени активности факторов патогенности циркулирующих токсинообразующих коринебактерий, выделенных от больных ЛОР-патологией, здоровых носителей и лиц, обследованных с профилактической целью.

Установлено, что все исследованные штаммы обладали высокой способностью к адгезии и инактивировали комплемент. У большинства исследованных штаммов активность ферментов колонизации и инвазии была на высоком уровне. Степень активности указанных факторов обуславливает, в значительной мере, эпидемиологическую значимость циркулирующих штаммов коринебактерий.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** факторы патогенности, токсинообразующие коринебактерии

## **THE LEVEL OF ACTIVITY OF PATHOGENICITY FACTORS OF THE TOKSINFORMING CORYNEBACTERIA CIRCULATORY STAINS**

*S.V. Kalinichenko*

Mechnikov-Institute of Microbiology and Immunology of AMS of Ukraine, Kharkov

---

### **SUMMARY**

The level of activity of pathogenicity factors of circulatory toksinforming Corynebacteria, selected from patients with pathology of ear, nose and throat, healthy carriers and persons inspected with a prophylactic purpose, was studied.

It was found out, that all explored stains had a high capacity for adhesion and inactivated complement. The most explored stains had a high indexes of activity of colonization and invasion enzymes. The level of activity of the indicated factors cause, to a great extent, epidemiological consequence of Corynebacteria circulatory stains.

**KEY WORDS:** pathogenicity factors, toksinforming Corynebacteria

УДК: 579.222+615.012

## **ВОЗМОЖНОЕ ВЛИЯНИЕ ФЕНОБАРБИТАЛА НА ЭФФЕКТИВНОСТЬ ТЕРАПИИ ГРИБКОВЫХ ИНФЕКЦИЙ**

*И.С. Леонова, В.И. Падалко*

НИИ биологии Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина, Украина

---

### **РЕЗЮМЕ**

Установлено, что фенобарбитал, существенно не влияя на морфологию, смертность и интенсив-

ность дыхания клеток культуры дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, стимулирует накопление эргостерина в клетках культуры, изменяя тем самым их стресс-устойчивость. Этот факт может свидетельствовать о том, что продолжительное использование лекарственных средств, содержащих фенobarбитал, на фоне терапии кандидозов и микозов может оказывать влияние на эффективность применяемых при этом препаратов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** дрожжи, эргостерин, фенobarбитал

Как известно, экзогенные факторы, в том числе и лекарственные препараты, способны оказывать существенное влияние на интенсивность метаболизма микроорганизмов, а значит, и модифицировать течение патологических процессов, инициируемых микроорганизмами (в частности, дрожжами рода *Candida*) [1].

На сегодня одним из наиболее успешных подходов к лечению кандидозов и микозов является применение группы препаратов, действующих на стеринный обмен возбудителей данных заболеваний [2-5]. Основным механизмом действия этой группы препаратов заключается в ингибировании синтеза стерина у микроорганизмов на уровне цитохром Р-450 – зависимого 14- $\alpha$ -деметилирования ланостерола [6, 7]. Под-

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил дикий штамм пивных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, полученный из коллекции ОАО Пивзавод «Рогань» (г. Харьков). Культура росла на среде следующего состава: глюкоза – 0,5%, сусло – 25%. Дрожжи культивировали в колбах объемом 250 мл при температуре 25<sup>0</sup>С и постоянном перемешивании [10, 11]. Объем среды составлял 50 мл. Для эксперимента биомассу отбирали на указанные в тексте сутки роста культуры. Фенobarбитал вносили в среду культивирования дрожжей в концентрации 0,01 мг/мл.

Количество клеток дрожжей подсчитывали общепринятым методом в камере Горяева. Соотношение «живых» и «мертвых» клеток определяли при помощи красителя трипанового синего (0,8%) [12].

Экстракцию стерина из клеток дрожжей проводили по методу Бревика и Оводса в модификации Вудса [13]. Содержание эргостерина определяли спектрофотометрически в области длин волн 200-310 нм [14] на спектрофотометре Specord UV VIS «Carl Ziess Jena» (Германия) по методу [14] во всех экспериментальных вариантах на 10 и 14-е сутки роста культуры. Содержание эргостерина рассчитывали по максимуму поглощения при 281 нм, используя коэффициент молярной экстинкции 11500 М – 1 см<sup>-1</sup> [13, 14].

Для изучения устойчивости клеток дрожжей к осмотическому шоку в культуру дрожжей вносили NaCl до конечной концентрации 1,3 М [15].

тверждением участия цитохрома Р-450 в 14- $\alpha$ -деметилировании ланостерола может служить тот факт, что кислород и NADPH-зависимое превращение ланостерола в 4,4-диметилзимосерин ингибируется антителами к цитохрому Р-450 [8].

Известно, что классическим индуктором цитохромов Р-450 является фенobarбитал [9], входящий в состав целого ряда лекарственных препаратов, применяемых в качестве успокоительных, снотворных и противосудорожных средств.

Учитывая вышеизложенное, в работе было изучено влияние фенobarбитала на интенсивность метаболических процессов клеток дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, родственных патогенным дрожжам рода *Candida*.

Для изучения устойчивости клеток дрожжей к тепловому шоку культуру дрожжей помещали в пробирки и погружали в водный термостат с температурой 45<sup>0</sup>С [16]. Экспозиция составляла 30 и 60 минут [17].

В качестве показателя интенсивности метаболической активности культуры использовали эндогенное дыхание клеток дрожжей [18], которое определяли полярографически по скорости потребления кислорода при помощи кислородного электрода Кларка [19].

Содержание белка определяли по методу Лоури и соавторов в модификации Миллера [20].

Сравнение средних величин в выборках с нормальным распределением проводили при помощи t-критерия Стьюдента с использованием компьютерного пакета программ «Statistika V.6». Различия считали достоверными при P<0,05.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В клетках *S. cerevisiae* стерин преимущественно локализован в митохондриях и микросомах, с которыми связаны ферментные системы, участвующие в биосинтезе эргостерина [21]. Кроме того, небольшая часть стерина содержится во внутриклеточных мембранах [22]. Основное значение стерина и, в частности, эргостерина, на долю которого приходится до 80% всех стерина клетки, связывают с ролью структурного компонента мембран [23]. Такие свойства клеточной мембраны, как текучесть [24], проницаемость [25, 26], устойчивость к лизису, эндо-

цитоз [27, 28], вязкость [25, 27] связаны с наличием в ней стерина. Для поддержания дыхательной активности дрожжи предпочитают эргостерин другим стеринам [29]. Стерины принимают участие в транспорте ненасыщенных жирных кислот и поддержании равновесия между насыщенными и ненасыщенными жирными кислотами в клетке дрожжей [30, 31]. Существует предположение, что образование эргостерина – ни что иное, как реакция детоксикации, защищающая микроорганизмы от излишнего количества жирных кислот [32]. Кроме того, благодаря способности к комплексообразованию стерины являются защитным фактором от токсического действия многих природных соединений и внешних воздействий [23, 30].

Имеются данные также о том, что стерины в мембранах влияют на функцию пермеазных систем клетки, определяя тем самым проницаемость мембраны для различных соединений [33].

Большое внимание исследователей привлекает и такая функция стерина, как регу-

ляция роста клеток дрожжей [30].

Вышеприведенные данные свидетельствуют о значительной роли эргостерина в процессах жизнедеятельности дрожжей *S. cerevisiae*, поэтому изучение влияния лекарственных средств на синтез эргостерина в клетках дрожжей может представлять существенный интерес для медицины и фармакологии.

При изучении влияния фенобарбитала на накопление эргостерина установлено, что его содержание в клетках дрожжей при внесении фенобарбитала в среду культивирования значительно увеличивалось и превышало контроль в 1,8-2,5 раз с 7 по 16 сутки культивирования (рис. 1).

Для целей данной работы представляло интерес сравнение двух культур дрожжей *S. cerevisiae*, клетки которых накапливали разное количество эргостерина. Содержание эргостерина в первой было 16,0-17,0 нмоль на  $10^7$  клеток (культура К 1), а во второй 22,0-23,0 нмоль на  $10^7$  клеток (культура К 2).

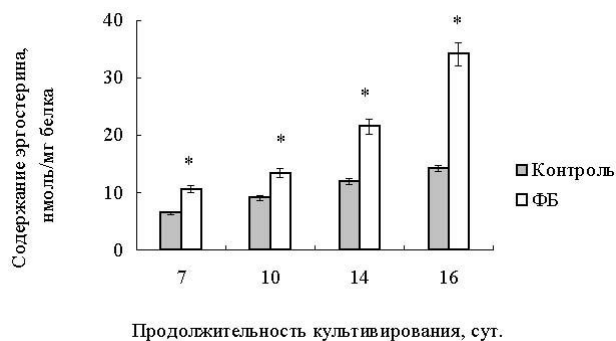


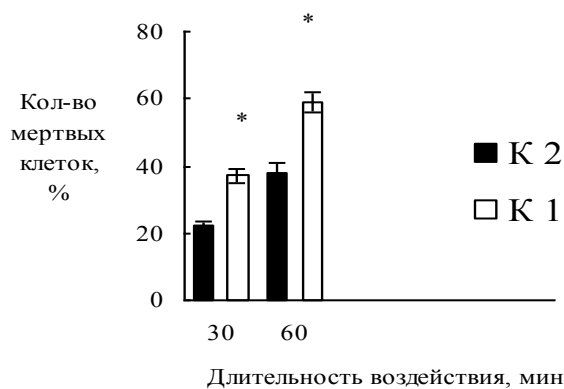
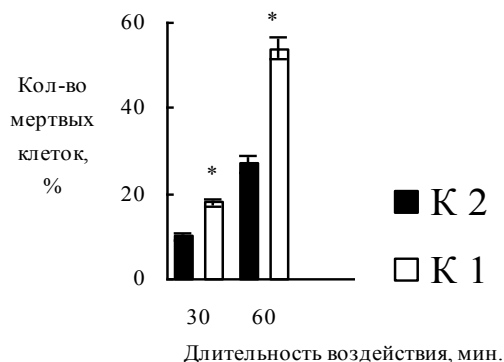
Рис. 1. Содержание эргостерина в клетках *Saccharomyces cerevisiae* при росте на среде, содержащей фенобарбитал, на различных этапах культивирования.

Инкубация клеток дрожжей в условиях теплового шока показала, что в культуре К 2 количество мертвых клеток было в 1,8 и 2 раза больше (через 30 и 60 минут культивирования), чем в культуре К 1 (рис. 2).

В случае осмотического шока через 30 и 60 минут инкубации в культуре К 2, количество мертвых клеток было в 1,7 и 1,6 раза больше, чем в культуре К 1 (рис. 3).

Таким образом, культура дрожжей, со-

держание эргостерина в клетках которой было выше (К 1), была более устойчива к действию таких стрессорных факторов, как осмотический и температурный шок. Исходя из этих данных, можно предположить, что фенобарбитал, индуцируя накопление эргостерина в клетках дрожжей, может опосредованно приводить к повышению устойчивости культуры к воздействию стресс-факторов.

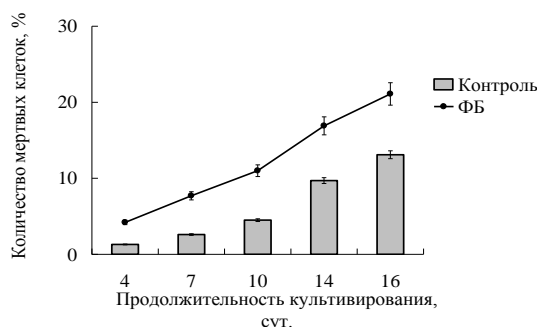


**Рис. 2.** Количество мертвых клеток в культуре *S. cerevisiae* с разным накоплением эргостерина после теплового шока

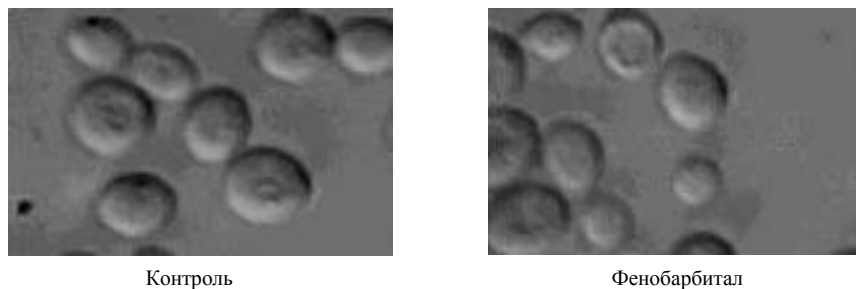
**Рис. 3.** Количество мертвых клеток в культуре *S. cerevisiae* с разным накоплением эргостерина после осмотического шока

Исследование динамики роста популяции клеток в присутствии фенобарбитала в среде культивирования дрожжей показало снижение интенсивности роста культуры на 23% и 29% к 7 и 10 суткам соответственно. Существенного различия в динамике накоп-

ления мертвых клеток в контроле и опыте не наблюдалось (рис. 4). Нами не было обнаружено и существенных морфологических изменений клеток дрожжей в условиях эксперимента (рис. 5).



**Рис. 4.** Количество мертвых клеток в культуре *Saccharomyces cerevisiae* при росте на среде, содержащей фенобарбитал, на различных этапах культивирования



**Рис. 5.** Клетки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, культивируемые на среде с фенобарбиталом (ФБ) (увеличение в 600 раз)

Измерения интенсивности потребления кислорода в культуре дрожжей на 7, 10, 14 и 16 сутки роста культуры не показали достоверных различий. Интенсивность потребления кислорода в культуре, растущей на среде с фенобарбиталом, оставалась на уровне контроля.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, на основании полученных нами данных можно полагать, что фенобарбитал в исследованной концентрации, суще-

ственно не влияя на морфологию, смертность и интенсивность дыхания клеток культуры дрожжей, может стимулировать накопление эргостерина в клетках, изменяя тем самым их стресс-устойчивость. Этот факт может свидетельствовать о том, что продолжительное использование препаратов, содержащих фенобарбитал, на фоне терапии кандидозов и микозов может оказывать определенное влияние на ход лечения этих заболеваний.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Henry K.W., Nickels J.T., Edlind T.D. // Antimicrob. Agents & Chemother. - 2000. - Vol. 44. - P. 2693-2700.
2. Mercer E.I. // Lipids. - 1991. - Vol. 26. - P. 584-597.
3. Ma D. // Progress in Drug Research. - 2001. - Vol. 57. - P. 45.
4. Hasenoehrl A. // 41<sup>st</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), 16-19 Dec. 2002, Chicago, IL, USA.—Abstract 2143.
5. Dorrell S. // Drug Discovery Today. - 2002. - Vol. 7. - № 6. - P.332-333.
6. Turi T.G., Loper J.C. // J. Biol. Chem. - 1992. - Vol. 267. - P. 2046-2056.
7. Wright G.D., Honrk J.F. // J. Bacteriol. - 1991. - Vol. 173. - № 3. - P. 1035-1040.
8. Nose H., Fushimi H., Seki A., et al // J. Antibiot. (Tokio). - 2002. - Vol. 55. - № 11. - P. 969-974.
9. Komissarova I.A., Nartsissov Y.R. // Bull Exp Biol Med. - 2001. - Vol.131. - № 4. - P. 330-332.



10. Квасников Е.И., Щелокова И.Ф. Дрожжи: Биология. Пути использования. -К.:Наукова думка. - 1991. - 328с.
11. Захаров И.А., Кожин С.А., Кожина Т.Н. Методики по генетике дрожжей-сахаромицетов.-Л.:Наука. - 1976. - 95 с.
12. Seglen P.O. // Meth. Cell Biol. - 1976. - Vol. 13. - P. 29-33.
13. Woods R.A. // J. Bacteriol. - 1971. - Vol. 108. - P. 69-71.
14. Яхимович Р.И. Химия витаминов Д. -К.:Наукова думка. - 1978. - 248 с.
15. Андреищева Е.Н., Звягильская Р.А. // Прикл. биохим. и микроб. - 1999. - Т. 35. - № 3. - С. 23-256.
16. Рихванов Е.Г., Варакина Н.Н., Русалева Т.М. и др. // Микробиология. - 2001. - Т. 70. - вып. 4. - С. 531-535.
17. Albertyn J., Hohmann S., Threvelin J.M., et al//Mol. and Cell.Biol.- 1994. - Vol.14.- №6.- P.4135-4144.
18. Аливердиева Д.А. // Прикл. биохим. и микробиол. - 2001. - Т. 37. - № 1. - С. 90-95.
19. Зеленский М.И. Полярнографическое определение кислорода в исследованиях по фотосинтезу и дыханию. -Л.:Наука. - 1986. - 140 с.
20. Miller G.I. // Anal. Chem. - 1959. - Vol. 31. - № 5. - P. 964-966.
21. Михайлова Н.П., Вьюнов К.А. // Усп. соврем. биологии. - 1984. - Т.104. - вып 1(4). - С. 89-104.
22. Вентъря Э.Ю., Саулите Л.А, Рапопорт А.И., и др. // Микробиология.- 1986.- Т.55. - в.1.- С.116-119.
23. Barton D.H., Corrie I.F., Bard M., et al // J. Chem. Soc. - 1974. - Vol. 1. - P. 1326-1333.
24. Физиологическая регуляция метаболизма дрожжей / Под ред. М.Ф. Залашко. -Мн.:Навука и тэхніка. - 1991. - 332 с.
25. Гальцова Р.Д. Стеринообразование у дрожжевых организмов. -М.:Наука. -1980. - 224 с.
26. Daum G., Lees N.D., Bard M., Dixon R. // Yeast. - 1998. - Vol. 14. - P. 1471-1510.
27. Stolz J., Sauer N. // J. Biol. Chem. - 1999. - Vol. 247. - № 26. - P. 18747-18752.
28. Ивков В.Г., Берестовский Г.Н. Липидный бислой биологических мембран. -М.:Наука. - 1982.- 56 с.
29. Hees-Peck A., Pichler H., Zanolari B., et al // Mol. Biol. Cell. - 2002. - Vol.13. - P. 2664-2680.
30. Andreasen A.A., Stier T.J.V. // J. Cell Comp. Physiol. - 1953. - Vol. 41. - P. 23-26.
31. Синицкая Н.А., Огородникова Т.Е., Михайлова Н.П. // Прикл. биохим. и микробиол. - 1993. - Т. 29. - вып. 5. - С. 675-684.
32. Робышева З.Н. // Итоги науки: Сер. вирусология и микробиология. - 1972. - Т.3. - С. 56-69.
33. Касумов А.Х. // Усп. совр. биологии. - 1977. - Т.83. - № 1. - С. 23-37.

## **МОЖЛИВИЙ ВПЛИВ ФЕНОБАРБИТАЛУ НА ЕФЕКТИВНІСТЬ ТЕРАПІЇ ГРИБКОВИХ ІНФЕКЦІЙ**

*I.S. Leonova, V.I. Padalko*

*НДІ біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна, Україна*

---

### **РЕЗЮМЕ**

Досліджено, що фенобарбітал, істотно не впливаючи на морфологію, загибель клітин та інтенсивність дихання культури, може стимулювати накопичення ергостерину у клітинах культури, змінюючи таким чином їхню стрес-стійкість. Цей факт може свідкувати про те, що тривале використання лікарських засобів, що містять фенобарбітал, при кандидозах та мікозах може впливати на ефективність препаратів, що використовуються.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** дріжджі, ергостерин, фенобарбітал.

## **POSSIBLE INFLUENCE of FENOBARBIYAL ON EFFICIENCY OF THERAPY OF FUNGAL INFECTIONS**

*I.S. Leonova, V.I. Padalko*

*Scientific research institute of biology of V.N.Karazin Kharkov National University, Ukraine*

---

### **SUMMARY**

Fenobarbital was found out essentially not influencing morphology, death rate of cells and intensity of breath of cells culture. Fenobarbital can stimulate accumulation of ergosterol in cells of culture, changing their stress-stability. This fact can testify that long use of the preparations containing fenobarbital, at fungal infections can influence a course and treatment of diseases.

**KEY WORDS:** yeast, ergosterol, fenobarbital

*УДК: 615.361.811.014:616.36-004.4*

## **ВЛИЯНИЕ СОВМЕСТНОГО ВВЕДЕНИЯ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ И ГОЛОВНОГО МОЗГА НА ТЯЖЕСТЬ**

## АЛКОГОЛЬНОГО ПОРАЖЕНИЯ ПЕЧЕНИ

А.Ю. Петренко<sup>2</sup>, Б.П. Сандомирский<sup>2</sup>, Т.П. Якимова<sup>1</sup>, Г.А. Ковалёв<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

<sup>2</sup>Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков

### РЕЗЮМЕ

Изучали влияние совместного введения клеток эмбриональной печени (КЭП) и клеток эмбрионального головного мозга (КЭМ) на тяжесть алкогольного поражения печени (АПП) крыс. Показано что внутривенная инъекция КЭП и КЭМ приводит к улучшению структуры печени на клеточном и тканевом уровнях, стимуляции пролиферативной активности и регенерации гепатоцитов, нормализации печёночной гемодинамики, активации системы мононуклеарных фагоцитов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** клетки эмбриональной печени, клетки эмбрионального головного мозга, алкогольное поражение печени

Регенеративно-пластическая или клеточная терапия, основанная на применении различных видов стволовых клеток, является одним из наиболее перспективных и стремительно развивающихся направлений медицины [3, 9]. Стволовые клетки обладают уникальными свойствами, которые могут быть использованы для лечения патологий различного генеза, их высокий терапевтический потенциал продемонстрирован многочисленными исследованиями [3, 8, 10]. Принимая во внимание значительную распрофектов от совместного применения эмбриональных клеток печени и головного мозга на модели АПП. Ранее мы уже сообщали, что совместное внутривенное введение КЭП и КЭМ способно оказывать активное стимулирующее влияние на процессы репарации печени при её алкогольном поражении [1], тем не менее, остаётся не ясным как при этом изменяется гистологическое строение органа. Данных об этом в доступной литературе не обнаружено.

Цель исследования – изучить влияние совместного введения КЭП и КЭМ на морфологические изменения, возникающие в печени при её алкогольном поражении.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводили согласно с положениями «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, Франция, 1985). Исследования выполнялись на 30 трёхмесячных самках белых беспородных крыс. Моделирование АПП выполняли, как описано ранее [2], после чего животные продолжали получать 15% раствор этилового спирта как единственный источник жидкости. В качестве источника эмбриональных клеток использовали печень и головной мозг эмбрионов человека 9-12 недель гестации. Эмбрионы были получены в результате планового прерывания беременности после письменного согласия донора. Клетки получали нефер-

странённость поражений печени алкогольного генеза и несовершенство существующих методов лечения этой патологии, представляется крайне актуальным поиск новых терапевтических подходов. В связи с чем, перспективным представляется изучение возможности применения в качестве лечебных агентов стволовых клеток. Одним из наиболее богатых источников таких клеток являются эмбриональные органы и ткани [3, 9], в частности печень и головной мозг. В связи с этим, представляется важным, изучение эфферентативным методом, криоконсервировали по трёхэтапной программе замораживания. Пробы отогревали на водяной бане при 40°C непосредственно перед введением. Все животные были разделены на три группы (n=10). Первую группу составили интактные крысы. Вторая (основная) – включала животных, которым однократно внутривенно вводили взвесь содержащую КЭП и КЭМ из расчета по 5<sup>7</sup> клеток на 100 г массы тела в 0,3мл криозащитной среды (КЗС). Крысы третьей группы (контроль) получали внутривенную инъекцию КЗС в дозе 0,3 мл/100 г массы тела в качестве плацебо. Морфологическое исследование печени проводили спустя 14 суток после введения. Срезы печени готовили общепринятым методом [5], выполнялось окрашивание гематоксилином и эозином, по методу Ван-Гизон и Суданом III. Учитывали характер повреждения ткани печени на клеточном и тканевом уровне. Степень повреждения гепатоцитов оценивалась по трехбалльной системе [6], где выраженная и резко выраженная степень повреждения гепатоцитов была равна 2,5 и 3,0 баллам, соответственно. Наряду с процессами альтерации печёночной ткани учитывали также и процессы регенерации, для этого подсчитывали количество митотически делящихся клеток в дольках и число двуядерных гепатоцитов. Кроме того, оценивали состояние кровеносного русла и реакцию системы мононуклеарных фагоцитов путём подсчёта количества звёздчатых ретикулоэндотелио-

цитов (ЗРЭЦ) на 100 гепатоцитов. Данные оценивали при помощи пакета программ «Excel 2003», «Statistica v.5.5», используя непараметрический критерий Манна-Уитни, выражали в виде  $M \pm m$ . Достоверно отличными считали результаты при  $P < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическое исследование печени интактных животных продемонстрировало незначительное количество лизированных и лизирующихся клеток –  $1,9 \pm 0,4$  и  $3,0 \pm 0,4\%$  соответственно. Подавляющее большинство гепатоцитов ( $95,1 \pm 0,2\%$ ) не имели морфологических признаков повреждения. Численность ЗРЭЦ находилась на уровне  $19,7 \pm 2,6\%$ . Невысоким было содержание двуядерных гепатоцитов –  $3,5 \pm 0,6\%$ . Не отмечалось случаев нарушений печёночной гемодинамики. Повреждений органа на тканевом уровне так же не зафиксировано. В печени животных контрольной группы (введение КЗС) нередко встречались участки, где ткань печени разряжена, многие клетки имели нечёткие границы ядра и цитоплазмы, а большинство клеток лишено цитоплазмы и предкоголя и его метаболитов. Это утверждение подтверждается данными о снижении количественного содержания и функции тканевых макрофагов, за счёт угнетения их миграции из крови в ткани при длительном воздействии этанола [4]. В качестве ещё одной иллюстрацией гепатотоксичности этилового спирта можно привести неизменное содержание в печени двуядерных гепатоцитов –  $2,8 \pm 0,2\%$ , при этом следует отметить, что часть их находилась в состоянии жироп-

ставлено гиперхромными ядрами без чёткой границы и структуры цитоплазмы или вовсе с её отсутствием. Численность погибших и лизированных печёночных клеток равнялась  $24,1 \pm 2,7\%$ , количество погибших, но ещё не полностью лизированных клеток, представленных в виде «теней» и безъядерных гепатоцитов составляло  $31,5 \pm 2,3\%$ . Результатом такого мощного повреждения печени на клеточном уровне явилось крайне низкое представительство морфологически не повреждённых гепатоцитов, которое в среднем по группе было равно  $44,5 \pm 2,3\%$ . Степень повреждения гепатоцитов находилась на уровне  $2,5 \pm 0,2$  балла. Количество ЗРЭЦ равнялось  $31,7 \pm 1,5\%$ . Увеличение численности тканевых макрофагов печени в 1,6 раза по сравнению с интактом, объясняется необходимостью утилизировать погибшие клетки. Тем не менее, учитывая обилие погибших и повреждённых гепатоцитов, очевидно, что реакция иммунной системы выражена явно недостаточно. Следовательно, можно говорить об угнетении местной иммунной системы органа, наступившей под действием ал-

вой дистрофии. Митозы определялись только в  $40,0\%$  случаев. Таким образом, можно заключить что, несмотря на выраженную альтерацию клеток печени значимой активации регенераторных процессов не наступало. Повреждение органа на тканевом уровне проявлялось нарушением балочной и дольковой структуры –  $60,0$  и  $20,0\%$  наблюдений соответственно. У  $80,0\%$  крыс наблюдались нарушения печёночной гемодинамики в виде расширения центральных вен, стаза крови.

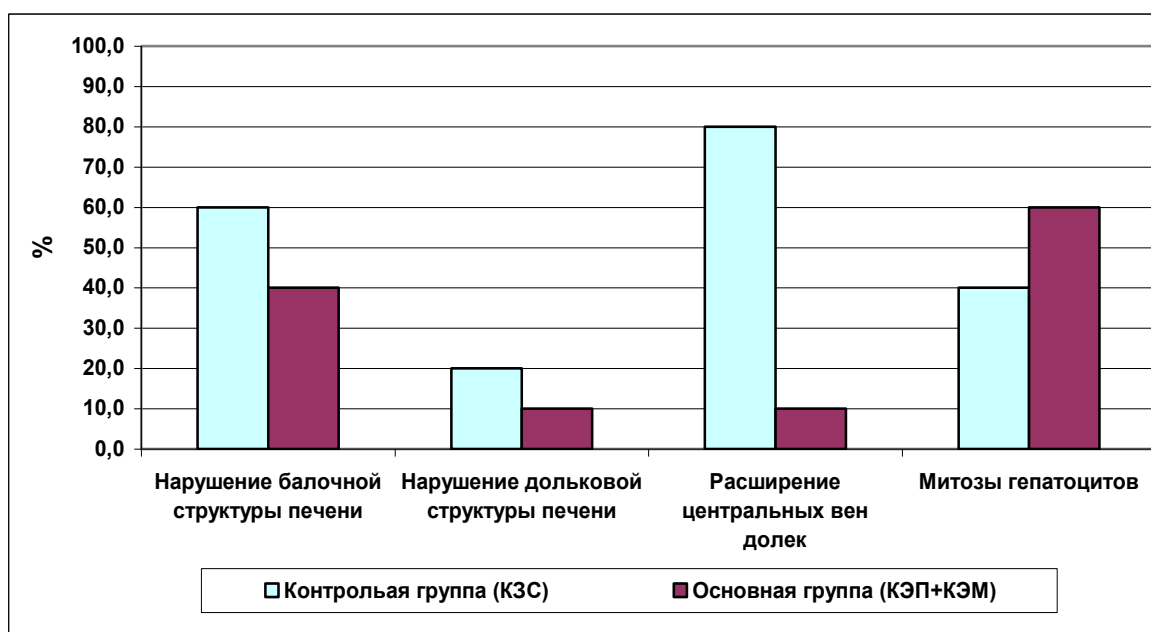


Рис. Частотный анализ патоморфологических проявлений в печени животных

В ходе патоморфологического исследования печени животных основной группы (введение КЭП и КЭМ) численность лизированных и лизирующихся гепатоцитов находилась на уровне  $15,3 \pm 1,8$  и  $24,5 \pm 3,5\%$ , что соответственно в 1,6 и 1,3 раза ниже аналогичных показателей у контрольных крыс. Количество морфологически не изменённых гепатоцитов было в 1,4 раза выше, чем в контрольной группе и составляло  $60,2 \pm 2,7\%$ . Степень повреждения гепатоцитов уменьшалась в 1,4 раза (до  $1,9 \pm 0,2$  балла). Указанные данные говорят о значительно меньшей тяжести альтерации печени на клеточном уровне у животных получивших инъекцию КЭП и КЭМ, сравнительно с контролем. На этом фоне определялась чётко выраженная регенерация печени. Сравнительно с контролем число двоядерных гепатоцитов возрастало в 2,3 раза (до  $7,6 \pm 0,8\%$ ); в 1,5 раза чаще встречались митозы ( $60,0\%$  случаев). Слабее было выражено повреждение печени на тканевом уровне – в 1,5 и 2,0 раза реже обнаруживались нарушения структуры балок и до-

вотных. Принимая во внимание важную роль дисбаланса иммунной системы в возникновении и развитии алкогольного гепатита [7, 11, 12], можно допустить, что оптимизация её функционирования способна приводить к уменьшению АПП. Каковы механизмы влияния использованных эмбриональных клеток и насколько оно органоспецифично всё ещё не известно. Эффективность применения КЭП и КЭМ может быть обусловлена как влиянием биологически активных веществ, способных включаться в метаболические процессы, а также стимулировать репарацию в повреждённых тканях, так и прямой органозаместительной функцией вводимых клеток. Что касается специфичности воздействия, то с одной стороны вполне логичным представляется тропность донорских клеток к «своему» органу, с другой – и КЭП, и КЭМ богаты полифункциональными белково-пептидными регуляторами, поэтому нельзя исключить влияние последних одновременно на печень и головной мозг. Кроме того, вполне вероятно, что улучшению морфологической картины печени может в известной степени способствовать нормализация нейротрофической регуляции. Нельзя исключить, что стимуляция системы мононуклеарных фагоцитов наступает именно вследствие улучшения состояния головного мозга. Для получения ответов на эти вопросы необходимо изучить влияние совместного внутривенного введения КЭП и КЭМ на состояние головного мозга, а также проследить

лек. Резко улучшалась печёночная гемодинамика, расширение и полнокровие центральных вен отмечалось лишь в 10% наблюдений, что в 8,0 раз меньше аналогичного показателя у животных контрольной группы. Эти результаты согласуются с данными наших предыдущих исследований, где было показано стимулирующее влияние совместного внутривенного введения КЭП и КЭМ на процессы репарации печени при её алкогольном поражении – уменьшение продолжительности гексеналового сна, повышение концентрации альбумина в плазме крови [1]. Особого внимания заслуживает рост в 1,6 раза по сравнению с контролем содержания ЗРЭЦ в синусоидных капиллярах печени (до  $50,9 \pm 7,1\%$ ). Это чётко свидетельствует о регенерации системы мононуклеарных фагоцитов, наступившей после совместного внутривенного введения КЭП и КЭМ. Следовательно, можно говорить об их стимулирующем влиянии на репаративные процессы иммунной системы, скомпрометированные длительной алкоголизацией судьбу донорских клеток в организме реципиента.

Полученные результаты указывают на

выраженную терапевтическую эффективность совместного внутривенного введения КЭП и КЭМ, которая проявляется улучшением структуры печени, повреждённой алкоголем и его метаболитами, на клеточном и тканевом уровнях, активацией регенераторного потенциала органа, нормализацией печёночной гемодинамики, стимуляцией системы мононуклеарных фагоцитов.

## **ВЫВОДЫ**

1. Совместное внутривенное введение КЭП и КЭМ животным с алкогольным поражением печени приводит к уменьшению деструктивных процессов в ткани органа, стимуляции пролиферативной активности и регенерации гепатоцитов, нормализации кровотока, активации системы мононуклеарных фагоцитов.
2. Терапевтический потенциал КЭП и КЭМ при алкогольном поражении печени может реализоваться не только путём стимуляции регенеративных свойств гепатоцитов, а и через репаративное и стимулирующее влияние на иммунную систему, поскольку под их влиянием стимулируется увеличение количества ЗРЭЦ.
3. Результаты исследования могут служить экспериментальным обоснованием для разработки новых методов лечения АПП.

Перспективним направленням дальніших досліджень являється вивчення впливу спільного внутрішньовенного введення

КЭП і КЭМ на стан головного мозку, а також вивчення долонських клітин в організмі реципієнта.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ковалев Г. А. // Від фундаментальних досліджень до медичної практики: Матеріали Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених і спеціалістів (16 листопада 2005 р.). -Харків. - 2005. - С. 71.
2. Ковалев Г. А., Петренко А.Ю.// Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. Серія «Медицина».- 2004. - № 617. - Вип. 8. - С.14-18.
3. Кухарчук А.Л., Радченко В.В., Сирман В.М. Стволовые клетки: эксперимент, теория, клиника. Эмбриональные, мезенхимальные, нейральные и гемопоэтические стволовые клетки. -Черновцы: Золоті литаври. - 2004. - 505 с.
4. Литвинов Н. Н., Герасимова З. Н., Вепринцев Д. Б., Логинова Е. В. // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 1991. - Т. СХІ. - № 4. - С. 425-427.
5. Основы гистологии и гистологической техники. / Под. ред. В. Г. Елисеєва. - М.: Медицина. - 1967. - 286 с.
6. Пат. України 110В,У7А61В10/00. Спосіб диференційованої оцінки ступеня ушкодження гепатоцитів при хронічному отруєнні алкоголем / Т. П. Якімова, Г. О. Ковальов; ХМАПО. – Заявл. 18.04.2005; Опубл. 15.12.2005; Бюл. №12.
7. Харченко Н.В., Родонежская Е.В. // Сучасна гастроентерологія. - 2004. - Том.18. - № 4. - С. 5-12.
8. Ben-Hur T., Idelson M., Khaner H., et al. // Stem Cells. - 2004. - Vol. 22. - № 7. - P. 1246-1255.
9. Bongso A., Richards M. // Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol. - 2004. - Vol.18. - № 6. - P. 827-842.
10. Jantunen E., Luosujarvi R. // Ann Med. - 2005. - Vol.37. - № 7. - P. 533-541.
11. Sougioultzis S., Dalakas E., Hayes P, et al. // Curr Med Res Opin. - 2005. - V. 21. - № 9. - P. 1337-1346.
12. Yokoyama H., Ishii H., Nagata S. et al. // Hepatology. - 1993. - V. 17. - № 1. - P. 14-19.

## ВПЛИВ СУМІСНОГО ВВЕДЕННЯ ЕМБРІОНАЛЬНИХ КЛІТИН ПЕЧІНКИ І ГОЛОВНОГО МОЗКУ НА ВАЖКІСТЬ АЛКОГОЛЬНОГО УРАЖЕННЯ ПЕЧІНКИ

О.Ю. Петренко<sup>2</sup>, Б.П. Сандомирський<sup>2</sup>, Т.П. Якімова<sup>1</sup>, Г.О. Ковальов<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

<sup>2</sup>Інститут проблем кріобіології і кріомедицини НАН України, м. Харків, Україна

#### РЕЗЮМЕ

Вивчали вплив сумісного введення клітин ембріональної печінки (КЕП) і клітин ембріонального головного мозку (КЕМ) на важкість алкогольного ураження печінки щурів. Показано що внутрішньовенна ін'єкція КЕП і КЕМ призводить до поліпшення структури печінки на клітинному і тканинному рівнях, стимуляції проліферативної активності і регенерації гепатоцитів, нормалізації печінкової гемодинаміки, активації системи мононуклеарних фагоцитів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** клітини ембріональної печінки, клітини ембріонального головного мозку, алкогольне ураження печінки

## INFLUENCE OF SIMULTANEOUSLY INJECTION OF EMBRYONIC CELLS OF LIVER AND BRAIN ON SEVERITY OF ALCOHOL INDUCED HEPATIC INJURY

A.Yu. Petrenko<sup>2</sup>, B.P. Sandomirskiy<sup>2</sup>, T.P. Yakimova<sup>1</sup>, G.A. Kovalyov<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine.

<sup>2</sup>Institute for Problems of Cryobiology and Cryomedicine of the National Academy of Sciences of the Ukraine, Kharkov

#### SUMMARY

Influence of simultaneously injection of cells of embryonic liver (CEL) and cells of embryonic brain (CEB) on severity of alcohol induced hepatic injury in rats was studied. It is shown that the intravenous injection of CEL and CEB leads to the improvement the structures of liver at a cellular and tissue level, stimulation of proliferation and regeneration of hepatocytes, normalization of blood flow, activating of the system of mononuclear phagocytes.

**KEY WORDS:** cells of embryonic liver, cells of embryonic brain, alcohol induced hepatic injury

УДК: 616.74-009.17-036.18-06:616.438-091.8

## ОСОБЕННОСТИ ПОРАЖЕНИЯ ТИМУСА И КРИТЕРИИ ДО- И ПОСЛЕОПЕРАЦИОННОГО ПРОГНОЗА ТИМЭКТОМИИ У ЖЕНЩИН С ГЕНЕРАЛИЗОВАННОЙ МИАСТЕНИЕЙ

*Н.А. Ремнева, Е.С. Проценко*

Харьковский Национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

### РЕЗЮМЕ

Впервые изучены особенностей поражения тимуса женщин с генерализованной миастенией, протекающей на фоне атрофии и гиперплазии тимуса с дальнейшей разработкой критериев до- и после операционного прогноза тимэктомии. Установлено, что генерализованная миастения (ГМ) у женщин протекает на фоне атрофии тимуса (ГМАТ) с прогрессирующей тимической (супрессорной) недостаточностью или на фоне гиперплазии (ГМГТ) с тимической гиперактивностью и эти морфологические проявления ГМ в вилочковой железе имеют различный патогенез. Критериями неэффективности тимэктомии при ГМ следует считать атрофию тимуса, абсолютный дефицит Т-супрессоров в паренхиме тимуса и сыворотке крови, дефицит IgG и IgA в сыворотке крови.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** тимус, миастения, тимэктомия

Миастения – это аутоиммунное нервно-мышечное заболевание из группы антительных болезней рецепторов, проявляющееся слабостью и патологической утомляемостью перечно-полосатых мышц. Женщины заболевают миастенией в 1,5-2 раза чаще мужчин [1, 5, 6, 8, 12]. Развитие аутоиммунного процесса связывают с дисфункцией тимуса [3]. При миастении отмечают нарушения как клеточного, так и гуморального иммунитета [5]. На основании проведенного статистического анализа заболеваемости миастенией в Харьковском регионе за периоды 1990-2005 гг. [7], анализа историй болезни и биопсийного материала, отмечено, что генерализованная миастения (ГМ) у женщин протекала на фоне либо атрофии, либо гиперплазии тимуса, причем, клинически, иммунологически, морфологически, иммуногистохимически они имели существенные отличия. Положительный эффект тимэктомии, по данным литературы, дает лишь в 60-70% случаев [2, 9, 10, 11]. Объяснения как положительного, так и отрицательного эффектов тимэктомии на сегодняшний момент в отечественной и зарубежной литературе нет, равно как и нет критериев до- и после операционного прогноза тимэктомии.

Целью настоящего исследования является изучение особенностей поражения тимуса женщин с генерализованной миастенией, протекающей на фоне атрофии и гиперплазии тимуса с дальнейшей разработкой критериев до- и после операционного прогноза тимэктомии.

Работа выполнена в рамках НИР «Изучение гетерогенности метаболических и иммунных нарушений и проведение их коррекции до и после тимэктомии у больных ми-

поперечно-полосатых мышц [4, 13]. В основе миастении лежат блокада и повреждение аутоантителами ацетилхолиновых рецепторов (АХР) постсинаптической мембраны постастенией», № госрегистрации 0105U000895.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Настоящее исследование основано на изучении историй болезни, показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови и биопсий удаленных тимусов у женщин, с клинически подтвержденной генерализованной миастенией (ГМ) и тимусов женщин групп контроля.

Статистический материал собран в период с 1990 по 2007 гг. в Харьковском НИИ общей и неотложной хирургии АМН Украины и Харьковском областном бюро судебно-медицинской экспертизы.

В первую исследуемую группу ( $M_1$ ) вошли 25 биоптатов тимусов женщин с ГМ, протекающей на фоне атрофии тимуса (ГМАТ). Вторую исследуемую группу составили 27 биоптатов тимусов женщин с ГМ, протекающей на фоне гиперплазии тимуса (ГМГТ). В третью исследуемую группу вошли 25 исследований показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови женщин с ГМ, протекающей на фоне атрофии тимуса (ГМАТ) до и на 8-е сутки после тимэктомии. В четвертую исследуемую группу вошли 27 исследований показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови женщин с ГМ, протекающей на фоне гиперплазии тимуса (ГМГТ) до и на 8-е сутки после тимэктомии. Контрольные группы (группы сравнения)  $K_1$ ,  $KP_1$  и  $K_2$ ,  $KP_2$  для каждой исследуемой группы ( $M_1$ ,  $MK_1$  и  $M_2$ ,  $MK_2$ ) отдельные, поскольку

тимус в разные возрастные периоды имеет определенные морфологические особенности (в связи с возрастной инволюцией) и иммунный статус с возрастом претерпевает изменения, а разница в возрастных периодах групп М<sub>1</sub>, МК<sub>1</sub> и М<sub>2</sub>, МК<sub>2</sub> составляет 14,5 лет (средний возрастной период групп М<sub>1</sub>, МК<sub>1</sub> составляет – 38,2 лет, а групп М<sub>2</sub>, МК<sub>2</sub> – 23,7 лет), что при взятии одной, «усредненной» по возрастному критерию группы контроля, не позволило бы адекватно оценить иммунологические изменения в крови и морфологические изменения в тимусах женщин, больных ГМ и привело бы к недостоверным результатам. Поэтому, в группы К<sub>1</sub>, КР<sub>1</sub> и К<sub>2</sub>, КР<sub>2</sub> включали соответствующие возрастному периоду групп М<sub>1</sub>, МК<sub>1</sub> и М<sub>2</sub>, МК<sub>2</sub>, исследования биоптатов тимуса соматически здоровых женщин, скоропостижно скончавшихся от несовместимых с жизнью механических травм (группы К<sub>1</sub> и К<sub>2</sub> по 10 случаев наблюдения соответственно) и исследования показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови соматически здоровых женщин-доноров, которые, предшествующие забору крови 6 месяцев, ничем не болели лином и эозином, пикрофуксином по методу ван Гизон, по методу Маллори, импрегнация серебром по Футу), гистохимических (ШИК-реакция, метод Браше и Фельгена-Россенбека) окрасок, цитофотометрическим и морфометрическим методами.

Каждый исследуемый случай подвергался обзорной микроскопии, при которой оценивался общий характер строения железы, степень гиперплазии или атрофии, особенности стромального и паренхиматозного компонентов, наличие или отсутствие возрастных изменений, наличие или отсутствие вторичных изменений (кровоизлияния, некроз, воспаление), состояние микроциркуляторного русла.

Окраской по Браше оценивали содержание РНП в цитоплазме эпителиальных клеток тимуса. Контролем служил раствор кристаллической рибонуклеазы при температуре 37°C. Методом Фельгена – Россенбека определяли содержание ДНП в ядрах лимфоцитов и эпителиальных клеток (контролем служила реакция гидролиза с HCl) [57].

Цитофотометрическим методом определяли оптическую плотность содержания ДНП и РНП ядер лимфоцитов, эпителиальных клеток и цитоплазмы эпителиальных клеток в зеленой части спектра на срезах, обработанных данными гистохимическими методами. В каждом наблюдении изучалось по 3-5 случайно выбранных поля зрения.

Для выяснения взаимоотношений между стромой и паренхимой в тимусах различных

(группы КР<sub>1</sub> и КР<sub>2</sub> по 10 случаев наблюдения соответственно).

Анализировались из историй болезни показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета до и после тимэктомии, при этом обращалось внимание на количество Т- и В-лимфоцитов, Т-хелперов, Т-супрессоров, циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК), IgG, IgA, IgM и показатели лимфотоксичности на левамизол *in vitro* (для оценки уровня аутоиммунных антител).

Для морфологического исследования из тимусов вырезались кусочки из трех зон. Кусочки фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина. Затем материал подвергался стандартной проводке через спирты увеличивающейся концентрации, жидкость Никифорова (96% спирт и диэтиловый эфир в соотношении 1:1), хлороформ, после чего заливался парафином. Из приготовленных таким образом блоков делались серийные срезы толщиной 4-5 мкм.

Морфологически тимус изучался с использованием гистологических (гематокси-

исследуемых групп определялся средний объем паренхимы, ее компонентов и стромы. Из всех существующих морфо- и стереометрических методов оценки удельных и абсолютных объемов различных структурных составляющих органа наиболее объективен, информативен и эффективен метод «полей». Анализ на плоскостных препаратах проводили следующим образом. На поверхность изображения накладывали сетку с решеткой, имеющей равноудаленные точки (в нашем исследовании использовалась сетка Автандилова из 100 точек) и производили дифференциальный подсчет точек, приходящийся отдельно на каждую структурную составляющую органа. Нужного числа подсчетов точек для получения достоверных данных в 95% доверительном интервале достигали повторными наложениями решетки на различные поля зрения. В данной работе в каждом исследуемом препарате было произведено по три наложения. При этом для оценки кровоснабжения отдельно определялся удельный вес площади, занимаемой сосудами.

Комплекс гистологических, морфометрических, стереометрических и цитофотометрических исследований проводился на микроскопе Olympus DR-Soft (Version 3:1) [45].

Имуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах, толщиной 5-6 мкм непрямым методом Кунса по методике Brosman. Для определения степени зрелости и принадлежности лимфоцитов к той или иной субпопуляции проводили ис-

следование с МКА к CD 22, CD 3, CD 4, CD 8, CD 7, Thy-1, поверхностные рецепторы к которым они экспрессируют. Апоптоз изучали с помощью МКА к CD 95, эпителиальные клетки – с помощью МКА к HLA-DR, а клетки, которые продуцируют эндотелин-1, выявляли при помощи МКА к эндотелину-1 (фирма-изготовитель МКА – Novocastra Laboratories Ltd, UK). В качестве люминесцентной метки использовали F (ab)-2 – фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных ФИТЦ. Препараты изучали в люминесцентном микроскопе МЛ-2 с использованием светофильтров: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Интенсивность свечения определяли на микрофлюориметре с ФЭУ-35 и обозначали в условных единицах, которые равняется току, проходящего через измерительный прибор в микроамперах (мкА).

Послеоперационный катамнез исследовали через 1 год после тимэктомии, при этом выделяли следующие варианты исхода: А – значительно улучшение/полное выздоровление; Б – незначительно улучшение; В – отсутствие эффекта/ухудшение состояния здо-

ровья.

Весь полученный в результате проведенного морфометрического, стереометрического и цитофотометрического исследований цифровой массив данных обрабатывался методами математической статистики с помощью пакета стандартных программ Statgraphics.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализируя данные показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови женщин с ГМАТ и ГМГТ до и после тимэктомии, следует отметить, что между ними имеются существенные отличия (табл. 1, 2).

Резюмируя выше изложенные данные показателей клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови женщин с ГМ, следует сказать, что ГМАТ характеризуется дефицитом Т-супрессоров, IgG, IgA, снижением показателей Т-хелперов, ЦИК, IgM и повышением показателей В-лимфоцитов и лимфоцитотоксичности на левамизол *in vitro*.

Таблица 1  
Показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови женщин с ГМАТ и группы контроля (M±m)

Показатель	КР <sub>1</sub>	МК <sub>1</sub>	
		До тимэктомии	После тимэктомии
В-лимфоциты (%)	19±0,86	38,0±1,72 <sup>^</sup>	26,4±1,2* "
Т-лимфоциты (%):			
Т-хелперы	52,4±2,3	4 2,3±1,92 <sup>^</sup>	39,8±1,8 "
Т-супрессоры:	12,2±0,55		
- 18 случаев		0,8±0,03 <sup>^</sup>	0,2±0,009* "
- 7 случаев		5,2±0,23 <sup>^</sup>	5,1±0,23 "
ЦИК (общий) (ЕД)	54,29±2,46	35,29±1,6 <sup>^</sup>	27,23±1,23 * "
Лимфоцитотоксичность на левамизол <i>in vitro</i> (%)	1,2±0,05	39,2±1,78 <sup>^</sup>	14,5±0,65* "
IgG (г/л)	12,8±0,58	3,8±0,17 <sup>^</sup>	4,1±0,18 "
IgA (г/л)	3,3±0,15	0,2±0,009 <sup>^</sup>	0,4±0,01* "
IgM (г/л)	1,9±0,08	1,3±0,05 <sup>^</sup>	1,4±0,06 "

\* P<0,05 после тимэктомии по сравнению с аналогичными показателями до тимэктомии в группе МК<sub>1</sub>.

<sup>^</sup> P<0,05 до тимэктомии по сравнению с показателями группы контроля КР<sub>1</sub>.

"P<0,05 после тимэктомии по сравнению с показателями группы контроля КР<sub>1</sub>.

Таблица 2  
Показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови женщин с ГМГТ и группы контроля (M±m)

Показатель	КР <sub>2</sub>	МК <sub>2</sub>	
		До тимэктомии	После тимэктомии
В-лимфоциты (%)	22,2±0,8	42,2±1,9 <sup>^</sup>	35±1,5* "
Т-лимфоциты (%):			
Т-хелперы	55,2±2,4	42,2±1,91 <sup>^</sup>	49,8±2,25* "
Т-супрессоры:	12,8±0,57	6,5±0,24 <sup>^</sup>	7,4±0,33* "
ЦИК (общий) (ЕД)	62,38±2,82	38,39±1,7 <sup>^</sup>	44,1±1,9* "
Лимфоцитотоксичность на левамизол <i>in vitro</i> (%)	1,1±0,03	42,3±1,9 <sup>^</sup>	21,3±0,9* "
IgG (г/л)	12,4±0,56	11,8±0,52	10,1±0,44
IgA (г/л)	3,2±0,14	3,1±0,13	3,0±0,07
IgM (г/л)	1,7±0,07	1,75±0,06	1,62±0,06

\* P<0,05 после тимэктомии по сравнению с аналогичными показателями до тимэктомии в группе МК<sub>2</sub>.

<sup>^</sup> P<0,05 до тимэктомии по сравнению с показателями группы контроля КР<sub>2</sub>.

"P<0,05 после тимэктомии по сравнению с показателями группы контроля КР<sub>2</sub>.

ГМГТ характеризуется повышением уровня В-лимфоцитов, лимфоцитотоксичности

на левамизол *in vitro*, умеренным снижением Т-хелперов, Т-супрессоров, ЦИК. Фракции



иммуноглобулинов А, G, М не претерпевают значительных изменений.

Таким образом, ГМАТ протекает на фоне выраженной иммунной (гуморальной и тимической) недостаточности, а ГМГТ, наоборот, протекает в условиях тимической и гу-

моральной гиперактивности.

Объемы стромального (с объемом сосудов в том числе) и паренхиматозного компонентов тимусов при ГМАТ и ГМГТ и групп контроля также имели отличия (табл. 3).

Таблица 3

**Объемы стромального (с объемом сосудов в том числе) и паренхиматозного компонентов тимусов при ГМАТ и ГМГТ и групп контроля (M±m)**

Компоненты (%)	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
Стромальный	39,6±3,9	33,9±2,6	46,4±2,3 *	31,1±1,7 ^
Паренхиматозный	60,4±5,2	66,1±6,4	53,6±2,3 *	68,9±2,7 ^
Сосудистый	7,02±1,3	7,04±1,3	6,9±1,1	7,6±1,2 ^

\* P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>1</sub>.

^ P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>2</sub>.

Как видно из табл. 3, в тимусах женщин с ГМАТ (группа M<sub>1</sub>), объем паренхиматозного компонента достоверно снижен по сравнению с контрольной группой в 1,12 раза, а стромального, наоборот, достоверно повышен в 1,17 раза. Объем сосудистого компонента в тимусах женщин с ГМАТ достоверно снижен, что говорит о тенденции к редукции сосудистого русла. В тимусах женщин с ГМГТ (группа M<sub>2</sub>), в отличие от тимусов женщин с ГМАТ, объем паренхиматозного и сосудистого компонентов достоверно повышены в 1,04 раза и 1,07 раза соответственно, а стромального, наоборот, достоверно снижен в 1,09 раза.

Таким образом, в тимусах женщин при ГМАТ, по сравнению с тимусами контрольной группы, увеличен объем стромального и снижены объемы паренхиматозного и сосу-

дистого компонентов, что говорит об атрофии и склерозе тимуса. При ГМ тяжелой степени тяжести по сравнению с тимусами контрольной группы, наоборот, наблюдается уменьшение стромального и увеличение паренхиматозного и сосудистого компонентов, что говорит о гиперплазии и дополнительной васкуляризации гиперплазированного тимуса.

Анализируя данные объемов компонентов паренхимы тимусов групп контроля и тимусов женщин при ГМАТ и ГМГТ (табл. 4), следует отметить, что при ГМАТ в тимусах, вопреки органометрическим и морфометрическим показателям, которые указывают на атрофию тимусов, объем паренхимы увеличен по сравнению с тимусами контрольной группы.

Таблица 4

**Объемы компонентов паренхимы тимуса при ГМАТ и ГМГТ и тимусов групп контроля (M±m)**

Компоненты паренхимы тимуса	Объем см <sup>3</sup> (средний показатель)			
	K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
Паренхима	6,9±0,31	7,2±0,32	8,04±0,36*	35,8±1,6^
Кора	6,2±0,23	6,5±0,24	2,3±0,1*	17,9±0,7^
ВПП	1,5±0,06	1,57±0,06	2,1±0,09*	17,1±0,73^
Светлые центры лимфоидных фолликулов	-	-	0,2±0,009	1,4±0,06
Тельца Гассалья	0,28±0,01	0,29±0,01	0,13±0,005*	0,3±0,06
Паренхима с ВПП	8,4±0,38	8,8±0,39	10,14±0,47*	52,9±0,47^

\* P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>1</sub>.

^ P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>2</sub>.

Этот факт объясняется тем, в тимусах женщин с ГМАТ объем паренхимы увеличен за счет расширения ВПП и появления в их пределах лимфоидных фолликулов со светлыми герминативными центрами, что и создает впечатление гиперплазии паренхиматозного компонента. Но, при этом, объем коркового слоя в тимусах с ГМГТ резко снижен вплоть до полного отсутствия коркового слоя, по сравнению с тимусами контрольной группы, что говорит об атрофии истинной паренхимы тимуса, несмотря на повышение показателей объема паренхимы в целом.

Как видно из табл. 4, объем паренхимы тимусов женщин с ГМАТ (группа M<sub>1</sub>), достоверно повышен по сравнению с контрольной группой в 1,16 раза, объем ВПП – в 1,4 раза, а суммарный объем паренхимы и ВПП – в 1,23 раза; объем коры, наоборот, достоверно снижен по сравнению с контролем в 2,7 раза.

Объем паренхимы тимусов женщин с ГМГТ (группа M<sub>2</sub>) достоверно повышен по сравнению с контролем в 4,97 раза, объем коры – в 2,75 раза, объем ВПП – в 10,8 раза, а суммарный объем паренхимы и ВПП – в 5,95 раз.

Таким образом, в тимусах женщин с ГМГТ отмечается гиперплазия истинной паренхимы, в отличие от ГМАТ, при которой в тимусах женщин, наоборот, отмечается атрофия.

Данные оптической плотности хроматина (ДНП) ядер и РНП цитоплазмы эпителиальных клеток тимусов женщин с ГМ и тимусов женщин групп контроля (табл. 5, 6).

Таблица 5

**Оптическая плотность хроматина (ДНП) ядер эпителиальных клеток тимусов женщин с ГМ и тимусов женщин групп контроля (M±m)**

K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
2,035±0,09	2,065±0,09	2,854±0,08*	2,044±0,08

\* P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>1</sub>.

Таблица 6

**Оптическая плотность РНП в цитоплазме эпителиальных клеток тимусов женщин с ГМ и тимусов женщин групп контроля (M±m)**

K <sub>1</sub>	K <sub>2</sub>	M <sub>1</sub>	M <sub>2</sub>
1,977±0,089	1,937±0,087	1,138±0,079*	2,235±0,009 ^

\* P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>1</sub>.

^ P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>2</sub>.

Как видно из табл. 5 и 6, в тимусах женщин с ГМАТ (группа M<sub>1</sub>), оптическая плотность хроматина (ДНП) ядер эпителиальных клеток достоверно повышена по сравнению с контролем K<sub>1</sub> в 1,4 раза, а оптическая плот-

ность РНП цитоплазмы эпителиальных клеток, наоборот, достоверно снижена в 1,7 раза. Повышение ДНП в ядре и понижение РНП в цитоплазме эпителиальных клеток свидетельствует о снижении их морфо-

функциональной активности [76]. В тимусах женщин с ГМГТ (группа M<sub>2</sub>), оптическая плотность хроматина (ДНП) ядер эпителиальных клеток недостоверно снижена по сравнению с контролем в 1,01 раза, а оптическая плотность РНП цитоплазмы эпителиальных клеток, наоборот, достоверно повышена в 1,15 раза. Понижение ДНП в ядре и

повышение РНП в цитоплазме эпителиальных клеток свидетельствует о повышении их морфо-функциональной активности.

Данные иммуногистохимического исследования тимусов женщин группы контроля K<sub>1</sub> и тимусов женщин с ГМАТ группы M<sub>1</sub> представлены в табл. 7.

Таблица 7

**Относительные объемы основных клонов иммунных клеток в тимусах женщин с ГМ средней степени тяжести (группа M<sub>1</sub>) и группы контроля K<sub>1</sub> (M±m)**

Клоны иммунных клеток тимусов	Группы сравнения (M ± m) (%)	
	K <sub>1</sub>	M <sub>1</sub>
CD 22	2,15±0,17	12±1,89*
CD 3	67,9±1,7	43±1,33*
CD 4	22±1,1	26±1,13*
CD 8	47±1,12	18,02±1,46*
CD 7	70±2,58	41,9±1,24*
Thy-1	3,82±0,07	2,2±0,12*
HLA-DR	1,25±0,02	0,98±0,11*

\* P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>1</sub>.

Как видно из табл. 7, в исследуемой группе M<sub>1</sub> отмечается достоверный дефицит тимоцитов, несущих на своей поверхности маркеры CD 3 (снижены по сравнению с контролем в 1,57 раза), CD 8 (снижены в 2,6 раза), CD 7 (снижены в 1,67 раза), Thy-1 (снижены в 1,73 раза). При этом отмечается достоверное увеличение В-лимфоцитов, несущих на своей поверхности маркер CD 22 в 5,58 раза, Т-хелперов (CD 4) – в 1,18 раза.

Иммунорегуляторный индекс в группе контроля K<sub>1</sub> составил 0,46, а в группе M<sub>1</sub> – 1,44, при этом увеличение этого индекса у женщин с ГМ группы M<sub>1</sub> происходит за счет увеличения Т-хелперов (CD 4).

Данные иммуногистохимического исследования тимусов женщин группы контроля K<sub>2</sub> и тимусов женщин с ГМГТ группы M<sub>2</sub> представлены в табл. 8.

Таблица 8

**Относительные объемы основных клонов иммунных клеток в тимусах женщин с ГМ тяжелой степени тяжести (группа M<sub>2</sub>) и группы контроля K<sub>2</sub> (M±m)**

Клоны иммунных клеток тимусов	Группы сравнения (M ± m) (%)	
	K <sub>2</sub>	M <sub>2</sub>
CD 22	6,0±0,2	29,15±1,26*
CD 3	79±2,35	85,7±3,6*
CD 4	28±2,21	49±2,61*
CD 8	59,7±2,79	26±2,8*
CD 7	72,5±3,7	80,89±3,81*
Thy-1	6,4±0,42	9,32±0,3*
HLA-DR	2,73±0,33	4,35±0,1*

\* P<0,05 по сравнению с аналогичным показателем группы контроля K<sub>2</sub>.

Как видно из табл. 8, в исследуемой группе M<sub>2</sub> наблюдается достоверное снижение Т-супрессоров (CD 8) по сравнению с контролем K<sub>2</sub> в 2,29 раза и достоверное увеличение всех остальных клонов иммунных клеток тимусов по сравнению с контрольной группой – CD 22 в 4,85 раза, CD 3 – в 1,08 раза, CD 4 – в 1,75 раза, CD 7 – в 1,1 раза, Thy-1 – в 1,45 раза. Иммунорегуляторный индекс в группе контроля K<sub>2</sub> составил 0,47, а в группе M<sub>2</sub> – 1,88, при этом увеличение этого индекса у женщин с ГМ группы M<sub>2</sub> происходит за счет увеличения Т-хелперов (CD 4).

Анализируя результаты тимэктомии у женщин с ГМ по иммунологическим показателям

на 8-ой день и по клиническим через год после нее, следует отметить, что при ГМАТ показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета не претерпевали существенных изменений, а через год большинство женщин отмечало отсутствие положительной динамики в состоянии здоровья. При ГМГТ показатели клеточного и гуморального звеньев иммунитета в крови женщин на 8-й день после тимэктомии, наоборот, был в состоянии нормализации, а через год большинство женщин отмечало значительное улучшение состояния здоровья (рис.).

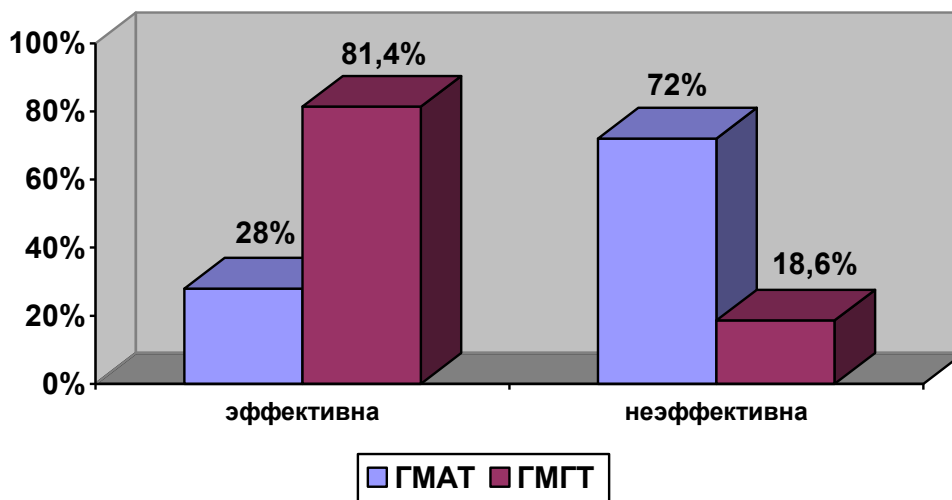


Рис. Эффективность тимэктомии при ГМАТ и ГМГТ

## ВЫВОДЫ

В результате комплексного исследования биоптатов тимусов, полученных от женщин из ГМ, с использованием морфологического, гистохимического, иммуногистохимического, цитофотометрического и статистического методов, впервые выявленные морфофункциональные отличия тимусов женщин из ГМ. Установлено, что ГМ у женщин протекает на фоне атрофии тимуса (ГМАТ) с прогрессирующей тимической (супрессорной) недостаточностью или на фоне гипер-

плазии (ГМГТ) с тимической гиперактивностью и эти морфологические проявления ГМ в вилочковой железе имеют различный патогенез. Впервые выявлена взаимосвязь между морфологическими изменениями тимуса, иммунологическими изменениями в крови и результатами тимэктомии. ГМАТ характеризуется дефицитом Т-супрессоров, IgG, IgA, снижением показателей Т-хелперов, ЦИК, IgM и повышением показателей В-лимфоцитов и лимфоцитотоксичности на левамизол *in vitro* в сыворотке крови. Тимэктомия при ГМАТ была неэффективной, состояние

здоров'я больних жінок не улучшалося. ГМГТ характеризується підвищенням рівня В-лімфоцитів, лімфоцитотоксичності на левамизол *in vitro*, умереним зниженням Т-хелперів, Т-супресорів, ЦИК в сироватці крові. Фракції іммуноглобулінів А, G, M не претерпевали значительних змін. Тимектомія при ГМГТ була ефективною і приводила до улучшення стану больних.

Критеріями неефективності тимектомії при ГМ слід вважати атрофію тимуса, абсолютний дефіцит Т-супресорів в паренхімі тимуса і сироватці крові, дефі-

цит IgG і IgA в сироватці крові.

На основі цього невропатологам, імунологам і хірургам рекомендовано вивчати різне морфо-функціональне стан виличкової залози при ГМ і, відповідно цьому проводити профілактику, підбирати адекватні методи лікування і прогнозувати результати і цілісність тимектомії. Виявлені зміни і закономірності відкривають нові аспекти і підходи до вивчення генералізованої міастенії.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Гехт Б.М., Санадзе А.Г. // Невролог. журнал. - 2003. - № 8. - прил.1. - С. 8-12.
2. Квиркелия Н.Б. // Груз. мед. новости. - 2001. - № 10. - С. 84-86.
3. Квиркелия Н.Б., Шакаришвили Р. // Груз. журн. Радиологии. - 2001. - №3. - С. 22-25.
4. Климова Е.М. // Биополимеры и клетка. - 2001. - 17. - № 5. - С. 434-440.
5. Ланцова В.Б., Сепп Е.К. // Неврологический журнал. - 2003. - № 8. - прил.1. - С. 49-52.
6. Неретин В.Я., Котов С.В., Гехт Б.М. и др. // Ж. неврол. и психиатрии. - 2002. - №3. - С. 51-53.
7. Проценко Е.С., Ремнева Н.А., Пономарев А.О. // Запорожский мед. журн. - 2007. - № 1. - С. 63-66.
8. Санадзе А.Г., Сиднев Д.В., Давыдова Т.В., др. // Невролог. журнал. - 2003. - № 8. - прил.1. - С. 23-26.
9. Cosi V., Romani A., Lombardi M. et all. // J. Neurol. - 1997. - Sep. 244(9). - P. 548-55.
10. Dural K., Yildirim E., Han S. et all. // J. Cardiovascul. Surg. - 2003. - Vol. 44. - № 1. - P. 125-129.
11. Evoli A., Batocchi A.P., Minisci C. et all. // J. Am. Geriatr. Soc. - 2000. - № 48(11). - P. 1442-1448.
12. Xu Xhian-hao, Wang Hong, Li Zhi-yi, Zhang Hua et all. / International Congress of Immunology, Stockholm, 22-27 July, 2001 // Scand. J. Immunol. - 2001. - Vol. 54. - P.112.

## ОСОБЛИВОСТІ УРАЖЕННЯ ТИМУСА ТА КРИТЕРІЇ ДО- ТА ПІСЛЯОПЕРАЦІЙНОГО ПРОГНОЗУ ТИМЕКТОМІЇ У ЖІНОК З ГЕНЕРАЛІЗОВАНОЮ МІАСТЕНІЄЮ

*Н.О. Ремньова, О.С. Проценко*

Харківський Національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

### РЕЗЮМЕ

Уперше вивчені особливості ураження тимуса жінок з генералізованою міастенією, що протікає на фоні атрофії і гіперплазії тимуса з подальшою розробкою критеріїв до- і після операційного прогнозу тимектомії. Встановлено, що ГМ у жінок протікає на фоні атрофії тимуса (ГМАТ) із прогресуючою тимічною (супресорною) недостатністю або на фоні гіперплазії (ГМГТ) з тимічною гіперактивністю і ці морфологічні прояви ГМ у виличковій залозі мають різний патогенез. Критеріями неефективності тимектомії при ГМ варто вважати атрофію тимуса, абсолютний дефіцит Т-супресорів у паренхімі тимуса і сироватці крові, дефіцит IgG і IgA у сироватці крові.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** тимус, міастенія, тимектомія

## FEATURES OF DEFEAT OF THE THYMUS AND CRITERIA OF BEFORE AND AFTER OPERATING PROGNOSIS OF THYMECTOMY IN WOMEN WITH GENERALIZED MYASTHENIA

*N.A. Remniova, E.S. Protsenko*

V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

### SUMMARY

First studied features of defeat of the thymus in women with generalized myasthenia flowing on a background atrophy and hyperplasia of thymus with further development of criteria of before and after the operating prognosis of thymectomy. It is set that GM in women flows on a background atrophy of thymus with making progress thymical (suppressor) insufficiency or on a background hyperplasia with thymical hyperactivity and these morphological displays GM in a thymus have different pathogenesis. By the criteria of ineffectiveness of thymectomy at GM it is necessary to count atrophy of thymus, absolute deficit of T-suppressor-cell in the parenchyma of thymus and whey of blood, deficit of IgG and IgA, in the whey of blood.

**KEY WORDS:** thymus, myasthenia, thymectomy

УДК: 615.371: 578.832.1

## ПОРІВНЯЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ СТИМУЛЯТОРІВ ІМУННОЇ ВІДПОВІДІ В ЕКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO

О.А. Романова, А.В. Мартинов, Н.І. Ігумнова, Т.А. Сидоренко, В.І. Чернявський,  
М.В. Смілянська, С.Д. Перемот

Інститут мікробіології і імунології імені І.І. Мечникова АМН України, м. Харків, Україна

### РЕЗЮМЕ

З метою пошуку ад'ювантною складовою пероральної антисиньогнійної спліт-вакцини проведено порівняння імуностимулюючої активності тималіну, його ацильованої форми та неспецифічного препарату рослинного походження – глюкорибіну в дослідах in vitro з використанням інтегральних реакцій клітинного імунітету людини і тварин. Найвищий потенціюючий ефект було відмічено у похідного чорної смородини, тоді як у ацильованої форми тималіну він виявився найслабшим.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** імуностимулятори, лімфоцити, клітинний імунітет

Поширеність ускладнень лікарняних інфекцій, незважаючи на наявність нових антисептичних засобів і постійне удосконалення протимікробних препаратів, з новою гостротою становить питання специфічної профілактики шляхом вакцинації. Причиною сучасних гнійно-септичних хірургічних ускладнень найчастіше є грам-негативні бактерії, серед яких переважає (27-39%) *P.aerugi-nosa* [1]. Складність подолання інфекцій, викликаних синьогнійною паличкою, обумовлена її множинною антибіотикорезистентністю і особливостями перебігу інфекційного процесу. Тому створення дієвої вакци-

ни для профілактики синьогнійної інфекції на сьогоднішній день мало б вирішальне значення для упередження гнійно-септичних ускладнень після хірургічних або діагностичних інвазивних втручань.

В рамках науково-дослідної роботи Інституту «Ацильовані похідні білків та полісахаридів антигену синьогнійної палички, розробка на їх основі вакцини» (№ держреєстрації 0106U003265) в лабораторії імунореабілітології розробляється антисиньогнійна спліт-вакцина. Метою даного дослідження було порівняльне вивчення імуностимулюючих можливостей ряду препаратів специфічної та неспецифічної дії (тималіну [2], ацильованого тималіну, синтезованого за методом [3], та глюкорибіну – препарату чорної смородини [4]) як потенційних складових антисиньогнійної вакцини з ад'ювантними властивостями.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В експериментах in vitro, що відображають інтегральні реакції клітинного імунітету, були використані тимоцити щурів-самців

лінії Wistar та лімфоцити периферичної крові здорових донорів-людей.

*Оцінка спонтанної проліферації тимоцитів щурів*

Для отримання клітин тимусу тварин морталізували декапітацією під ефірним наркозом, готували в стерильних умовах на льоду суспензію тимоцитів. Вилучений тимус гомогенізували, отриману клітинну суспензію фільтрували через капроновий фільтр, тричі відмивали у повному культуральному середовищі. Для проведення культивування використовували суспензію з концентрацією  $5 \times 10^6$  кл/мл. Досліджувані препарати додавали до клітинної культури в кількості: тималін та ацильований тималін – по  $280 \times 10^{-7}$  мг/мл, глюкорибін –  $104,5 \times 10^{-5}$  г/мл (в перерахунку на альбумін за методом Флореса). Тимоцити інкубували протягом 3 діб у вологій камері, в атмосфері, збагаченій  $CO_2$ , в повному культуральному середовищі з додаванням і без додавання препаратів. Після закінчення культивування з клітинних суспензій готували препарати-мазки для морфологічного дослідження. В препаратах, пофарбованих за Романовським-Гімза, визначали відсоток лімфобластів по відношенню до загальної кількості лімфоїдних клітин, підраховуючи не менше 250 лімфоїдних клітин на препарат.

*Оцінка експресії рецепторів на Т-лімфоцитах людини і тварин*

Для фенотипування дозрілих Т-лімфоцитів у периферичній крові донорів використо-

ували МКАТ  $CD3^+$ , помічені ФІТЦ. Мононуклеари периферичної крові виділяли за допомогою центрифугування у градієнті густини фікола-верографіна при  $d = 1,077$ . Перед фенотипуванням зразки гепаринізованої периферичної крові інкубували з досліджуваними препаратами протягом 1 години. Ре-

акцію оцінювали на люмінісцентному мікроскопі. Підрахунок здійснювали на 100 лімфоцитів, результат виражали у відсотку клітин, що виявляли люмінісценцію.

Експресію рецепторів до еритроцитів барана на тимоцитах шурів в присутності імуностимуляторів визначали за тестом Е-рокеткоутворення [5]. Перед виконанням реакції виділені тимоцити інкубували з препаратами протягом 1 години. Підраховуючи 200 лімфоцитів, Е-рокеткоутворюючі клітини (Е-РУК) визначали за приєднанням не менше трьох еритроцитів. Результат виражали у відсотку Е-РУК по відношенню до загально-го числа підрахованих лімфоцитів.

В експериментах було досліджено 11 зразків периферичної крові здорових донорів і 13 тимусів шурів.

При статистичному аналізі результатів використовували параметричні методи. Визначали середнє арифметичне ( $\bar{X}$ ) та помилку середнього арифметичного ( $s\bar{X}$ ). Вірогідність різниці між показниками різних груп оцінювали за критерієм Стьюдента і вважали значущою при  $p < 0,05$ .

казало спроможність цього препарату до підвищення активації експресії рецептору дозілих Т-лімфоцитів на 37% у порівнянні із зразками, в які препарат не додавався. При-

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

За оцінки здатності тималіну, ацильованого тималіну та глюкокортибину викликати проліферацію лімфоцитів встановлено, що всі препарати мали здатність достовірно збільшувати мітотичну активність, проте найвищим потенціалом серед них відрізнявся препарат чорної смородини, який майже вдвічі посилював РБТ (табл.). Характерно, що дана речовина спричинювала активацію бластогенезу на 35% вищу, ніж класичний препарат корекції функцій вилочкової залози і Т-системи імунітету – тималін. Що стосується мітогенної дії отриманої шляхом ацилювання нової форми тималіну, вона виявилась найслабшою (~37% перевищення спонтанної проліферації).

Вивчення впливу досліджуваних препаратів на Е-рокеткоутворюючу здатність тимоцитів продемонструвало її підвищення на 35,4% та 39,7% у випадках застосування тималіну і глюкокортибину відповідно, тоді як ацильований тималін не викликав достовірних змін цієї функції клітин. Застосування глюкокортибину в реакції імунофенотипування CD3<sup>+</sup>-лімфоцитів людської крові також по-

сутність у зразках периферичної крові Тималіну або його ацильованої форми достовірних змін експресії CD3<sup>+</sup> не виявила.

Таблиця

Вплив препаратів-імуностимуляторів на реакції клітинного імунітету *in vitro* ( $\bar{X} \pm s\bar{X}$ )

Препарати	Проліферація лімфоцитів, %	Експресія рецепторів до ЕБ, %	Експресія рецепторів CD3 <sup>+</sup> , %
Без препаратів	26,0±2,4	37,5±2,8	49,0±4,0
Тималін	42,5±3,7*	50,8±4,3*	56,1±6,7
Ац. тималін	35,8±2,9*	41,2±4,3	51,3±5,2
Глюкокортибін	51,6±4,5*	52,4±3,9*	67,3±5,8*

\*- достовірність відмінностей у порівнянні з контролем,  $p < 0,05$ .

Таким чином, в результаті експериментів виявилось, що досліджений рослинний препарат неспецифічної дії має достатньо високий імуностимулятивний потенціал у застосованих тестах *in vitro*, що характеризують функції лімфоцитів. Відомо, що Т-лімфоцити є найважливішим елементом кровотворного мікрооточення [6]. Інтерлейкін-3 (ІЛ-3), що продукується активованими Т-лімфоцитами, належить до найбільш ранньодіючих гемопоетинів, які стимулюють процеси проліферації та диференціювання ранніх кровотворних попередників [7]. Окрім цього фактора, Т-лімфоцити також продукують ІЛ-6, ІЛ-7, ГМ-КСФ – цитокіни, що справляють стимулюючий вплив на гемопоез. Через активацію макрофагів та ретикулоцитів, що формують мікрооточення, Т-лімфоцити здатні опосередковано контролювати і регулюва-

ти мієло- та лімфопоез у кровотвірній тканині [8, 9]. Отже, вплив на Т-компаратмент імунітету є надважливим як для стимуляції В-ланки, тобто спрямування проліферації лімфоцитів в бік формування дозрілих В-клітин, так і на активацію кровотворення взагалі, що має неабияке значення для корекції імунної відповіді у поширених випадках наявності імунодефіциту. З цього боку застосування у вакцинації проти синьогнійної інфекції, препарату, стимулюючого клітинну ланку імунітету, є вельми доцільним. Можна припустити, що таким препаратом, після додаткового тестування *in vivo* та *in vitro*, може виявитись глюкокортибін.

## ВИСНОВКИ

1. Неспецифічний препарат рослинного походження глюкокортибін має виражений

- ефект стимуляції клітинних імунних реакцій.
- Отримана шляхом ацилювання нова форма тималіну продемонструвала найнижчу імуностимулюючу здатність

порівняно з тималіном та глюкорибіном, що виключає можливість її потенційного застосування у складі антисиньогнійної вакцини.

#### **ЛІТЕРАТУРА**

- Романова О.А., Смілянська М.В., Городницька Н.І., та ін. // *Аннали Мечниківського Інституту*. - 2006. - №3. - С.4-18.
- Дранник Г.М., Гриневич Ю.Я., Дизик Г.М. Імунотропні препарати. -К.:Здоров'я. - 1994. - С. 61, 269.
- Martynov A.V., Smelyanskaya M.V. // *J. of Interf. & Cytokine res.* - 2005. - Vol.25. - №7. - P. 414-417.
- Савченко В.Н., Яблчанский Н.И., Хворостинка В.Н., Сокол К.М. Лекарственные растения и фитотерапия. -Харьков:Гриф. - 2004. - С. 11, 176.
- Передерий В.Г., Земсков А.М., Бычкова Н.Г., Земсков В.М. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений. -К.:Здоров'я. - 1995. - 210 с.
- Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А. Клеточные основы кроветворного микроокружения. -М.:Наука. - 1980. - 244 с.
- Дыгай А.М., Богдашин И.В., Шерстобоев Е.Ю., и др. // *Иммунология*. - 1991. - № 2. - С. 20-26.
- Дыгай А.М., Шахов В.П. Роль межклеточных взаимодействий в регуляции гемопоэза. - Томск. 1989. - 165 с.
- Натан Д.Г., Зифф К.А. // *Гематол. и трансфузиол.* - 1994. - Т. 39. - № 2. - С. 3-10.

## **СРАВНИТЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ АКТИВНОСТИ СТИМУЛЯТОРОВ ИММУННОГО ОТВЕТА В ЭКСПЕРИМЕНТАХ IN VITRO**

*Е.А. Романова, А.В. Мартынов, Н.И. Игумнова, Т.А. Сидоренко, В.И. Чернявский,  
М.В. Смельянская, С.Д. Перемот*

Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины г. Харьков,  
Украина

---

#### **РЕЗЮМЕ**

С целью поиска адьювантной составляющей антисинегнойной сплит-вакцины проведено сравнение иммуностимулирующей активности тималина, его ацилированной формы и неспецифического препарата растительного происхождения – глюкорибина в экспериментах *in vitro* с использованием интегральных реакций клеточного иммунитета человека и животных. Наиболее высокий потенцирующий эффект был отмечен у производного черной смородины, тогда как у ацилированной формы тималина он оказался наиболее слабым.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** иммуностимуляторы, лимфоциты, клеточный иммунитет

## **COMPARATIVE INVESTIGATION OF IMMUNOPOTENTIATION DRUGS AKTIVITY IN VITRO**

*Е.А. Romanova, A.V. Martynov, N.I. Igumnova, T.A. Sydorenko, V.I. Chernyavsky,  
M.V. Smelyanskaya, S.D. Peremot*

I.I. Mechnykov Institute of Microbiology and Immunology of the Academy of Medical Science  
of Ukraine, Kharkiv

---

#### **SUMMARY**

As ajuvant components of psevdomonas split vaccine were investigated in immunotropic properties of same substances: timaline, it's acylated derivative and vegetable proteoglican glucoribin from *Ribes Nigrum*. In the study were used in human's and animal cell immunologic reactions.

In the results was established high immunotropic effect in glucoribine, but in timaline and it's acylated derivative such effect was minimal.

**KEY WORDS:** immunopotentiating drugs, lymphocytes, cell immunity

УДК: 616 – 092.18 – 008.9:661.177

## ВИЗНАЧЕННЯ СТАНУ ЦИТОПЛАЗМАТИЧНИХ КЛІТИННИХ МЕМБРАН ЗА ДОПОМОГОЮ МЕТОДІВ БІОХЕМІЛЮМІНЕСЦЕНЦІ ТА ФОСФОРЕСЦЕНЦІ

*О.В. Сіренко*

Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна

### РЕЗЮМЕ

Експериментально визначено підвищення рівнів світіння біологічних субстратів, інтенсифікацію фосфоресценції і підвищення змісту 2,4-динітрофенілальдогідрозонів і 2,4-динітрофенілкетогідрозонів в біологічних рідинах і гомогенатах тканин органів білих щурів, які отримували субтоксичні дози органічних сумішей на основі ПЕГ впродовж 45 діб. Отримані дані дозволяють припустити здатність досліджуваних речовин підвищувати щільність білково-ліпідного шару мембрани цитоплазми, інтенсифікувати вільнорадикальні процеси, перекисне окислення ліпідів і білків, змінювати структуру і функцію клітинної мембрани, що негативно впливає на метаболізм.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** поліетиленгліколи, клітинні мембрани, біохемілюмінесценція, фосфоресценція

У теперішній час все більшого значення набуває визначення ролі цитоплазматичних мембран та їх рецепторів у регуляції внутрішньоклітинного метаболізму, особливо мембрани [1]. Зовнішня мембрана клітини будується із полярних ліпідів та білків, які обумовлюють її функцію. Зміни структурних компонентів мембрани під впливом ксенобіотиків можуть обумовлювати виникнення сигналу для функціональної перебудови клітини. Сучасні уявлення про патологічні та донозологічні стани спираються на провідну роль структурно-функціональних одиниць організму у підтриманні динамічної гомеостатичної рівноваги та здатності адаптуватися до змін внутрішнього та навколишнього середовища організму [2]. В основі виникнення багатьох патологічних процесів лежать порушення мембрани та зміни внутрішньоклітинного метаболізму, які можуть виникати під впливом шкідливих хімічних агентів. Цитоплазматичні мембрани відповідають не тільки за регуляцію транспорту речовин, а також і за підтримку міжклітинних контактів шляхом активації рецепторів та специфічних ділянок ідентифікації. Визначення змін структурно-функціонального стану клітинної мембрани є важливим компонентом прогнозування донозологічних та патологічних станів, що виникають внаслідок дії ксенобіотиків [8]. До таких речовин відносяться складні органічні суміші, синтезовані на основі поліетиленгліколів (ПЕГ) різних марок, що широко використовуються у народному господарстві, але дія яких на організм недостатньо визначена. Уточнення патофізіологічних механізмів виникнення структурних та метаболічних змін у клітині під впливом нових хімічних речовин є од-

під впливом екзогенних шкідливих чинників. Інформативною є оцінка функціонального стану клітини шляхом визначення щільності білково-ліпідного шару цитоплазматичної нією з актуальних задач профілактичної медицини. Відомо, що оптимальному рівню інтенсивності метаболізму відповідає конкретна інтенсивність спонтанного світіння біологічних субстратів (БХЛ), що обумовлена вільнорадикальним окисненням ліпідних компонентів клітинних мембран [5]. Здатність до найбільш вираженого світіння належить ліпідам, при цьому для кожного органа або тканини є свої специфічні рівні світіння, що змінюються під впливом різноманітних патогенів, або у разі виникнення структурно-метаболічних порушень клітинної мембрани [5, 7]. Хемілюмінесценція гомогенатів тканин з високою точністю віддзеркалює стан ліпідного шару клітинної мембрани, що забезпечує її гідрофобні властивості та щільність. У той же час, відомо, що різноманітні функції біомембран обумовлені білками, що входять до їх складу [1]. Білки розташовані або на поверхні, або у товщі гідрофобного шару мембрани. Однією з особливостей мембранних білків є підвищений вміст гідрофобних кінцівок амінокислот у порівнянні з гідрофільними. Підвищені рівні активних форм кисню здатні впливати не тільки на ліпідні, а й на білкові структури мембрани, що може суттєво змінити не тільки структуру, але і функцію клітини. Метод фосфоресценції, результати якого добре співвідносяться з результатами електронного парамагнітного резонансу, дозволяє оцінити окислювальну модифікацію білків з високою точністю. Одним з розділів НДР «Наукове обґрунтування біохі-



мічної моделі структурно-метаболических зрушень в організмі внаслідок впливу екологічних чинників як прогностичної основи донологічних станів” (№ 0199V001767) було визначення впливу складних органічних сумішей, синтезованих на основі ПЕГ, на стан цитоплазматичних мембран.

Мета роботи. Визначення структурних змін клітинних цитоплазматичних мембран гомогенатів органів білих щурів, що отримували 1/100 LD<sub>50</sub> органічних сумішей у підго-строуму експерименті, методами біохемілю-мінесценції та фосфоресценції.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експеримент проведено на 95 щурах популяції Вістар (самці, самиці) масою 180±10 г, яким протягом 45 діб щоденно внутрішньошлунково вводили 0,184 г/кг охолоджувальної рідини (ОР-40); 0,16 г/кг гальмівної рідини «Роса» (ГР); 0,117 г/кг гідролічної рідини (ГдР), що дорівнює 1/100 LD<sub>50</sub> цих сумішей. У теперішній час велику увагу привертають наслідки тривалого впливу на організм ксенобіотиків у субтоксичних дозах [2], що і визначило вибір концентрації окиснення білків та їх окислювальну модифікацію оцінювали по інтенсивності фосфоресценції мембран [7] та рівнях утворення альдо- та кетогідразонів [6], за цим же методом визначали структурно-функціональний стан мембран еритроцитів та лімфоцитів.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Динаміка спонтанної, індукованої та люмінолзалежної БХЛ свідчила про підвищення інтенсивності світіння сироватки крові та гомогенатів органів щурів, що отримували органічні суміші (табл. 1). Найбільш виражені відхилення від показників контрольних груп зареєстровані під час оцінки інтенсивності люмінолзалежної хемілюмінесценції сироватки крові (2030-2660 імп/с). Динаміка БХЛ дозволяє припустити здатність досліджуваних органічних сумішей ініціювати вільнорадикальні процеси та збільшення у тканинах рівнів активних форм кисню, що може зашкоджувати білково-ліпідний шар цитоплазматичної мембрани. Активація перекисного окиснення ліпідів спроможна при-

речовин. Основним компонентом усіх багатоскладових органічних сумішей був ПЕГ. Контрольну групу склали інтактні тварини, що отримували 2 мл води на добу. Наприкінці експерименту щурів забивали методом цервікальної дислокації під легким ефірним наркозом. Для аналізу використовували сироватку крові, лімфоцити, еритроцити, гомогенати печінки та нирок. Органи гомогенізували у ручному гомогенізаторі, після чого екстрагували [11]. Показники структурно-функціонального стану цитоплазматичних мембран гомогенатів тканин щурів, що отримували органічні суміші, оцінювали по інтенсивності спонтанної та індукованої H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> та FeCl<sub>3</sub>, люмінолзалежної БХЛ. Зразки біологічного матеріалу термостатували у темновій камері при 37°C, після чого виміряли власну інтенсивність світіння сироватки крові і гомогенатів та індуковану перекисом водню, реєструючи спалахи світіння та кінетику реакції протягом 1,5-3 хвилин. Дослідження виконували на медичному біохемілюміномітрі БХЛМЦ 1-01. Перекисне

вести до виникнення структурно-метаболических порушень клітинної мембрани та функції клітини. Відомо, що більшість мембранних білків у разі пошкодження ліпідів втрачають ферментативну активність [8]. Тому для підтримання повноцінної функції мембранних інтегративних білків необхідне гідрофобне ліпідне оточення. Крім того, функціональна активність мембран визначається співвідношенням катаболічних та анаболічних процесів інтегративних білків, їх необхідною конформацією та розташуванням у відповідній послідовності, що забезпечує послідовне протікання метаболических реакцій. У цьому аспекті можна припустити, що підвищення кількості перекисів та гідроперекисів, пов'язане із збільшенням рівнів збуджених електронних станів, може впливати на процеси окислювальної модифікації білків цитоплазматичної мембрани. Таке припущення добре співвідноситься з отриманими результатами дослідження фосфоресценції сироватки крові щурів (табл. 2).

Таблиця 1  
Динаміка БХЛ сироватки крові та гомогенатів органів щурів, що одержували органічні речовини у 1/100 LD<sub>50</sub> (M±m), (I<sup>0</sup> – імп/с)

Вид БХЛ	Речовини			
	Контроль	ГдР	ГР «Роса»	ОР-40
Сироватка крові				
СХЛ	123,5±7,2	257,4±17,1*	248,8±16,8*	219,6±13,2*
ІХЛ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	129,5±14,9	1631,2±27,2*	1321,4±18,3*	1379,5±17,9*
ІХЛ (FeCl <sub>3</sub> )	653,6±11,9	1574,3±30,4*	1279,3±26,4*	1334,8±16,8*
Люмінолзалежна ІХЛ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	1791,2±17,3	4451,3±49,5*	3862,7±39,8*	3864,7±41,5*

Люмінолзалежна ІХЛ (FeCl <sub>3</sub> )	1618,4±23,7	4149,8±47,3*	3648,8±31,3*	3721,5±32,6*
<b>Гомогенати печінки</b>				
СХЛ	143,2±7,9	293,8±10,9*	265,8±12,1*	274,2±14,1*
ІХЛ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	798,9±12,1	1499,8±15,7*	1184,9±17,9*	1237,2±18,9*
ІХЛ (FeCl <sub>3</sub> )	795,5±14,9	1507,8±22,6*	1379,3±20,4*	1319,7±20,4*
Люмінолзалежна ІХЛ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	1823,6±16,8	3918,4±23,5*	3875,9±27,4*	3896,5±24,3*
Люмінолзалежна ІХЛ (FeCl <sub>3</sub> )	1746,8±20,5	3846,7±26,5*	3759,4±27,1*	3826,5±26,98*
<b>Гомогенати нирок</b>				
СХЛ	148,9±6,9	316,7±21,3*	288,6±18,4*	303,5±20,6*
ІХЛ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	858,7±10,94	1582,5±19,1*	1367,5±17,4*	1488,7±18,9*
ІХЛ (FeCl <sub>3</sub> )	809,6±9,8	1513,4±20,8*	1416,4±18,6*	1475,9±19,7*
Люмінолзалежна ІХЛ (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	1868,7±21,5	4253,6±63,7*	3821,9±54,5*	4011,8±55,3*
Люмінолзалежна ІХЛ (FeCl <sub>3</sub> )	1757,8±29,6	4146,4±57,8*	3936,4±51,7*	3775,4±49,8*

\* - різниця показників вірогідна, (p&lt;0,05)

Таблиця 2

**Динаміка фосфоресценції сироватки крові щурів, що отримували 1/100 LD<sub>50</sub> органічних сумішей (M±m), (імп/с)**

Спектри збудження (λ)	Контроль	Речовини		
		ГдР	ГР	ОР-40
297	4248,6±68,7	4508,5±62,3*	4397,5±63,5*	4462,7±64,9*
313	3248,5±27,8	3858,9±40,7*	3579,9±31,6*	3704,6±33,2*
334	618,9±20,3	809,7±21,7*	786,8±19,7*	821,4±26,2*
365	1889,5±39,4	2009,6±32,0*	2115,7±25,3*	2124,6±29,4*
404	459,7±17,9	627,5±17,8*	609,4±18,3*	658,3±23,7*
434	609,6±14,8	827,5±21,3*	779,0±17,6*	836,8±16,3*

\* - різниця показників вірогідна, (p&lt;0,05)

Отримані дані свідчать про значне підвищення інтенсивності світіння сироватки крові, найбільш виражене під впливом коротких (λ=297-334) та довгих (λ=434) хвиль збудження, яке також співвідноситься із збільшенням кількості молекул у триплетному стані. Відомо, що молекули у збудженому електронному стані мають довгий час існу-

вання, а їх перехід на низькі незбуджені рівні відбувається дуже повільно [6] (табл. 3). Результати реєстрації фосфоресценції можуть свідчити про конформаційні зміни білкових молекул, наслідком яких є порушення структури та функції клітини, її дистрофічні зміни та виникнення гіпоксії [7].

Таблиця 3

**Динаміка окислювальної модифікації білків під впливом 1/100 LD<sub>50</sub> органічних сумішей, сироватка крові, (M±m), (імп/с)**

Речовини	Показники	
	2,4-дінитрофенілальдогідрозони (од. опт. густини/г білку, λ – 370 нм)	2,4-дінитрофенілкетогідрозони (од. опт. густини/г білку, λ – 380 нм)
Контроль	21,73±1,82	24,55±2,18
ГР	38,95±2,25*	43,76±1,54*
ГдР	39,41±2,17*	42,54±2,12*
ОР-40	39,82±2,19*	39,60±2,11*

\* - різниця показників вірогідна, (p&lt;0,05)

Визначене в усіх випадках підвищення рівнів 2,4-дінитрофенілальдогідрозонів та 2,4-дінитрофенілкетогідрозонів підтверджує інтенсифікацію окислювальної модифікації білків клітинної мембрани, що дозволяє припустити спроможність органічних сумішей активувати як перекисне окиснення ліпідів, так і окислювальну модифікацію білків, які є провідною структурною одиницею рецепторного апарату. Тривалий вплив досліджуваних речовин, навіть у субтоксичних дозах, здатний порушувати структурно-функціональні властивості клітинної мембрани, внаслідок чого можуть виникати зміни внутрішньоклітинного метаболізму, дисбаланс

катаболічних та анаболічних процесів та функції мембранних білків [10]. Таким чином, дія органічних сумішей на організм спроможна викликати мембранну патологію, яка впливає на молекулярні механізми забезпечення оптимального метаболізму.

## ВИСНОВКИ

1. Досліджувані органічні суміші у 1/100 LD<sub>50</sub> викликали інтенсифікацію БХЛ біологічних субстратів, що дозволяє припустити збільшення рівнів збуджених електронних станів, активізацію процесів ПОЛ та пошкодження ліпідів цитоплазматичної мембрани

2. Органічні речовини у 1/100 LD<sub>50</sub> стимулювали підвищення рівнів 2,4-дінитрофенілаля-догідразонів, 2,4-діфенілкетогідразонів, показників флюоресценції, (особливо коротко- та довгохвильового спектру), що співвідноситься з інтенсифікацією окислювальної модифікації білків клітинної мембрани.
3. Отриманий фактичний матеріал свідчить про порушення структури білково-ліпідного шару цитоплазматичної мембрани та дозволяє припустити порушення її функції.  
Перспективою подальшого пошуку у даному напрямку є визначення полярності, текучості мембран, погруження білків у ліпідний шар, що дасть змогу уточнення порушень як структури, так і функції клітинної мембрани під впливом субтоксичних доз органічних сумішей на основі ПЕГ.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Фаллер Д.М., Шилдс Д. Молекулярная биология клетки / Руководство для врачей. Пер. с англ. - М.:Бином-Пресс. - 2003. - 272 с.
2. Рахманин Ю.А., Литвинов Н.Н. // Гигиена и санитария. - М.: Медицина. - № 6. - 2004. - С. 48-50.
3. Матюшин Б.Н., Логинов А.С. // Клини. лаб. диагностика. - 1996. - № 4. - С. 51-54.
4. Дубинина Е.Е., Бурмистрова Р.О., Хадиев Д.А., и др. // Вопросы мед. химии. - 1996. - Т. 41. - вып. 1. - С. 24-26.
5. Владимиров Ю.А., Добрецов Г.Е. Флуоресцентные зонды в исследовании биологических мембран. - М.: Наука. - 1989. - 320 с.
6. Баглей Е.А., Недопитанская Н.Н. // Тези доп. I з'їзду токсикологів України / Під ред. Проданчука М.Г. - Київ. - 2001. - С. 50.
7. Арутюнян А.В., Дубинина Е.Е., Зыбина Н.Н. Методы оценки свободнорадикального окисления и антиоксидантной системы организма: метод. рекомендации. Под ред. проф. В.Х.Хавинсона. - СПб: ИПК «Фолиант» - 2000. - 104 с.
8. Esterbauer H., Gebicki J., Puhl H., et al. // Free Rad. Biol. Med. - 1992. - №13. - P. 341-390.
9. Hellivell B., Gutterige J.M.C. Free radicals in biology and medicine. - Oxford. - 1989. - 257 p.

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОСТОЯНИЯ ЦИТОПЛАЗМАТИЧЕСКИХ КЛЕТОЧНЫХ МЕМБРАН С ПОМОЩЬЮ МЕТОДОВ БИОХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ И ФОСФОРЕСЦЕНЦИИ

*Е.В. Сиренко*

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

#### РЕЗЮМЕ

Експериментально определены повышение уровней БХЛ, интенсификация фосфоресценции и повышение содержания 2,4-динитрофенилальдогидразонов и 2,4-динитрофенилкетогидразонов в биологических жидкостях и гомогенатах тканей органов белых крыс, которые получали субтоксические дозы органических смесей на основе ПЭГ на протяжении 45 суток. Полученные данные позволяют предположить способность исследуемых веществ повышать плотность белково-липидного слоя цитоплазматической мембраны, интенсифицировать свободнорадикальные процессы, перекисное окисление липидов и белков, изменять структуру и функцию клеточной мембраны, что отрицательно влияет на метаболизм.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** полиэтиленгликоли, клеточные мембраны, биохемилюминесценция, фосфоресценция

## DEFINITION OF CONDITION CYTOPLASMATIC CELLULAR MEMBRANES WITH THE HELP OF METHODS BIOHEMILUMINESCENCE AND PHOSPHORESCENCE

*E.V. Sirenko*

Kharkov medical academy of postgraduate education, Ukraine

#### SUMMARY

Are experimentally determined increase of levels BHL, an intensification of a phosphorescence and increase of contents 2,4-dinitricphenilaldogidrasone and 2,4-dinitrophenilketogidrasone in biological liquids and tissue fabrics of bodies white rats which received subtoxic doses of organic mixes on basis PEG during 45 day. The received data allow to assume ability of researched substances to lift density белково-липидного a layer cytoplasmatic membranes, to intensify free-radical processes, липидов and fibers to change structure and function of a cellular membrane which negatively influences a metabolism

**KEY WORDS:** polietilenglycol, cellular membranes, biohemiluminescence, phosphorescence

УДК: 616.428–053.13/4–036.88-02: 618.3–06: 616.98:578.828.6]-091.8

## МОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ МЕЗЕНТЕРИАЛЬНЫХ ЛИМФАТИЧЕСКИХ УЗЛОВ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ ВИЧ-ИНФИЦИРОВАННЫХ МАТЕРЕЙ

*И.В. Сорокина<sup>1</sup>, С.А. Шерстюк<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Харьковский государственный медицинский университет, Украина

<sup>2</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

### РЕЗЮМЕ

С целью выявления морфологических особенностей мезентериальных лимфатических узлов у плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, был изучен лимфоидный компонент органа с использованием морфологических, иммуногистохимических и морфометрических методов. Выявлены морфологические признаки значительного нарушения функциональной активности Т-лимфоцитов и меньшей степени угнетение популяции В-лимфоцитов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** ВИЧ-инфекция, мезентериальные лимфатические узлы, лимфоциты

Мезентериальные лимфатические узлы являются периферической частью иммунной системы [5]. В них происходит антигензависимая пролиферация и дифференцировка В-лимфоцитов, с последующим образованием В-клеток памяти и антителопродуцирующих клеток в мезентериальных лимфатических узлах обеспечивает их эффективное взаимодействие в ходе иммунного ответа [10]. ВИЧ по своей природе в первую очередь является иммунотропным, поэтому иммунная система начинает играть все более активную роль в общем патогенезе заболевания. ВИЧ связывается с компонентом клеточной мембраны (CD4<sup>+</sup>) проникает через мембрану клетки и разрушает ее. Антиген CD4<sup>+</sup> содержат: Т<sub>4</sub> – лимфоциты-хелперы, моноциты (макрофаги), дендритические антигенпредставляющие клетки лимфоидных органов и кожи, а также около 5% В-лимфоцитов [8], следовательно ВИЧ оказывает прямое влияние на морфологическую структуру мезентериальных лимфатических узлов.

В литературе имеются данные о морфологических изменениях органов дыхательной, пищеварительной, ЦНС при ВИЧ инфекции у детей [2]. Данные о влиянии ВИЧ инфекции матери на морфологическое состояние мезентериальных лимфатических узлов плодов и новорожденных в литературе не обнаружены.

Целью настоящего исследования явилось выявление морфологических особенностей мезентериальных лимфатических узлов у плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования послужили

плазматических клеток [9]. Среди Т-лимфоцитов в мезентериальных лимфатических узлах преобладают CD4<sup>+</sup>, а CD8<sup>+</sup>-клетки встречаются значительно реже [5]. Строго определенное взаимное расположение Т- и В-лимфоцитов, макрофагов, дендритных мертворожденные плоды и умершие новорожденные от ВИЧ-инфицированных матерей. Материал собирался с 1998 по 2006 г. в Харьковском перинатальном центре, Одесском и Днепропетровском патологоанатомических бюро. В исследуемую группу было отобрано 10 мертворожденных и 6 новорожденных от матерей с серологически подтвержденной ВИЧ-инфекцией. Для получения достоверных данных материал подбирался тщательно. Ни в одном из этих наблюдений не были зарегистрированы оппортунистические заболевания. Мертворожденные погибли вследствие острого нарушения пуповинно-плацентарного кровообращения (отслойка плаценты, обвитие пуповины вокруг различных частей тела плода) и родовой травмы. Новорожденные умирали вследствие постнатальной асфиксии и связанной с ней внутриутробной пневмонии. Группу контроля составили мертворожденные дети от здоровых матерей (12 случаев). Причиной смерти плодов явилось острое нарушение пуповинно-плацентарного кровообращения и родовые травмы. Срок гестации мертворожденных и новорожденных составил 36-40 недель.

Из мезентериальных лимфатических узлов вырезались кусочки из разных участков, которые подвергались стандартной парафиновой проводке, после чего изготавливались срезы толщиной 5-6 мкм. Срезы окрашивали гематоксилином и эозином. Для определения

степени зрелості і приналежності лімфоцитів к той или иной субпопуляції проводили імуногістохімічне дослідження з МКА к CD3, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD1, CD22, CD10, ІЛ-4, ІЛ-7, поверхні рецептори к которым они експресують (Novocastra Laboratories Ltd, UK).

Препарати изучали в люмінесцентному мікроскопі ЛЮМАМ І2 з використанням світوفільтрів: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3.

Комплекс імуногістологічних і морфометричних досліджень проводили на мікроскопі Olympus BX-41 з використанням програм Olympus DP-Soft (Version 3:1) і Microsoft Excel [3]. Висліялась густина кліток, відносні об'єми структурно-функціональних зон, а також відносна густина основних клонів імунних кліток. Все цифрові дані оброблялись методами варіаційної статистики. При цьому висліяли середню арифметичну ( $\bar{x}$ ), дисперсію ( $\bar{x}^2$ ), середньквдратичне відхилення ( $\bar{\sigma}$ ), середню помилку різниці ( $m$ ), вірогідність різниці ( $p$ ). Вірогідність різниці між двома середніми при малих вибірках визначали по таблиці Стюдента з дотриманням умови ( $p_1+p_2-2$ ). При контролі ( $p<0,05$ ) (рис. 1). Густина кліткових елементів в мезентеріальних лімфатических вузлах цієї групи значно зменшена, по порівнянню з групою контролю ( $p<0,05$ ), це обумовлено дефіцитом всіх зрілих (CD3, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>) і молодих форм Т-лімфоцитів (CD1), а також зменшенням

визначенні ступеня вірогідності допускали точність  $p<0,05$ , що, як відомо, відповідає  $P>95,0\%$  [4].

Проводилися кореляційні аналізи між густиною тимоцитів мозгового речовини тимуса і паракортикальною зоною мезентеріальних лімфатических вузлів плодів і новонароджених від ВІЧ-інфікованих матерей.

## РЕЗУЛЬТАТИ І ОБСУЖДЕНИЕ

Мезентеріальні лімфатическі вузли в залежності від будови тимуса у плодів і новонароджених від ВІЧ-інфікованих матерей розділені на 3 групи: 1 – мезентеріальні лімфатическі вузли при простій дисплазії тимуса, 2 – мезентеріальні лімфатическі вузли при дисплазії з атрофією тимуса, 3 – мезентеріальні лімфатическі вузли при гіперплазії тимуса.

В мезентеріальних лімфатических вузлах плодів і новонароджених з простою дисплазією тимуса спостерігається зменшення відносного об'єму кори, паракортикальної зони і збільшення відносного об'єму мозгового речовини, по порівнянню з групою

макрофагальної (CD16) і інтерлейкіну – 4, – 7-продуцуючої активності ( $p<0,05$ ). Однак відносний об'єм молодих (CD10) і зрілих В-лімфоцитів (CD22) проявляє тенденцію к збільшенню, по порівнянню з групою контролю ( $p<0,05$ ) (табл. 3).

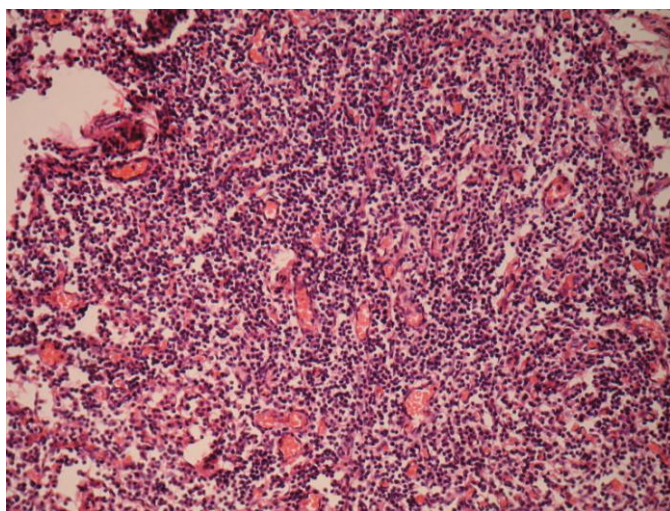


Рис. 1. Мезентеріальний лімфатический вузол при простій дисплазії тимуса у плода від ВІЧ-інфікованої матері. Структура лімфатических вузлів порушена за рахунок лімфоїдного опустошення. Окраска гематоксилином і еозином,  $\times 200$

В групі плодів і новонароджених з дисплазією з атрофією тимуса в мезентеріальних лімфатических вузлах спостерігається, також як і в групі з простою дисплазією тимуса, зменшення відносного об'єма

кори, паракортикальної зони і збільшення відносного об'єму мозгового речовини, по порівнянню з групою контролю ( $p<0,05$ ) (рис. 2). Густина кліток кори, паракортикальної зони і мозгового речовини в мезен-



териальных лимфатических узлах с дисплазией с атрофией тимуса снижена, по сравнению с группой контроля ( $p < 0,05$ ). Это обусловлено резким уменьшением популяции всех форм Т-лимфоцитов (CD3, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD1), макрофагов (CD16) и ИЛ-4, ИЛ-7 – продуцентов, по сравнению с группой кон-

троля (табл. 1, 2, 3). Относительный объем молодых (CD10) и зрелых (CD22) В-лимфоцитов увеличивается (таблица 3). Иммунорегуляторный индекс из-за нарушения пропорционального соотношения между CD4<sup>+</sup> и CD8<sup>+</sup> возрастает, по сравнению с группой контроля.

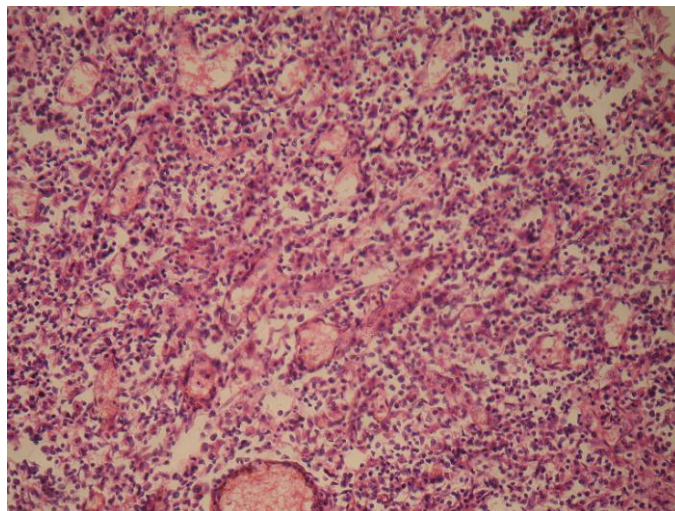


Рис. 2. Мезентериальный лимфатический узел при дисплазии с атрофией тимуса у плода от ВИЧ-инфицированной матери. Структурно функциональные зоны на фоне лимфоидного опустошения различимы с трудом. Окраска гематоксилином и эозином, x200.

Таблица 1  
Относительные объемы основных структурных компонентов мезентериальных лимфатических узлов плодов, новорожденных и детей, умерших в раннем возрасте от ВИЧ-инфицированных матерей ( $x \pm x$ ) (%)

Группы	Структурно-функциональные зоны мезентериальных лимфатических узлов		
	Кора	Паракортикальная зона	Мозговое вещество
Контроль № 20	33,0±0,96	34,5±0,71	32,5±0,99
Плоды и новорожденные с простой дисплазией тимуса № 3	26,0±2,29*	30,5±1,73*	43,5±0,83*
Плоды и новорожденные с дисплазией с атрофией тимуса № 5	28,5±1,52*	33,0±2,44	38,5±1,88*
Плоды и новорожденные с гиперплазией тимуса № 3	33,5±2,58	40,5±1,59*	26,0±3,15*

\* $P < 0,05$  - по сравнению с контроля

Таблица 2  
Плотности клеток мезентериальных лимфатических узлов плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей (количество в 1 мм<sup>2</sup>),  $x \pm x$

Группы	Структурно-функциональные зоны мезентериальных лимфатических узлов		
	Кора	Паракортикальная зона	Мозговое вещество
Контроль № 20	6603,0±89,0	7554,0±101,0	5387,0±79,0
Плоды и новорожденные с простой дисплазией тимуса № 3	4277,0±75,0*	3233,0±54,0*	3870,0±57,0*
Плоды и новорожденные с дисплазией с атрофией тимуса № 5	5668,0±75,0*	6304,0±68,0*	3512,0±87,0*
Плоды и новорожденные с гиперплазией тимуса № 3	8777,0±87,0*	9340,0±44,0*	5670,0±73,0*

\* $P < 0,05$  - по сравнению с контроля.

Таблица 3  
Относительные объемы основных клонов иммунных клеток в мезентериальных лимфатических узлах плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей ( $x \pm x$ ) (%)

CD-маркеры	Группы сравнения			
	Контроль (плоды)	Простая дисплазия	Дисплазия с атрофией	Гиперплазия
CD3	62,0±11,0	12,0±1,7*	14,0±3,0*	68,0±13,2

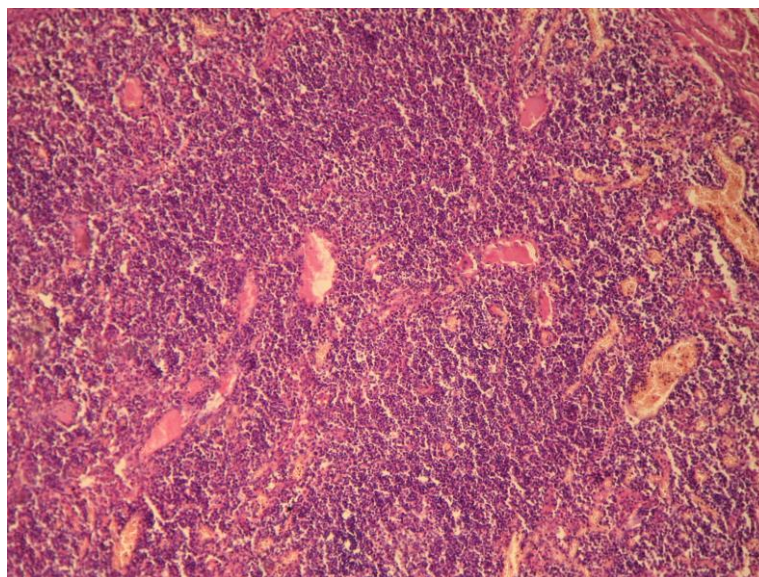
CD4 <sup>+</sup>	11,0±2,1	4,0±0,7*	5,0±1,1*	10,0±2,1
CD8 <sup>+</sup>	29,0±5,0	10,0±1,7*	11,0±1,2*	32,0±6,0
CD1	49,0±8,3	11,0±1,9*	13,0±1,6*	43,0±8,2
CD10	7,0±1,7	14,0±2,1*	16,0±2,0*	6,0±1,8
CD22	30,0±7,0	54,0±8,0*	56,0±7,9*	27,0±6,2
CD16	14,0±4,0	6,0±1,8*	8,0±2,3	17,0±3,3
ИЛ-4	0,8±0,003	0,2±0,00*	0,6±0,002*	0,8±0,003
ИЛ-7	0,9±0,005	0,4±0,00*	0,5±0,001*	0,9±0,002
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	0,37±0,02	0,4±0,01	0,45±0,02*	0,31±0,02*

\*P<0,05 - по сравнению с контролем

В группе мезентериальных лимфатических узлов при гиперплазии тимуса выявлено увеличение относительного объема коры, паракортикальной зоны и, следовательно, уменьшение относительного объема мозгового вещества, по сравнению с группой контроля, а также увеличение плотности клеток всех зон (табл. 1, 2; рис. 3). Иммуногистохимически определяется увеличение популяции CD3 и CD8<sup>+</sup>-клеток и уменьшение CD4<sup>+</sup> и CD1 – Т-лимфоцитов, несмотря на нормальное содержание ИЛ-4 и ИЛ-7 – продуцентов. Молодые и зрелые В-лимфоциты уменьшают свою популяцию (CD10, CD22). Макрофагальная активность возрастает. Иммунорегуляторный индекс уменьшается, по

сравнению с группой контроля (табл. 3).

Уменьшение относительного объема всех форм Т-лимфоцитов в мезентериальных лимфатических узлах с простой дисплазией тимуса и с дисплазией с атрофией тимуса у плодов и новорожденных от ВИЧ-инфицированных матерей, по-видимому, обусловлено нарушением пролиферации, дифференцировки тимоцитов в тимусе, а также их миграции в периферические органы иммунной системы [6]. Однако гуморальное звено иммунной системы у этих детей находится в фазе повышенной стимуляции, на что указывает повышение относительного объема В-лимфоцитов.



**Рис. 3.** Мезентериальный лимфатический узел при гиперплазии тимуса у плода от ВИЧ-инфицированной матери. Граница перехода структурно-функциональных зон практически не определяется из-за высокой плотности лимфоцитов. Окраска гематоксилином и эозином, х200

В мезентериальных лимфатических узлах с гиперплазией тимуса наблюдается картина высокой стимуляции клеточного звена иммунной системы, характеризующейся повышенной миграцией тимоцитов из тимуса. О чем свидетельствует увеличение в мезентериальных лимфатических узлах относительного объема зрелых Т-лимфоцитов, экспрессирующих антигены CD3 и CD8<sup>+</sup>[6]. Уменьшение CD1 – Т-лимфоцитов, по-видимому, говорит о нарушении пролиферативных процессов в тимусе, а уменьшение популяции

CD4<sup>+</sup>-клеток свидетельствует о высоком цитолитическом действии ВИЧ на эти клетки [1]. Так как установлено что ВИЧ поражает CD4<sup>+</sup> – Т-лимфоциты и количество этих клеток у ВИЧ-инфицированных детей уменьшается по мере развития болезни [5].

Данные изменения в мезентериальных лимфатических узлах привели к срыву адаптационно-компенсаторных механизмов клеточного звена иммунной системы организма и как следствие к снижению защитной функции [7].

Проведений кореляційний аналіз дозволив виявити характер взаємодії між щільністю тимоцитів в мозговому речовині тимуса і паракортикальною зоною мезентеріальних лімфатических вузлів. В групі плодів і новонароджених від ВІС-інфікованих матерей з простою дисплазією тимуса виявлена середня позитивна взаємозв'язь ( $r=0,57$   $p<0,05$ ), по-видимому, обумовлена активацією компенсаторних механізмів імунної системи. Слабка позитивна взаємозв'язь спостерігається в групі плодів і новонароджених з дисплазією і атрофією тимуса ( $r=0,33$   $p<0,05$ ). Це може бути пов'язано з посиленням процесу міграції зрілих Т-лімфоцитів з мозгового речовини тимуса в паракортикальну зону мезентеріальних лімфатических вузлів.

В групі плодів і новонароджених від ВІС-інфікованих матерей з гіперплазією тимуса взаємозв'язь між щільністю тимоцитів в мозговому речовині тимуса і паракортикальною зоною не виявлено, в силу дискоординації компенсаторно-приспособительних механізмів імунної системи.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Волошин Н.А., Карзов М.В., Григорьева Е.А. // Таврич. мед.-биол. вестник. - 2002. - Т. 5. - № 3. - С. 43-46.
2. Котова Н.В. // Перинатология и педиатрия. - 2007. - № 1 (29). - С. 24-28.
3. Лапач С.К., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. - К.:МОРИОН. - 2001. - 408 с.
4. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. -М.: ГЭОТАР МЕДИЦИНА. - 2000. - 256 с.
5. Труфакин В. А., Шурлыгина А. В., Робинсон В. М. // Морфология. - 2005. - Т.128. - №4. - С. 20-23.
6. Хлыстова З.С. // Иммунология. - 2002. - № 2. - С. 80-83.
7. Цинзерлинг В.А., Красногорская О.Л., Васильева М.В. // Архив патологии. - 2005. - № 5. - С. 48-51.
8. Ahmad N. // Crit. Rev. Clin. Lab. - 2005. Sci. - V. 42. - P. 1-34.
9. Boursalian, T.E., Golob J., Soper D.M. // Nat. Immunol. 2004. - V. 5. - P. 418-425.
10. Matloubian M., Cinamon G. // Nature. - 2004. - V. 427. - P. 355-360.

## МОРФОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ МЕЗЕНТЕРІАЛЬНИХ ЛІМФАТИЧНИХ ВУЗЛІВ ПЛОДІВ ТА НОВОНАРОДЖЕНИХ ВІД ВІЛ-ІНФІКОВАНИХ МАТЕРІВ

*І.В. Сорокіна<sup>1</sup>, С.О. Шерстюк<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Харківський державний медичний університет, Україна

<sup>2</sup>Харківський Національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

#### РЕЗЮМЕ

З метою виявлення морфологічних особливостей мезентеріальних лімфатических вузлів у плодів та новонароджених від ВІЛ-інфікованих матерів, був вивчений лімфоїдний компонент органу з використанням морфологічних, імуногістохімічних та морфометричних методів. Виявлені морфологічні ознаки значного порушення функціональної активності Т-лімфоцитів та в меншій ступені пригнічення популяції В-лімфоцитів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ВІЛ-інфекція, мезентеріальні лімфатичні вузли, лімфоцити

## MORPHOLOGICAL PROPERTIES MESENTERIAL GLAND

#### ВЫВОДЫ

1. Под влиянием материнской ВИЧ-инфекции в мезентериальных лимфатических узлах развивается морфологическая картина, коррелирующая с изменениями в тимусах этих детей.
2. У плодов, новорожденных от матерей ВИЧ-инфицированных наблюдаются выраженные нарушения со стороны Т-клеточного звена иммунитета, проявляющиеся дефицитом всех форм Т-лимфоцитов и менее выраженное угнетение гуморального звена иммунитета.
3. Несмотря на морфологические признаки незначительного усиления функциональной активности в мезентериальных лимфатических узлах при гиперплазии тимуса, степень возрастания активности реакции иммунной системы оказалась недостаточной для обеспечения иммунного гомеостаза.

Перспективой дальнейших исследований является выявление морфологических особенностей мезентериальных лимфатических узлов у умерших детей старшего возраста от ВИЧ-инфицированных матерей.



## OF FETUS AND NEWBORNS FROM HIV-INFECTED

I.V. Sorokina<sup>1</sup>, S.A. Sherstiuk<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Kharkiv State Medical University, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

### SUMMARY

With the purpose of determination morphological properties mesenterial gland of fetus and newborns from HIV-infected, lymphoid component of organ was investigated with using morphological and morphometric methods. Was found morphological signs significant changes functional activity of T-lymphocytes and in less degree depression population of of B-lymphocytes.

**KEY WORDS:** HIV-infection, mesenterial gland, lymphocytes

УДК: 575.224.46

## ИССЛЕДОВАНИЕ МУТАГЕННОЙ И МОДИФИЦИРУЮЩЕЙ АКТИВНОСТИ НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ НА МЛЕКОПИТАЮЩИХ

Н.Г. Стрижельчик

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

### РЕЗЮМЕ

Исследовали потенциальную мутагенную и модифицирующую активность биологически активных веществ амниоцена и его аналога, полученных из амниотической ткани человека и обладающих противовоспалительными и ранозаживляющими свойствами. Тестирование проводили на млекопитающих в системе *in vivo*. Установлено, что при подкожном введении изучаемые вещества в дозах, в 100 раз превышающих суточную (для человека), не индуцируют повышения уровня хромосомных aberrаций в клетках костного мозга и доминантных летальных мутаций в половых клетках мышей. Не установлено комутагенной активности препаратов в условиях химически индуцированного мутагенеза. Полученные результаты обсуждаются в отношении возможности использования изучаемых веществ в медицинской практике.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** индуцированный мутагенез, мутагенная активность, биологически активные вещества, хромосомные aberrации, доминантные летальные мутации

На возможность увеличения числа людей с тяжелыми наследственными болезнями и пороками развития в следствии мутагенности факторов окружающей среды указывают многие авторы [1]. Настораживающим является то, что за четверть века в стране удвоилась частота появления врожденных наследственных дефектов развития у детей. Детская смертность в 5 раз превышает показатели развитых стран. Частота заболеваемости раком возросла в 5 раз [2]. Реальная опасность отдаленных патогенетических последствий индуцированного мутагенеза для человека привела к необходимости развития исследований, направленных на выявление и устранение мутагенов из среды обитания [3, 4].

В настоящее время на различных тест-объектах установлена мутагенная активность большого количества лекарственных препаратов [5, 6]. В связи с этим широкое распространение получили биологически активные вещества, полученные из тканей животного происхождения. Такие лекарственные препараты обладают высокой биологической

активностью. Одним из достоинств этих препаратов является то, что они, как правило, не вызывают побочных эффектов. Появляется необходимость комплексной оценки влияния этих веществ на основные этапы мутагенеза/канцерогенеза: метаболизм, образование аддуктов ДНК-мутаген, репарация повреждений ДНК, экспрессия повреждений и др. [7, 8].

Большое значение при оценке мутагенности лекарственных препаратов имеет выбор тест-объектов, чувствительность которых определяется характером метаболической активации, обусловленной видовыми, тканевыми и функциональными возможностями [9, 10].

Целью данной работы являлось изучение в тестах на млекопитающих потенциальной мутагенной и модифицирующей активности новых биологически активных веществ амниоцена и его аналога, полученных из амниотической ткани человека.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Оценка генетических воздействий хими-

ческих веществ на организм человека чрезвычайно сложна. Поэтому мутагенность лекарственных препаратов исследуют на различных биологических объектах. Для окончательного заключения о генотоксической опасности веществ необходимы исследования мутагенной активности на лабораторных животных в опытах *in vitro*. На лабораторных млекопитающих для этой цели наиболее пригодны мыши (в связи с изученностью генетики объекта). В связи с этим исследования проводили на мышах в системе *in vivo*.

Изучали потенциальную мутагенную и комутагенную активность новых биологически активных веществ амниоцен и его аналога, полученных в ГНЦЛС (г. Харьков) из амниотической ткани человека, обладающих противовоспалительными и ранозаживляющими свойствами. Изучаемые препараты вводили самцам мышей подкожно в остром эксперименте однократно в хроническом эксперименте в течение 10 дней в аггравированной суточной дозе, рассчитанной на 1 кг среднего веса человека и увеличенной в 100 раз. Исследуемая доза составляла – 2,8 мл/кг. Забой мышей осуществляли путем смещения шейных позвонков. Исследования проводили использовали стандартный мутаген – циклофосфамид Амниоцен и его аналог вводили однократно (2,8 мл/кг) самцам мышей линии C57BL/6 одновременно с циклофосфамидом (20 мг/кг, внутривбрюшинно). Экспозиция препаратов составляла 24 часа.

В третьей серии исследований для оценки эффекта препаратов в половых клетках использовали метод учета доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей [7, 12, 13]. Оценку проводили на мышах-гибридах первого поколения F<sub>1</sub> CBA x C57BL/6 возрастом 8-12 недель, массой 20-23 г. Биологически активные вещества вводили подкожно в дозу 2,8 мл/кг в течение 10 дней. В каждом опытном и контрольном варианте использовали не менее 15 самцов. Сразу после прекращения введения препаратов самцов подсаживали к интактным виргинным самкам в соотношении 1:3. Смену самок производили еженедельно в течение 3-х недель. Анализировали постмейотические стадии сперматогенеза (чему соответствуют 1, 2 и 3-я неделя скрещивания). Забой беременных самок осуществляли на 15-17 день беременности. Оценивали следующие показатели: число беременных самок, процент фертильности, число мертвых и живых эмбрионов (ЖЭ, МЭ), доимплантационную и постимплантационную гибель эмбрионов. Основным показателем частоты доминантных летальных мутаций служил уровень постимплантационных потерь [7].

в нескольких сериях опытов.

В первой серии опытов для оценки цитогенетического эффекта препаратов использовали метод учета аберраций хромосом в клетках костного мозга [7, 11]. Исследуемые вещества вводили самцам мышей линии C57BL/6 в возрасте 8-10 недель, массой 18-20 г. В каждом опытном и контрольном варианте использовали по 5-6 мышей. Экспозиция препаратов в организме животных в остром эксперименте составляла 6 и 24 часа. В хроническом эксперименте забой мышей проводили через 6 часов после последнего введения препаратов. С целью накопления метафазного материала мышам за 2-2,5 часа до забоя внутривбрюшинно вводили 0,025% раствор колхицина по 0,1 мл на 1 г массы. Фиксацию и приготовление препаратов хромосом осуществляли по стандартной методике. Окраску препаратов осуществляли азур-эозином. У каждого животного анализировали по 100 метафаз.

Во второй серии опытов проводили оценку потенциальной комутагенной активности препаратов. Исследования проводились в условиях химически индуцированного мутагенеза. В качестве индуктора мутагенеза ис-

В таблицы помещали частоту хромосомных аберраций и доминантных летальных мутаций в % ( $M \pm m$ ). Для оценки статистической значимости сравниваемых значений в опытных и контрольных вариантах использовали критерий хи-квадрат [14].

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Наиболее информативным методом оценки мутагенности химических веществ в соматических клетках млекопитающих является метафазный метод учета хромосомных аберраций в клетках костного мозга мышей. Сущность метода заключается в фиксации в клетках костного мозга мышей аберраций хромосом на стадии метафазы.

Исследования проводили в остром и хроническом эксперименте. Результаты оценки цитогенетической активности новых биологически активных веществ в остром эксперименте представлены в табл. 1. Изучение 600 метафазных пластинок контрольной серии исследований позволило выявить 0,8±0,32 % аберрантных метафаз. Спектр аберраций был представлен одиночными и парными фрагментами. Аберраций обменного типа выявлено не было. Ахроматические пробелы в число аберраций не включали, а учитывали отдельно (1,2%).

В остром эксперименте цитогенетический анализ 1000 метафазных пластинок показал, что новый препарат амниоцен не вызывал достоверного увеличения уровня аберрант-

ных метафаз в клетках костного мозга мышей. Частота aberrантных метафаз составила: при экспозиции 6 часов –  $1,2 \pm 0,40\%$ , при экспозиции 24 часа –  $0,8 \pm 0,26\%$ . Типы aberrаций были представлены одиночными фрагментами. Ахроматические пробелы составили 1,0; 1,6%, соответственно). Сравнение полученных результатов в опытных и контрольных группах не выявило статистически значимых различий ( $\chi^2=0,36$ ;  $P>0,05$ ).

Аналогичные данные получены при оценке воздействия аналога амниоцена. В остром эксперименте цитогенетический анализ 1200 метафазных пластин показал, что аналог амниоцена не вызывал достоверного увеличения уровня aberrантных метафаз в клетках костного мозга мышей. Частота aberrантных метафаз составила: при экспозиции 6 часов –  $1,0 \pm 0,38\%$ , при экспозиции 24 часа –  $0,6 \pm 0,21$ . Спектр aberrаций хромосом был представлен одиночными фрагментами. Отмечены ахроматические пробелы (1,4; 1,2%, соответственно). Статистический анализ результатов не выявил достоверных различий между частотой возникновения aberrантных метафаз в опытных и контрольных вариантах ( $\chi^2=0,09$ ;  $P>0,05$ ).

Цитогенетический анализ 500 метафазных пластин показал, что аналог амниоцена в хроническом эксперименте также не вызывал достоверного увеличения уровня aberrантных метафаз в клетках костного мозга мышей. Частота aberrантных метафаз соста-

квадрат<sub>2</sub> = 0,11;  $P>0,05$ ) (табл. 1).

Частота клеток с aberrациями хромосом в пролиферирующих тканях при длительном воздействии является результатом равновесия между процессом индукции aberrаций мутагеном и элиминацией aberrантных клеток в процессе митотических делений. Так как митотический цикл клеток костного мозга мышей составляет в среднем 21 ч., а основным типом aberrаций являются фрагменты, для которых коэффициент отбора в процессе митотических делений высок, при быстром выведении изучаемого вещества из организм стабилизацию цитогенетического эффекта следует ожидать уже после первых суток от начала воздействия. Полученные данные подтверждают это предположение.

Результаты полученные в хроническом эксперименте отражены в табл. 2. Цитогенетический анализ 500 метафазных пластин позволил установить, что процент аномальных метафаз при воздействии амниоцена составил –  $0,6 \pm 0,20\%$ . Типы aberrаций были представлены одиночными фрагментами. Ахроматические пробелы составили 0,8%.

Сравнение полученных результатов в опы-  
вила –  $0,4 \pm 0,19\%$ . Спектр aberrаций хромосом был представлен одиночными фрагментами. Наблюдались ахроматические пробелы (1,0%). Статистический анализ результатов не выявил достоверных различий между частотой возникновения aberrантных метафаз в контрольных и опытных вариантах ( $\chi^2=0,80$ ;  $P>0,05$ ) (табл. 2).

Таблица 1

**Частота и типы aberrаций хромосом, индуцированных новыми биологически активными веществами амниоценом и его аналогом в клетках костного мозга мышей C57BL/6 в остром эксперименте (M±m)**

Проанализировано метафаз	Экспозиция препаратов в час.	Количество метафаз с aberrациями, %	На 100 клеток			Количество aberr. на 1 aberr. метаф.	Количество метаф. с пробелами, %	Уровень значимости	
			Одиночные фрагменты	Обмены	Парные фрагменты			$\chi^2$ -квadrat	P
<b>Контроль</b>									
600	-	$0,8 \pm 0,32$	0,6	0	0,20	1,0	1,2	-	-
<b>Амниоцен</b>									
500	6	$1,2 \pm 0,40$	1,0	0	0,20	1,0	1,0	0,36	$>0,05$
500	24	$0,8 \pm 0,26$	0,8	0	0	1,0	1,6	0,03	$>0,05$
<b>Аналог</b>									
600	6	$1,0 \pm 0,38$	0,8	0	0,16	1,0	1,4	0,09	$>0,05$
600	24	$0,6 \pm 0,21$	0,6	0	0	1,0	1,2	0,11	$>0,05$

Таблица 2

**Частота и типы aberrаций хромосом, индуцированных новыми биологически активными веществами амниоценом и его аналогом в клетках костного мозга мышей C57BL/6 в хроническом эксперименте (M±m)**

Проанализировано	Количество метафаз	На 100 клеток			Количество aberr.	Количество	Уровень значимости
		Одиночные	Обмены	Парные			

метафаз	с аббер- циями, %	фрагменты		фраг- менты	на 1 аббер. метаф.	метаф. с пробела- ми, %	хи- квад- рат	Р
<b>Контроль</b>								
600	0,8±0,32	0,6	0	0,2	1,0	1,2	-	-
<b>Амниоцен</b>								
500	0,6±0,20	0,6	0	0	1,0	0,8	0,17	>0,05
<b>Аналог</b>								
500	0,4±0,19	0,4	0	0	1,0	1,0	0,80	>0,05

Известно, что некоторые вещества, небудучи мутагенами, способны усиливать или ускорять мутагенез. В связи с этим с целью выявления возможной модифицирующей (комутагенной) активности амниоцена и его аналога, проведена серия экспериментов в условиях химически индуцированного мутагенеза. Анализировали сочетанное действие амниоцена и его аналога со стандартным мутагеном циклофосфамидом (20 мг/кг). Полученные результаты исследований отражены в табл. 3.

Как видно из табл. 3, новые биологически активные вещества амниоцен и его аналог не проявляли комутагенной активности – не вызывали повышения уровня абберрантных метафаз, индуцированных стандартным мутагеном циклофосфамидом. Статистический

анализ результатов не выявил достоверных различий между уровнем абберрантных метафаз, индуцированных циклофосфамидом – 11,8±1,9 и вариантами амниоцен + циклофосфамид – 9,4±1,7 и аналог + циклофосфамид – 8,6±1,4 или (хи-квадрат<sub>1</sub> = 1,49; хи-квадрат<sub>2</sub> = 2,76; P>0,05).

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований в системе *in vivo* при помощи метода учета хромосомных абберраций в клетках костного мозга было установлено, что амниоцен и его аналог не индуцируют повышения частоты хромосомных абберраций в клетках костного мозга млекопитающих как в остром, так и в хроническом эксперименте и не проявляют комутагенной активности по отношению к стандартному мутагену циклофосфамиду.

Таблица 3

**Влияние новых биологически активных веществ амниоцена и его аналога на частоту и типы абберраций хромосом, индуцированных циклофосфамидом в клетках костного мозга мышей C57BL/6 (M±m)**

Проана- лизи- ровано метафаз	Экспо- зиция препара- тов в час.	Количество метафаз с аббер- циями, %	На 100 клеток			Количество метаф. с пробелами, %	Уровень значимости	
			Одиноч- ные фраг- менты	Обмены	Парные фраг- менты		хи- квадрат	Р
<b>Циклофосфамид</b>								
500	24	11,8±1,9	8,6	1,2	2,0	4,6	-	-
<b>Амниоцен+циклофосфамид</b>								
500	24	9,4±1,7	7,0	1,0	1,2	3,8	1,49	>0,05
<b>Аналог+циклофосфамид</b>								
500	24	8,6±1,4	6,8	0,8	1,2	3,2	2,76	>0,05

Основным методом оценки мутагенной активности лекарственных препаратов в половых клетках млекопитающих является метод учета доминантных летальных мутаций у самцов мышей. Доминантные летальные мутации – генетические изменения, индуцируемые в родительских зародышевых клетках и вызывающие гибель первого поколения потомков на эмбриональной стадии развития. Большинство химических веществ эффективны только на постмейотических стадиях сперматогенеза.

Доминантные летальные мутации представляют собой количественные и структурные абберрации хромосом, приводящие к утрате генетического материала. Если яйцеклетка оплодотворена сперматозоидом, не-

сущим доминантную леталь, то смерть развивающегося эмбриона может произойти как до, так и после имплантации. Основным показателем мутагенного действия препаратов служит постимплантационная гибель.

Результаты оценки мутагенной активности новых биологически активных веществ в зародышевых клетках мышей в остром и хроническом эксперименте представлены в табл. 4 и 5.

В контрольных вариантах в этой серии процент фертильности (на разных неделях скрещивания) составил – 84,4; 80,0; 86,6%. Количество живых эмбрионов на одну беременную самку было равно – 7,3±0,18; 7,2±0,25; 7,8±0,21, количество мертвых эмбрионов – 0,31±0,06; 0,30±0,10; 0,35±0,08 (соот-

ветственно). Исследование 884 эмбрионов показало, что частота постимплантационной смертности в контроле составила: на 1-й неделе скрещивания – 4,1±0,52%; на 2-й неделе – 4,0±0,90%; на 3-й неделе – 4,3±0,54%. При воздействии биологически активных веществ количество желтых тел на одну беременную самку колебалось в пределах изменения этого показателя в контроле. Количество мест имплантаций на одну беременную самку также достоверно не отличалось от контроля (P>0,05).

В остром эксперименте (табл. 4) при введении амниоцена отмечено повышение процента фертильности по отношению к контролю на всех сроках скрещивания (96,6; 88,8; 88,4, соответственно). Наблюдалось также увеличение числа живых эмбрионов на одну беременную самку (7,0±0,29; 8,3±0,21; 7,8±0,21), увеличение числа мертвых эмбрионов на некоторых неделях скрещивания не носили достоверный характер по сравнению с контролем (0,34±0,08; 0,43±0,09; 0,28±0,08, соответственно).

Исследование 961 эмбрионов, полученных при введении амниоцена, не выявило достоверного повышения постимплантационной смертности эмбрионов по сравнению с контролем на всех неделях скрещивания.

Частота постимплантационных потерь равна: на 1-й неделе скрещивания – 4,7±0,72%; на 2-й неделе – 4,9±0,90%; на 3-й неделе – 3,4±0,36% (хи-квадрат<sub>1</sub>=0,12; хи-квадрат<sub>2</sub>=0,07; хи-квадрат<sub>3</sub>=0,11; P>0,05).

Аналогичные результаты были получены при тестировании аналога амниоцена. В остром эксперименте наблюдалась тенденция к повышению процента фертильности на некоторых сроках скрещивания (88,4; 96,0; 86,6%, соответственно). Не отмечено достоверного снижения числа живых эмбрионов (7,4±0,32; 8,0±0,25 и 7,5±0,26, соответственно) и уменьшение числа мертвых эмбрионов на одну беременную самку по сравнению с контролем (0,26±0,06; 0,27±0,08; 0,29±0,10, соответственно).

Анализ около 1102 эмбрионов показал, что введение аналога приводило к снижению частоты доминантных летальных мутаций по сравнению с контролем. Так, частота постимплантационной смертности составила: на 1-й неделе скрещивания – 3,2±0,56%; на 2-й неделе – 3,5±0,62%; на 3-й неделе – 4,5±0,84% (хи-квадрат<sub>1</sub>=0,11; хи-квадрат<sub>2</sub>=0,64; хи-квадрат<sub>3</sub>=0,01; P>0,05).

Таблица 4

**Частота возникновения доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей F<sub>1</sub> CBA x C57BL/6 при воздействии биологически активных веществ в остром эксперименте (M±m)**

Стадии сперматогенеза	Фертильность, %	На 1 беременную самку		Постимплантационная смертность, %	Уровень значимости	
		ЖЭ	МЭ		хи-квадрат	P
<b>Контроль</b>						
Зрелые спермии	84,4	7,3±0,18	0,31±0,06	4,1±0,52	-	-
Поздние сперматиды	80,0	7,2±0,25	0,30±0,10	4,0±0,90	-	-
Ранние сперматиды	86,6	7,8±0,21	0,35±0,08	4,3±0,54	-	-
<b>Амниоцен</b>						
Зрелые спермии	96,6	7,0±0,29	0,34±0,08	4,7±0,72	0,12	>0,05
Поздние сперматиды	88,8	8,3±0,20	0,43±0,09	4,9±0,90	0,07	>0,05
Ранние сперматиды	88,4	7,8±0,21	0,28±0,08	3,4±0,36	0,11	>0,05
<b>Аналог</b>						
Зрелые спермии	88,4	7,4±0,32	0,26±0,06	3,2±0,56	0,11	>0,05
Поздние сперматиды	96,0	8,0±0,25	0,27±0,08	3,5±0,62	0,64	>0,05
Ранние сперматиды	86,6	7,5±0,26	0,29±0,10	4,5±0,84	0,01	>0,05

В хроническом эксперименте (табл. 5) при введении амниоцена отмечено повышение процента фертильности по отношению к контролю на всех сроках скрещивания (92,0; 88,8; 86,6, соответственно). Наблюдалось также увеличение числа живых эмбрионов (7,80±0,30; 9,0±0,26; 8,3±0,24) и уменьшение (на некоторых стадиях сперматогенеза) числа мертвых эмбрионов на одну беременную самку по сравнению с контролем (0,36±0,06; 0,37±0,07; 0,28±0,09, соответственно).

Исследование 751 эмбрионов, полученных при введении амниоцена, не выявило до-

стоверного повышения постимплантационной смертности эмбрионов по сравнению с контролем на всех неделях скрещивания. Частота постимплантационных потерь равна: на 1-й неделе скрещивания – 4,7±0,68%; на 2-й неделе – 3,9±0,46%; на 3-й неделе – 2,8±0,32% (хи-квадрат<sub>1</sub>=0,06; хи-квадрат<sub>2</sub>=0,01; хи-квадрат<sub>3</sub>=0,06; P>0,05).

Аналогичные результаты были получены при тестировании аналога амниоцена в хроническом эксперименте. Наблюдалась тенденция к повышению процента фертильности при некоторых сроках скрещивания

(80,0; 96,0; 86,6%, соответственно). Выявлено повышение числа живых эмбрионов ( $8,5 \pm 0,28$ ;  $8,6 \pm 0,18$  и  $8,8 \pm 0,20$ , соответственно) и уменьшение числа мертвых эмбрионов на одну беременную самку по сравнению с контролем ( $0,21 \pm 0,07$ ;  $0,34 \pm 0,06$ ;  $0,18 \pm 0,08$ , соответственно).

Анализ около 720 эмбрионов показал, что

введение аналога приводило к снижению частоты доминантных летальных мутаций по сравнению с контролем. Так, частота постимплантационной смертности составила: на 1-й неделе скрещивания –  $2,4 \pm 0,60\%$ ; на 2-й неделе –  $3,8 \pm 0,58\%$ ; на 3-й неделе –  $2,1 \pm 0,40\%$  ( $\chi^2_{1}=0,29$ ;  $\chi^2_{2}=0,01$ ;  $\chi^2_{3}=1,98$ ;  $P > 0,05$ ).

Таблица 5

**Частота возникновения доминантных летальных мутаций в зародышевых клетках мышей F<sub>1</sub> CBA x C57BL/6 при воздействии биологически активных веществ в хроническом эксперименте (M±m)**

Стадии сперматогенеза	Фертильность, %	На 1 беременную самку		Постимплантационная смертность, %	Уровень значимости	
		ЖЭ	МЭ		хи-квадрат	P
<b>Контроль</b>						
Зрелые спермии	84,4	$7,3 \pm 0,18$	$0,31 \pm 0,06$	$4,1 \pm 0,52$	-	-
Поздние сперматиды	80,0	$7,2 \pm 0,25$	$0,30 \pm 0,10$	$4,0 \pm 0,90$	-	-
Ранние сперматиды	86,6	$7,8 \pm 0,21$	$0,35 \pm 0,08$	$4,3 \pm 0,54$	-	-
<b>Амниоцен</b>						
Зрелые спермии	92,0	$7,8 \pm 0,30$	$0,36 \pm 0,06$	$4,7 \pm 0,68$	0,06	>0,05
Поздние сперматиды	88,8	$9,0 \pm 0,26$	$0,37 \pm 0,07$	$3,9 \pm 0,46$	0,01	>0,05
Ранние сперматиды	88,4	$8,3 \pm 0,24$	$0,28 \pm 0,09$	$2,8 \pm 0,32$	0,06	>0,05
<b>Аналог</b>						
Зрелые спермии	80,0	$8,5 \pm 0,28$	$0,21 \pm 0,07$	$2,4 \pm 0,60$	0,29	>0,05
Поздние сперматиды	96,0	$8,6 \pm 0,18$	$0,34 \pm 0,06$	$3,8 \pm 0,58$	0,01	>0,05
Ранние сперматиды	86,6	$8,8 \pm 0,20$	$0,18 \pm 0,08$	$2,1 \pm 0,40$	1,98	>0,05

Следует отметить, что в проведенных ранее исследованиях в тесте Эймса-Salmonella/микросомы млекопитающих изучаемые вещества не были мутагенны для *Salmonella typhimurium* штаммов TA 98 и TA 100 – не индуцировали достоверного повышения генных мутаций как в условиях без метаболической активации, так и с метаболической активацией фракцией S-9 печени крыс.

Следовательно новые биологически активные вещества не выявили мутагенной и комутагенной активности на нескольких тест-объектах в исследованиях в системах *in vitro* и *in vivo*.

## ВЫВОДЫ

Проведено изучение потенциальной мутагенной и модифицирующей активности новых биологически активных веществ амниоцена и его аналога, полученных из амниотической ткани человека, обладающих противовоспалительными и ранозаживляющими свойствами.

Установлено, что новые препараты в дозах в 100 раз превышающих суточную для

человека:

1) не индуцировали повышения уровня хромосомных aberrаций в соматических клетках костного мозга мышей;

2) не проявляли комутагенной активности в отношении стандартного мутагена циклофосамида;

3) оказывали положительное влияние на репродуктивную функцию животных – отмечено повышение процента фертильности и плодовитости мышей;

4) не были мутагенны для половых клеток млекопитающих – не индуцировали повышения уровня доминантных летальных мутаций в половых клетках самцов мышей на постмейотических стадиях сперматогенеза;

Таким образом, изучаемые вещества – амниоцен и его аналог – являются перспективными препаратами, так как не проявляют мутагенной активности в дозах, в 100 раз превышающих суточную дозу (для человека), и могут быть рекомендованы для внедрения в фармацевтическую промышленность и медицинскую практику.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Бариляк І.Р., Бердишев Г.Д., Бонь О.В. // Цитология и генетика. - 2001. - Т. 35. - № 3. - С. 66-71
2. Настюкова В.В., Баранова Е.В. // Цитология и генетика. - 2000. - Т. 34. - № 3. - С. 49-54.
3. Бариляк І.Р. // Український конгрес з клінічної генетики з міжнародною участю «Метаболічні спадкові захворювання». - Харків. - 2003. - С. 10.
4. Черниченко І.О. // Гигиена населенных мест: Сб. науч. ст. - 2001. - Вып. 38. - Т.1. - С. 304-412.

5. Канцерогены: ничего кроме правды // Химия и жизнь. - 2002. - № 5. - С. 27-29.
6. Спейерс Г. // Вопросы питания. - 2002. - Т71. - № 1. - С.11-15.
7. Бариляк І. Р., Неумержицька Л. В., Дуган О. М. та інш. (методичні рекомендації). -К:ФК МЗ України. - 2000. - С. 166-186.
8. Ревазова Ю.Ф., Журков В.С. // Вестник РАМН. - 2001. - № 10. - С. 77-79.
9. Дурнев А.Д. // Вестник РАМН. - 2001. - № 10. - С. 70-76.
10. Глущенко Л.Ф. Новосибирск: Ин-т мол. биологии и биофизики. Сиб. отд. РАМН. - 2000. - 84 с.
11. Чеботарев А.Н. / Вест.РАМН. - 2000. - № 2. - С. 23-26.
12. Вагина И.Н., С.В. Евсикова А.П. Соломко // Біополімери і клітини. - 2003. - Т. 19. - № 1. - С. 3-10.
13. Велибнев Р.М. Автореф. дис... к-та бил. наук: 03.00.15 / Ин-т общей генетики им. Н.И. Вавилова РАМН. - 2003. - 27 с.
14. Методические рекомендации по оценке мутагенных свойств фармацевтических средств. -М.:Медицина. - 1994. - 46 с.

## **ДОСЛІДЖЕННЯ МУТАГЕННОЇ ТА МОДИФІКУЮЧОЇ АКТИВНОСТІ НОВИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН НА ССАВЦЯХ**

*Н.Г. Стрижельчик*

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

---

### **РЕЗЮМЕ**

Вивчали потенційну мутагенну та модифікуючу активність нових біологічно активних речовин амніоцену та його аналогу, здобутих із амніотичної тканини людини, які мають протизапальні властивості. Тестування проводили на ссавцях в системі *in vivo*. Встановлено, що при підшкірному введенні нові препарати у дозах, в 100 разів перевищуючих добову, не індукують підвищення частоти хромосомних аберацій у клітинах кісткового мозку та домінують летальних мутацій в статевих клітинах самців мишей. Одержані результати обговорюються у відношенні можливості застосування досліджуваних препаратів у медичній практиці.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** індукований мутагенез, мутагенна та модифікуюча активність, біологічно активні речовини, хромосомні аберації, домінують летальні мутації

## **MUTAGENIC AND MODIFYING EFFECTS OF NEW BIOACTIVE SUBSTANCES FOR MAMMALS**

*N.G. Strigelchik*

V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

---

### **SUMMARY**

The potential mutagenic and modifying effect of bioactive substances derived from human amniotic tissue and possessing anti-inflammatory and healing effects have been investigated mammals. It was shown that the injection of the studied substances in doses that were 100 times higher than daily ones did not induce the rise of chromosomal aberration frequency in bone marrow cells, and of dominant lethal mutations in mouse gametes. The obtained results have been discussed in terms of possible usage of the studied substances in the medical practice.

**KEY WORDS:** induced mutagenesis, bioactive substances mutagenic and modifying effects, chromosomal aberrations, dominant lethal mutations

УДК: 572.71/.76

## **ПОЛОВЫЕ ОСОБЕННОСТИ ЛИНЕЙНЫХ И УГЛОВЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЧЕРЕПА НАСЕЛЕНИЯ ИЗ КВАРТАЛА IXA СЕВЕРНОГО РАЙОНА ХЕРСОНЕСА (XIII-XIV ВВ Н.Э.)**

*В.А. Федорищева<sup>1</sup>, Н.И. Яблчанский<sup>1</sup>, В. Арнольд<sup>2</sup>, Э.А. Наумова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

<sup>2</sup>Университет Виттен/Хердекке, Стоматологический факультет, Виттен, Германия

---

### **РЕЗЮМЕ**

Проведено сравнение линейных и угловых показателей лицевого и мозгового отделов 11 относительно нормальных и 7 искусственно деформированных взрослых черепов из квартала IXa северного района Херсонеса (XIII-XIV вв н.э.) с учетом половых особенностей. Измерения показателей проводи-

ли на боковых рентгенограммах между следующими точками: Ba, B, V, G, L, N, Op, Or, Pr, S, Fca. Определяли среднее значение (M), стандартное квадратичное отклонение (sd), ошибку среднего (m), коэффициент вариации (C). Статистические различия между группами определяли с использованием критерия Вилкинсона-Манна-Уитни. Все показатели были классифицированы по степени варибельности на 3 группы: с невысокой, средней и высокой варибельностью. Одинаковым для группы с невысокой варибельностью в относительно нормальных черепах мужского и женского пола оказались показатели G-Op, S-Pr, Ba-B, Ba-V, S-B, S-Fca, S-N, S-Or, N-S-B, N-S-L, N-S-Ba, S-Ba-O, S-N-Pr, N-Pr-S, в деформированных черепах – S-N, S-Fca, S-B, Ba-V, S-L, S-Pr, S-Or, Pr-N, Pr-Or, G-Op, Ba-B, N-S-Ba, N-S-L, N-Pr-S, S-N-Pr, S-Ba-O. Большинство изученных краниометрических показателей не имеют достоверных различий в зависимости от пола (при  $P < 0.05$ ), кроме показателей S-Pr и B-Ba у относительно нормальных черепов и S-Or и S-Ba у искусственно деформированных черепов.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** пол, череп, линейные измерения, угловые измерения, искусственная деформация, Херсонес, XIII-XIV вв н.э.

В данной работе исследовали черепа людей из квартала IXa северного района Херсонеса (XIII-XIV вв н.э.). Ранее проведенное сопоставление черепов из Херсонеса, Мангупа и «пещерных городов» показало, что в целом они имеют значительное сходство [6]. Их характеризует брахикранная форма черепной коробки. Начиная с X ст., население юго-западного Крыма было однородным, несмотря на некоторое смешивание внутри популяций. Отмечено также, что на черепах из сельских поселений юго-западного Крыма [1] и Херсонеса [3,4,10] имеет место прижизненное уплощение черепов в затылочной области – признак, отличающий их от других брахикранных черепов.

Несмотря на изученность большого количества (XIII-XIV вв н.э.).

Данная работа проводилась в рамках научной работы «Морфологическое исследование черепов жителей Хазарского Каганата VIII-X вв.» (0106U002888), выполняющейся в Харьковском национальном университете им. В.Н.Каразина.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования – 18 черепов взрослого населения XIII-XIV веков н.э. из квартала IXa северного района Херсонеса. Данные черепа предоставлены Национальным заповедником «Херсонес Таврический».

Размер и рельеф черепа, выраженность лобных и теменных бугров, надбровных дуг, наклон лба, лобно-носовой угол, форма орбиты, внешний вид нижней челюсти, размеры зубов использовали для определения пола [11, 16].

Степень зарастания швов черепной коробки и степень стертости зубов использовали для определения возраста [11].

Показатели измеряли на рентгенограммах. Рентгенография выполнялась в боковой проекции на аппарате РУМ-20 с использованием пленки RETINA. Интенсивность рентгеновского потока 40-45 кВ, время экспозиции 0,1-0,2 с, расстояние между пленкой и трубкой 1 м [8, 11]. Далее рентгенограммы сканировали с разрешением 1600 dpi и пере-

чества краниологических серий с Крымского полуострова, черепа из квартала IXa северного района Херсонеса представляют интерес, т.к. подобные измерения их не проводились. Проводимые краниометрические измерения обычно проводятся по стандартной схеме [2,11], без использования рентгенологических методов.

Измерения линейных и угловых показателей лицевого и мозгового отделов черепа населения, проживавшего на данной территории, с использованием рентгенограмм ранее не проводились.

Цель работы – исследование совокупности линейных и угловых показателей лицевого и мозгового отделов черепа людей из квартала IXa северного района Херсонеса носили для измерений в программу AutoCAD 2007. Каждое измерение проводили трижды с определением среднего значения для дальнейшего его использования. Истинные значения линейных показателей вычисляли с использованием полученного ранее масштабного коэффициента 0,79.

На рентгенограммах измеряли линейные (S-B, S-N, S-Or, S-Pr, S-L, S-Ba, Or-Pr, Pr-N, S-Fca, Ba-V, G-Op, B-Ba) и угловые размеры (N-S-L, N-S-Ba, N-S-B, N-S-Pr, N-Pr-S, S-Ba-O, S-N-Pr) между следующими точками [11, 13, 14,15]: базион (Ba), брегма (B), вертекс (V), глабелла (G), ламбда (L), назион (N), опистион (O), опистокранион (Op), орбитальная точка (Or), простион (Pr), селла (S), точка передней черепной ямки (Fca).

Для наглядной демонстрации профилей исследуемых черепов и возможности сравнения их были построены усредненные профили для относительно нормальных и искусственно деформированных черепов на основании координат краниометрических точек, полученных с использованием программы AutoCAD 2007. Для этого все рентгенограммы были приведены к единому масштабу и ориентированы согласно франкфуртской диагонали. В качестве начала координат (нулевая точка – 0,0) была взята точка S – центр турецкого седла. Построение профилей проводилось с использованием программы



MORPHEUS ET AL. © 1994-98.

Статистические показатели – среднее значение (M, см или °), стандартное квадратичное отклонение (sd), ошибку среднего (m), коэффициент вариации (C, %) – определяли на ПК с использованием программ Статистика 6.0 и Excell. Достоверность различий между группами определяли с использованием непараметрического критерия Вилкинсона-Манна-Уитни [5, 7].

Линейные и угловые краниометрические показатели по степени коэффициента вариации разделили на группы с невысокой, средней и высокой вариабельностью [12].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Все черепа принадлежали взрослым, 8 – мужские, 10 – женские.

Исследуемые черепа были разделены на 2 группы:

- относительно нормальные – 11 черепов (5 – мужские, 6 – женские)
- с признаками искусственной деформации – 7 черепов (3 – мужские, 4 – женские)

Результаты измерений линейных показателей черепов представлены в табл. 1. Все измеренные показатели относительно нормальных черепов у мужчин несколько выше, чем у женщин. Большинство измеренных показателей искусственно деформированных мужских черепов несколько выше, чем у женщин, кроме показателей S-B, S-L.

Результаты измерений угловых показателей черепов представлены в табл. 2. Большинство измеренных угловых показателей относительно нормальных черепов у мужчин несколько выше, чем у женщин, кроме пока-

зателей N-S-Ba, N-Pr-S, S-Ba-O. Большинство измеренных показателей искусственно деформированных черепов у мужчин несколько выше, чем у женщин, кроме показателей N-S-Ba, N-S-Pr, N-Pr-S.

Классификация линейных и угловых показателей черепов мужского и женского пола по диапазону колебаний их коэффициента вариации представлена в табл. 3. В относительно нормальных черепах наименьшей вариабельностью как у мужчин, так и женщин обладали линейные показатели G-Op, S-Pr, Ba-B, Ba-V, S-B, S-Fca, S-N, S-Or, среднюю степень вариабельности у лиц мужского пола имеет показатель Pr-Or, у лиц женского пола – S-L, S-Ba, Pr-N, Pr-Or.

Наименьшей вариабельностью как у мужчин, так и женщин обладали все угловые показатели, кроме: N-S-Pr, который имеет среднюю степень вариабельности у лиц женского пола. Следует отметить, что большинство показателей у мужчин менее вариабельны, чем у женщин, за исключением показателей Ba-B, Ba-V, Pr-Or, которые менее вариабельны у женщин.

Наименьшей вариабельностью в искусственно деформированных черепах как у мужчин, так и женщин обладали все показатели, кроме S-Ba, N-S-B и N-S-Pr, которые имеют среднюю степень вариабельности у лиц женского пола. Следует отметить, что большинство показателей у мужчин менее вариабельны, чем у женщин, за исключением показателей S-L, S-Pr, Pr-N, Pr-Or, N-Pr-S и S-N-Pr, которые менее вариабельны у женщин.

Таблица 1

Половые особенности линейных показателей черепов взрослого населения из квартала IXа северного района Херсонеса (XIII-XIV вв н.э.)

Краниометрические показатели	Череп	Пол					
		Мужчины			Женщины		
		M±m, см	sd	C, %	M±m, см	sd	C, %
S-N	нормальные	6,1±0,1	0,3	4,9	5,7±0,2	0,5	8,8
	деформированные	5,9±0,2	0,3	5,1	5,5±0,2	0,4	7,0
S-Fca	нормальные	5,8±0,2	0,5	8,3	5,5±0,2	0,5	8,8
	деформированные	5,4±0,2	0,3	6,5	4,8±0,2	0,3	6,4
S-B	нормальные	9,4±0,1	0,3	3,0	8,9±0,2	0,4	4,8
	деформированные	10,4±0,1	0,1	1,1	10,4±0,1	0,2	2,3
Ba-V	нормальные	12,5±0,2	0,5	3,7	11,9±0,1	0,4	3,0
	деформированные	13,8±0,3	0,4	3,2	13,4±0,3	0,5	3,4
S-L	нормальные	10,6±0,1	0,3	2,6	10,1±0,4	1,1	10,8
	деформированные	10,6±0,3	0,4	4,2	11,1±0,1	0,3	2,3
S-Ba**	нормальные	4,2±0,2	0,3	8,3	3,9±0,2	0,4	11,5
	деформированные	4,0±0,1	0,1	2,8	3,6±0,2	0,4	10,2
S-Pr*	нормальные	8,2±0,1	0,3	3,3	7,4±0,2	0,4	5,7
	деформированные	8,4±0,5	0,7	8,5	7,2±0,3	0,5	6,8
S-Or**	нормальные	5,1±0,1	0,2	3,8	4,9±0,1	0,4	7,2
	деформированные	5,0±0,1	0,2	4,2	4,6±0,1	0,2	5,1
Pr-N	нормальные	6,2±0,1	0,3	5,4	5,6±0,2	0,6	10,5
	деформированные	6,4±0,3	0,4	6,2	5,7±0,1	0,2	4,0

Pr-Or	нормальные	3,9±0,2	0,5	13,7	3,5±0,2	0,4	12,7
	деформированные	4,2±0,2	0,3	8,1	3,5±0,1	0,2	4,5
G-Op	нормальные	16,9±0,1	0,3	1,9	15,9±0,5	1,3	7,9
	деформированные	15,8±0,1	0,2	1,4	15,5±0,6	1,0	6,3
Ba-B*	нормальные	12,5±0,2	0,5	3,7	11,8±0,1	0,3	2,3
	деформированные	13,4±0,2	0,4	2,9	12,7±0,2	0,4	2,9

\* – различия между группами статистически достоверны в доверительном интервале P<0.05 (относительно нормальные черепа)

\*\* – различия между группами статистически достоверны в доверительном интервале P<0.05 (искусственно деформированные черепа)

Таблица 2

**Половые особенности угловых показателей черепов взрослого населения из квартала IXа северного района Херсонеса (XIII-XIV вв н.э.)\***

Краниометрические показатели	Череп	Пол					
		Мужчины			Женщины		
		M±m, °	sd	C, %	M±m, °	sd	C, %
N-S-Ba	нормальные	141,1±2,5	5,5	3,9	144,3±3,1	7,6	5,3
	деформированные	141,3±3,9	6,7	4,8	150,0±5,2	10,4	7,0
N-S-L	нормальные	150,8±1,7	3,8	2,5	148,1±3,1	7,6	5,2
	деформированные	144,7±3,1	5,3	3,7	140,1±6,4	12,8	9,1
N-S-B	нормальные	87,8±2,0	4,4	5,0	85,0±2,3	5,7	6,7
	деформированные	87,4±1,8	3,2	3,6	86,8±4,4	8,8	10,1
N-S-Pr	нормальные	49,0±1,5	3,3	6,7	48,3±2,3	5,5	11,5
	деформированные	49,0±0,7	0,9	1,9	51,6±3,7	6,5	12,5
N-Pr-S	нормальные	48,2±1,8	4,0	8,4	49,7±1,8	4,5	9,1
	деформированные	45,3±2,3	3,3	7,3	47,7±1,3	2,2	4,6
S-N-Pr	нормальные	82,8±1,2	2,8	3,4	82,0±1,6	3,9	4,7
	деформированные	85,7±3,0	4,2	5,0	80,8±2,6	4,4	5,5
S-Ba-O	нормальные	141,0±1,4	3,1	2,2	144,3±2,4	5,8	4,0
	деформированные	143,3±3,5	6,1	4,3	140,7±2,0	4,1	2,9

\* – различия между группами статистически недостоверны в доверительном интервале P<0.05

Таблица 3

**Классификация линейных и угловых показателей черепов взрослого населения из квартала IXа северного района Херсонеса (XIII-XIV вв н.э.)**

Показатели	Мужчины			Женщины		
	<10,0 %	10,1-15,0 %	> 15,1 %	<10,0 %	10,1-15,0 %	> 15,1 %
Линейные	G-Op* S-Pr* Ba-B* Ba-V* S-L* S-B* Pr-N* Pr-Or** S-Fca* S-N* S-Ba* S-Or*	Pr-Or*		G-Op*,** S-L** S-Pr*,** Ba-B*,** Ba-V*,** S-B*,** S-Fca*,** S-N*,** S-Or*,** Pr-N** Pr-Or**	S-L* S-Ba*,** Pr-N* Pr-Or*	
Угловые	N-S-B* N-S-L* N-S-Ba* N-Pr-S* S-Ba-O* S-N-Pr* N-S-Pr*			N-S-B* N-S-L*,** N-S-Ba*,** S-Ba-O*,** S-N-Pr*,** N-Pr-S*,**	N-S-B** N-S-Pr*,**	

На рисунке изображены профили нормального и деформированного черепов по координатам краниометрических точек относительно нулевой точки S. Как видно из рисунка имеются существенные отличия в

мозговом отделе черепа: искусственно деформированный череп имеет уплощенность и смещение кверху как в лобной (точки G, Fca, B и V), так и в затылочной областях (точки L, Op, Ba и O).



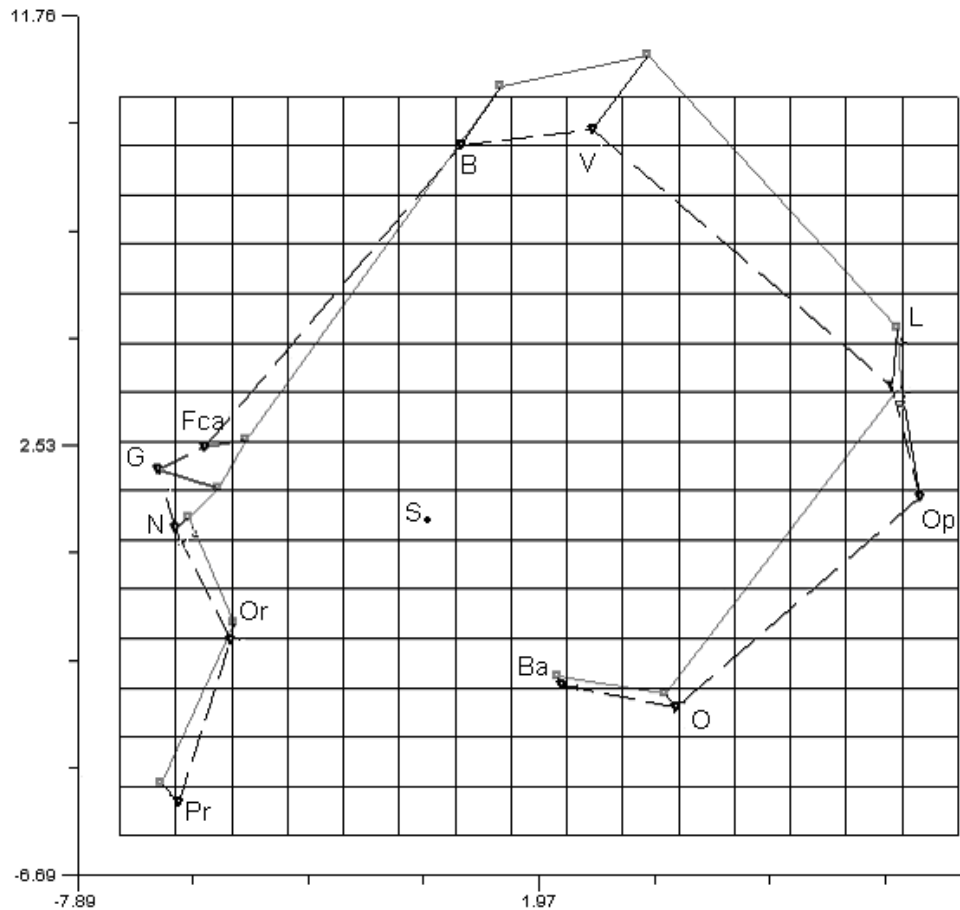


Рис. Профили нормального и деформированного черепов людей из квартала IXa северного района Херсонеса по координатам краниометрических точек с нулевой точкой S (--- нормальный череп, — искусственно деформированный череп)

Исследование относительно нормальных черепов людей из квартала IXa северного района Херсонеса (XIII-XIV вв н.э.) показало, что все измеренные показатели у мужчин несколько выше, чем у женщин, кроме показателей N-S-Ba, N-Pr-S, S-Ba-O. Наименьшей вариабельностью как у мужчин, так и женщин обладали линейные показатели G-Op, S-Pr, Ba-B, Ba-V, S-B, S-Fca, S-N, S-Or и все угловые показатели, кроме N-S-Pr. Следует отметить, что большинство показателей у мужчин менее вариабельны, чем у женщин, за исключением показателей Ba-B, Ba-V, Pr-Or.

Изучение черепов людей с признаками искусственной деформации из квартала IXa северного района Херсонеса (XIII-XIV вв н.э.) выявило, что большинство измеренных показателей у мужчин несколько выше, чем у женщин, кроме показателей S-B, S-L, N-S-Ba, N-S-Pr, N-Pr-S. Наименьшей вариабельностью как у мужчин, так и женщин обладали все показатели, кроме S-Ba, N-S-B и N-S-Pr. Следует отметить, что большинство показателей у мужчин менее вариабельны, чем у женщин, за исключением показателей S-L,

S-Pr, Pr-N, Pr-Or, N-Pr-S и S-N-Pr которые менее вариабельны у женщин.

Сравнение относительно нормальных черепов и черепов с признаками искусственной деформации показало существенные отличия в мозговом отделе черепа: искусственно деформированный череп имеет уплощенность и смещение кверху как в лобной (точки G, Fca, B и V), так и в затылочной областях (точки L, Op, Ba и O).

Полученные значения показателей G-Op и Ba-B относительно нормальных черепов меньше полученных [2] для данного региона и [11] для европейцев средних значений и приближаются к их нижней границе: показатель G-Op в мужских черепах имел значения  $16,9 \pm 0,1$  см ( $M \pm m$ ), в женских –  $15,9 \pm 0,5$  см ( $M \pm m$ ), а у [2] 18,4 см в мужских черепах и [11]  $17,8 \pm 0,03$  см и  $17,2 \pm 0,04$  см соответственно; показатель Ba-B в мужских черепах имел значения  $12,5 \pm 0,2$  см ( $M \pm m$ ), в женских –  $11,8 \pm 0,1$  см ( $M \pm m$ ), а у [2] 13,3 см в мужских черепах и [11]  $13,4 \pm 0,1$  см и  $12,8 \pm 0,1$  см соответственно. Значения угла N-S-Ba ( $141,1^\circ \pm 2,5$  ( $M \pm m$ ) – в мужских черепах,  $144,3^\circ \pm 3,1$  ( $M \pm m$ ) – в женских) больше значений современного человека ( $135^\circ$ ) [9] и

меньше первобытного  $167^{\circ} \pm 4$  [14]. По другим показателям работ найти не удалось.

Полученные значения показателей G-Op и Ba-B искусственно деформированных мужских черепов для данного региона несколько меньше полученных [2] средних значений: показатель G-Op имел значения  $15,8 \pm 0,1$  см ( $M \pm m$ ), а у [2]  $17,6$  см; показатель Ba-B имел значения  $13,4 \pm 0,2$  см ( $M \pm m$ ), а у [2]  $13,8$  см. Значения угла N-S-Ba ( $141,3^{\circ} \pm 3,9$  ( $M \pm m$ ) – в мужских черепах,  $150,0^{\circ} \pm 5,2$  ( $M \pm m$ ) – в женских) больше значений современного человека ( $135^{\circ}$ ) [9] и меньше первобытного  $167^{\circ} \pm 4$  [14]. Работ, в которых бы изучали другие показатели, найти не удалось.

Сравнение показателей G-Op и Ba-B соответствует исследованиям [2] для данного региона: значения показателя G-Op больше, а показателя Ba-B меньше в нормальных черепах.

## ВЫВОДЫ

1. Все полученные линейные и угловые показатели относительно нормальных и деформированных черепов не имеют достоверных различий в зависимости от пола (при  $P < 0,05$ ), кроме показателей S-

Pr и B-Ba у относительно нормальных черепов и S-Or и S-Ba у искусственно деформированных черепов

2. Невысокой степенью варибельности в относительно нормальных черепах мужского и женского пола обладали показатели G-Op, S-Pr, Ba-B, Ba-V, S-B, S-Fca, S-N, S-Or, N-S-B, N-S-L, N-S-Ba, S-Ba-O, S-N-Pr, N-Pr-S
3. Невысокой степенью варибельности в деформированных черепах мужского и женского пола обладали показатели S-N, S-Fca, S-B, Ba-V, S-L, S-Pr, S-Or, Pr-N, Pr-Or, G-Op, Ba-B, N-S-Ba, N-S-L, N-Pr-S, S-N-Pr, S-Ba-O
4. Искусственно деформированный череп имеет существенные отличия по сравнению с относительно нормальным черепом в мозговом отделе: уплощенность и смещение кверху как в лобной (точки G, Fca, B и V), так и в затылочной областях (точки L, Op, Ba и O)

Полученные результаты показывают целесообразность дальнейших антропологических исследований черепов условно здоровых лиц с других захоронений, а также черепов лиц разных захоронений с различными нарушениями структуры черепа.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Беневоленская Ю.Д. // Материалы и исследования по археологии СССР. - 1970. - № 168. - С.25-41.
2. Герасимова М.М., Рудь Н.М., Яблонский Л.Т. Антропология античного и средневекового населения Восточной Европы. -М.:Наука. - 1987. - 256 с.
3. Дебец Г.Ф. // Сборник Музея антропологии и этнографии. - 1949. - Т. XII. - С. 32-40.
4. Зиневич Г.П. Антропологические материалы из средневековых могильников Юго-Западного Крыма. -К.:Наукова думка. - 1973. - 262 с.
5. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Основные принципы применения статистических методов в клинических испытаниях. -К.:Морион. - 2002. - 160 с.
6. Назарова Т.О. Населення Херсонеса в I-XIV ст. за антропологічними даними: Автореф. дис. ... к. істор.наук. -Київ. - 2001. - 20 с.
7. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине. / Пер. с англ. В.П. Леонова. -М.:ГЭОТАР-МЕД. - 2003. - 144 с.
8. Рентгенологическое исследование скелета (методические указания для субординаторов, ординаторов, курсантов, цикла специализации, интернов, рентгенолаборантов). Ч.1 Голова. -Пермь: Пермский государственный медицинский университет. - 1982. - С. 7-9.
9. Сапин М.Р., Билич Г.Л. Анатомия человека. Т.1 - М.: ГЭОТАР-МЕД. - 2001. - 600 с.
10. Соколова К.Ф. // Сборник по истории и археологии Крыма. - 1957. - Т. 2. - С. 34-41.
11. Сперанский В.С. Основы медицинской краниологии. -М.:Медицина. - 1988. - 288 с.
12. Федорищева В.А., Арнольд В., Наумова Э.А., Яблунчанский Н.И. // Таврический медико-биологический вестник. - 2006. - Т. 9. - № 3. - Ч. 2. - С.129-133.
13. Федорищева В.А., Яблунчанский Н.И., Арнольд В., Наумова Э.А. // Вісник Харківського національного університету імені В.Н.Каразіна. Серія «Медицина». - 2006. - № 738. - Вип.13. - С. 55-60.
14. Arnold W.H., Protsch von Zieten, Schmidt E. //Anthropol. Anz. - 2003. - Vol. 6. - P. 19-32.
15. Hamdan A.M., Rock W.P. // Journal of Orthodontics. - 2001. - Vol. 28. - P. 297-300.
16. Konigsberg LW, Hens SM. //American Journal of Physical Anthropology. - 1998. - Vol. 107. - P. 97-112.
17. Turner P.J., Weerakone S. // Journal of Orthodontics. - 2001. - Vol. 28. - P. 221-229.

## СТАТЕВІ ОСОБЛИВОСТІ ЛІНІЙНИХ ТА КУТОВИХ ПОКАЗНИКІВ ЧЕРЕПА НАСЕЛЕННЯ З КВАРТАЛУ IXA ПІВНІЧНОГО РАЙОНУ ХЕРСОНЕСУ (XIII-XIV СТ Н.Е.)

В.О. Федорищева<sup>1</sup>, М.І. Яблунчанський<sup>1</sup>, В. Арнольд<sup>2</sup>, Е.О. Наумова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

## РЕЗЮМЕ

Проведено порівняння лінійних та кутових показників лицьового і мозкового відділів 11 відносно нормальних та 7 штучно деформованих черепів дорослих з кварталу IXa північного району Херсонесу (XIII-XIV ст н.е.) з урахуванням статевих особливостей. Вимірювання показників проводили на бічних рентгенограмах між такими точками: Ba, B, V, G, L, N, Op, Or, Pr, S, Fca. Визначали середнє значення (M), стандартне квадратичне відхилення (sd), помилку середнього (m), коефіцієнт варіації (C). Статистичні відмінності між групами визначали з використанням критерію Вилкінсона-Манна-Уїтні. Всі показники були класифіковані за ступенем коефіцієнту варіації на 3 групи: з невисокою, середньою та високою варіабельністю. Однаковим для групи з невисокою варіабельністю у відносно нормальних черепах чоловічої і жіночої статі опинилися показники G-Op, S-Pr, Ba-B, Ba-V, S-B, S-Fca, S-N, S-Or, N-S-B, N-S-L, N-S-Ba, S-Ba-O, S-N-Pr, N-Pr-S, в деформованих черепах – S-N, S-Fca, S-B, Ba-V, S-L, S-Pr, S-Or, Pr-N, Pr-Or, G-Op, Ba-B, N-S-Ba, N-S-L, N-Pr-S, S-N-Pr, S-Ba-O. Більшість вивчених краніометричних показників не мають достовірних відмінностей залежно від статі (при P<0.05), окрім показників S-Pr, Ba-B у відносно нормальних черепів і S-Or та S-B у штучно деформованих черепів.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** стать, череп, лінійні вимірювання, кутові вимірювання, штучна деформація, Херсонес, XIII-XIV ст. н.е.

## SEXUAL FEATURES OF LINEAR AND ANGULAR INDEXES OF SKULL OF INDIVIDUALS FROM THE QUARTER OF IXA OF NORTHLAND OF KHERSONES IN XIII-XIV CENTURIES A.D.

V.O. Fedoryshcheva<sup>1</sup>, M.I. Yabluchansky<sup>1</sup>, W. Arnold<sup>2</sup>, E.O. Naumova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>V.N.Karazin Kharkov National University, Ukraine

<sup>2</sup>University Witten/Herdecke, Dental Department, Witten, Germany

## SUMMARY

It was the aim of this study to investigate variability of cranial linear and angular marks in the neuro- and viscerocranium of 11 normal and 7 artificially deformed skulls of adult individuals who lived in the quarter of IXa of northland of Kherones in XIII-XIV centuries A.D. in relation to sexual features. Linear and angular marks were measured on a lateral roentgenograms between the following points: Ba, B, V, G, L, N, Op, Or, Pr, S, Fca. The mean value (M), standard quadratic deviation (sd), standard error of mean (m), coefficient of variation (C) were determined. Statistical analysis between groups was carried out using the Manna-Whitney test. A great number of linear and angular marks can be classified on the degree of variations into 3 groups with low, middle and high variation. Similar for a group with low variation were next marks: G-Op, S-Pr, Ba-B, Ba-V, S-B, S-Fca, S-N, S-Or, N-S-B, N-S-L, N-S-Ba, S-Ba-O, S-N-Pr, N-Pr-S in normal skulls, and S-N, S-Fca, S-B, Ba-V, S-L, S-Pr, S-Or, Pr-N, Pr-Or, G-Op, Ba-B, N-S-Ba, N-S-L, N-Pr-S, S-N-Pr, S-Ba-O in artificially deformed skulls. The most studied craniometric indexes are not had reliable distinctions depending on a sex (at P<0.05), except for the indexes of S-Pr and B-Ba in normal skulls and S-Or and S-Ba in artificially deformed skulls

**KEY WORDS:** sex, skull, linear measurements, angular measurements, artificial deformation, Kherones, XIII-XIV centuries A.D.

УДК: 616.33+616.342-089-085.837.3

## ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ И УЛЬТРАЗВУКОВОЙ ДИСЕКЦИИ ТКАНЕЙ НА ВЫРАЖЕННОСТЬ МЕСТНЫХ ИЗМЕНЕНИЙ И ДИНАМИКУ РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕССА В ОРГАНАХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

А.И. Цивенко<sup>1</sup>, И.В. Сорокина<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

<sup>2</sup>Харьковский государственный медицинский университет, Украина

## РЕЗЮМЕ

Представлены результаты комплексного изучения действия ультразвукового скальпеля (УЗС) и монополярного электроскальпеля (МЭС) на ткани желудочно-кишечного тракта. Проанализированы особенности течения репаративного процесса в послеоперационном периоде в эксперименте после применения УЗС и МЭС. На основании полученных данных выявлены особенности действия на био-

логические ткани разных видов энергии и их влияние на процессы репарации. Полученные результаты свидетельствуют о преимуществе ультразвуковой диссекции над электрической.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** ультразвуковой скальпель, монополярный электроскальпель, желудочно-кишечный тракт

Проблема атравматичного бескровного разделения тканей является ключевой задачей хирургии. Приобретённый за многие годы мировой опыт убедительно свидетельствует о том, что универсального метода физической диссекции и коагуляции не существует. Незнание особенностей воздействия на разные ткани тех или иных видов физической энергии приводит к нерациональному использованию аппаратуры, что чревато развитием специфических осложнений [2, 4]. Проведенные ранее исследования свидетельствуют о недостаточной изученности процессов происходящих в зоне воздействия разных видов энергии, тяжести повреждений и динамике репаративных процессов [1].

Несмотря на накопленный опыт применения многих методов физической диссекции и коагуляции, до сих пор остаются нерешёнными целый ряд вопросов. Это обусловлено отсутствием всестороннего анализа особенностей воздействия разных видов энергии на ткани органов желудочно-кишечного тракта с учётом непосредственного основного эффекта, негативных характеристик, морфологических изменений в зоне вмешательства, а также закономерностей течения репаративных процессов.

3-3,5 кг. Были изучены деструктивные и репаративные процессы, происходящие в стенках желудка, тонкой и толстой кишки после рассечения их монополярным электрическим (МЭС) и ультразвуковым скальпелями (УЗС). Животные были разделены на две группы. В условиях кетаминового наркоза в I группе с помощью МЭС, а во II группе с помощью УЗС рассекались стенки желудка, тонкой и толстой кишки. Затем полипропиленовой нитью №2 (по европейской фармакопее) на атравматической игле накладывался однорядный непрерывный серозно-мышечно-подслизистый шов либо, в другой серии опытов, такой же нитью накладывался двухрядный шов: первый – непрерывный сквозной, второй – узловый серозно-мышечный. Из эксперимента животные выводились путём введения летальных доз кетамина. Сроки наблюдения за животными составили: спустя час после операции, 3-и; 7-е; 14-е и 30-е сутки послеоперационного периода. Проводилась макроскопическая оценка изменений происходящих в зоне воздействия диссекторов и прилежащих органах.

После этого производили забор материала для дальнейшего комплексного изучения.

Перечисленные спорные и неизученные аспекты проблемы диссекции и коагуляции тканей послужили основанием для выполнения настоящего исследования, результаты которого помогут успешному решению многих практических, теоретических и методических задач.

Работа выполнена в рамках научно-исследовательской работы кафедры хирургических болезней ХНУ им. В.Н.Каразина “Изучение действия физических методов и морфофункционального состояния сосудов, тканей желудка, тонкого и толстого кишечника при их диссекции и коагуляции в хирургии желудочно-кишечного тракта”, № госрегистрации 0106U001585.

Цель исследования – на основании комплексного изучения особенностей воздействия на ткани органов желудочно-кишечного тракта разных физических способов диссекции определить степень повреждения и особенности течения репаративных процессов, установить преимущества и недостатки каждого из них.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная часть работы выполнена на кролях породы Шиншилла, массой Материалом морфологического исследования послужили фрагменты стенки желудка, тонкой и толстой кишки (клинический и экспериментальный материал) из области диссекции в день операции, а также из зоны послеоперационных швов в указанные выше сроки эксперимента. Из фрагментов вырезали кусочки на всю толщину стенки органа, затем материал фиксировали в 10% водном растворе нейтрального формалина и после спиртовой проводки подвергали целлоидинпарафиновой проводке. Готовили серийные срезы толщиной  $4-5 \times 10^{-6}$  м. Обзорные препараты, окрашенные гематоксилином и эозином, использовали для общей оценки состояния исследуемых тканей. Окрашивание препаратов фукселеном на эластические волокна по Вейгерту с докрасшиванием пикрофуксином по методу Ван Гизон использовали для выявления и дифференцировки соединительно-тканых структур.

Для оценки функциональной активности регенерирующих тканей использовали комплекс гистохимических методик. Дезокси-нуклеопротейды (ДНП) выявляли реакцией по Фельгену-Россенбеку (контроль – гидролиз с HCl). Рибонуклеопротейды (РНП) вы-

являли окраской по методу Браше (контроль кристаллической рибонуклеазой). С помощью PAS-реакции по Мак Манусу Хочкису (контроль с амилазой) выявляли нейтральные мукополисахариды, а Хейл-реакцией с толуидиновым синим – ГАГ (контроль по В.В.Виноградову и Б.Б. Фиксу). Гистологические и гистохимические методики выполнялись по прописям, изложенным в руководствах по гистологической технике и гистохимии (Лилли Р., 1960; Пирс Э., 1962).

Количественную морфометрическую оценку ширины зоны некроза, некробиоза, реактивного воспаления и грануляционной ткани (в поздние сроки соединительно-тканного рубца) проводили с помощью окулярной линейки «Olympus» (Япония), что позволило определить выраженность этих зон. Изучение микропрепаратов проводили на микроскопе Olympus BX-41 с последующим видеомикроскопическим фотографированием.

Иммуногистохимическое исследование проводили на парафиновых срезах толщиной 5-6 мкм непрямым методом Кунса по методике Grosman (1979). Иммунные клетки дифференцировали с помощью крысиных моноклональных антител (МКА) к различным типам клеток фирмы Serotec. Использовали CD3, CD18, CD45RA, ED1, ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО, ИЛ-10, ИЛ-4

Коллагены типировали моноклональными антителами (МКА) к коллагенам I, III, IV типов, эндотелин определяли МКА к эндотелину-1 (Novocastra Laboratories Ltd), Величии операций на органах брюшной полости, как при лапароскопическом доступе, так и при открытых вмешательствах применяется ультразвуковой скальпель фирмы «Ethicon». Одновременно в клинике выполняются операции с использованием электрохирургических аппаратов.

Выполнение диссекции стенки органов желудочно-кишечного тракта МЭС крайне редко сопровождалось достижением полного гемостаза. Коагуляция возможна только при воздействии на мелкие сосуды, диаметр которых не превышал 0,2-0,3 мм. Это обстоятельство требовало дополнительно коагулировать сосуды и тем самым усиливать термическую травму в месте воздействия, либо лигировать их. Ткани по линии разреза приобретали белую окраску, а иногда подвергались карбонизации. При этом, достаточно часто, происходило прилипание электрода к рассекаемым тканям, что затрудняло манипуляции. Так же в ряде наблюдений имел место эффект «биологической сварки» слоёв, рассекаемой стенки желудка или кишечника, проявляющийся в фиксации последних на одном уровне по

кобритания. В качестве люминисцентной метки использовали F (ab)-2 – фрагменты кроличьих антител против иммуноглобулинов мыши, меченных ФИТЦ. Препараты изучали в люминисцентном микроскопе МЛ-2 с использованием светофильтров: ФС-1-2, СЗС-24, БС-8-2, УФС-6-3. Относительное количество основных клонов иммунных клеток определяли с помощью сетки Г.Г. Автандилова (1999) в люминисцентном микроскопе. Интенсивность свечения коллагенов определяли на микрофлюориметре с ФЭУ-35 и выражали в условных единицах, равных току, протекающему через измерительный прибор, выраженных в микроамперах (мкА).

Содержание, уход и методы экспериментальной работы с животными соответствовали соблюдению Международных принципов Европейской конвенции о защите позвоночных животных (Страсбург, 1985 г.) [4].

Обработку полученных результатов выполняли с помощью пакета статистического анализа программы Excel для Windows. Данные представлялись в виде среднее  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm m$ ). Достоверность различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента. Различия считались достоверными при  $p < 0,05$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

С 2001 г. в клинике хирургических болезней ХНУ имени В.Н. Каразина при выпол-

краю раневого дефекта. Однако коагуляционная плёнка, склеивающая между собой серозную, мышечную, подслизистую и слизистую оболочки была чрезвычайно не стабильной и легко разрушалась при малейших манипуляциях.

В «остром» периоде исследуемый материал получали в ходе операции, как от экспериментальных животных, так и от больных. В материале, полученном во время операции на полых органах ЖКТ (желудке, тонком и толстом кишечнике) в «остром» периоде, в зоне диссекции и прилежащих к ней тканях исследовали выраженность некротических, некробиотических, гемодинамических изменений, а также определяли качество лигирования сосудов, обеспечивающее гемостатический эффект.

На 3, 7, 14, 30 сутки материал получали только от экспериментальных животных и изучали течение репаративных процессов (как при 1-рядных, так и при 2-рядных швах).

Патоморфологическое исследование, проведенное в «остром» периоде, выявило в краях зону некроза, распространяющуюся на



все слою стенок рассекаемых органов. В зоне диссекции определялась четко выраженная эозинофильная полоса коагуляции. Известно, что действие высоких температур вызывает денатурацию белков, плавление ДНП, перекисидацию липидов. В прилежащих к зоне коагуляции тканях определялись достоверные признаки патологической гибели ткани, которые выражались в хроматолизе, сморщивании и гиперхромности ядер, а также фрагментации и разрыве ядер на глыбки и сопровождалась скоплением некротического детрита. Экстрацеллюлярный матрикс данной зоны также подвергался некротическим изменениям – фибриноидному некрозу. Отмечались изменения волокон в виде потери пучковости, гомогенизации, усиления эозинофилии, появления пикринофилии при окраске по ван Гизон, интенсивного ШИК-позитивного окрашивания. В этой зоне выявлялись коллагены I и III типов в виде очагового свечения неравномерной интенсивности, часто с «размытыми» границами. Границы коллагена I типа более четкие. Это объясняется более высокой степенью зрелости коллагена I типа, тогда как коллаген III типа общепризнан в качестве молодого интерстициального коллагена.

В зоне фибриноидных изменений обнаруживаются разрушенные нервные окончания и сосуды.

После выполнения диссекции МЭС зона некроза по данным гистостереометрии соных наблюдениях. Так как некробиотические изменения являются скорее необратимыми, то имелась вероятность расширения зоны некроза за счет некробиотически измененных тканей, что мы отчетливо наблюдали на 3 сутки эксперимента. В зоне изменений, расцениваемых нами как проявления некробиоза, часть клеток находилась в состоянии окончательной гибели, а в части клеток имели место изменения, которые проявляются усилением эозинофилии цитоплазмы клеток, развитием вакуолизации цитоплазмы вплоть до баллонизации клеток. Усиление эозинофилии цитоплазмы клеток связано с утратой ею нормальной базофилии, обеспечиваемой цитоплазматической РНП и с повышением оксифильности денатурированных клеточ-

ставляла в желудке  $554,160 \pm 34,107$  мкм (от 380,27 до 685,965) в клинических и  $284,832 \pm 13,711$  (от 208,109 до 357,129) мкм в экспериментальных наблюдениях, в тонком кишечнике –  $313,801 \pm 40,17$  (от 133,127 до 477,387) мкм в клинических и  $380,87 \pm 15,285$  (от 293,416 до 427,168) мкм в экспериментальных наблюдениях, а в толстом кишечнике –  $495,695 \pm 54,53$  (от 301,604 до 728,914) мкм в клинических и  $379,106 \pm 14,469$  (от 281,878 до 451,399) мкм в экспериментальных наблюдениях.

В условиях целостного организма первичное действие повреждающего фактора на клетки (непосредственное повреждение) сопровождается вторичными изменениями и в дистанцированных от зоны непосредственного повреждения клетках. В задачи нашего исследования входило определение распространенности некробиотических изменений в прилежащих к зоне некроза тканях. Зона некробиоза по данным гистостереометрии составляла в желудке  $280,43 \pm 39,15$  (от 165,39 до 314,025) мкм в клинических и  $114,918 \pm 11,631$  (от 68,683 до 173,518) в экспериментальных наблюдениях, в тонком кишечнике –  $179,071 \pm 7,42$  (от 155,72 до 225,764) мкм в клинических и  $121,212 \pm 12,276$  (от 80,145 до 173,518) мкм в экспериментальных наблюдениях, в толстом кишечнике –  $338,568 \pm 34,29$  (от 152,509 до 521,533) мкм в клинических и  $160,549 \pm 6,145$  (от 123,409 до 180,146) мкм в экспериментальных белков. Покровный эпителий в зоне некробиоза характеризовался выраженными изменениями. В собственной пластинке слизистой оболочки и подслизистой основе этой зоны обнаружены отек, набухание коллагеновых волокон и частичная потеря ими пучковости. В мышечной оболочке определялись очаговая базофилия ГМК, отек и незначительная инфильтрация НГ (CD18) межмышечной соединительной ткани.

В качестве иллюстрации представлены изменения выявленные в стенке желудка, так как процессы, происходящие в тонкой и толстой кишке были аналогичными. Динамика морфологических изменений в разные сроки эксперимента после выполнения электродиссекции представлена в табл. 1.

Таблица 1

Данные гистостереометрического исследования в 1 группе наблюдений желудок, (M±m), (n=30)

Сутки	Зона некроза (мкм)		Зона некробиоза (мкм)		Зона воспаления (мкм)		ГТ/рубец (мкм)	
	1-о ряд.	2-х ряд.	1-о ряд.	2-х ряд.	1-о ряд.	2-х ряд.	1-о ряд.	2-х ряд.
3	$739,259 \pm 39,929$	$657,067 \pm 46,680$	$238,74 \pm 15,559$	$214,916 \pm 13,430$	$198,819 \pm 21,993$	$153,087 \pm 14,305$	$268,604 \pm 14,448$	$200,61 \pm 16,416$
7	$407,229 \pm 25,625$	$321,499 \pm 39,871$	$277,65 \pm 30,119$	$256,063 \pm 14,465$	$160,098 \pm 15,617$	$216,885 \pm 115,318$	$233,815 \pm 27,015$	$233,217 \pm 9,590$
14	$284,667 \pm 24,682$	$182,844 \pm 13,587$	$270,432 \pm 19,648$	-	$160,432 \pm 6,96$	$147,862 \pm 7,514$	$365,818 \pm 24,199$	$684,544 \pm 35,198$

30	135,992± 5,131	96,3± 25,647	-	-	92,217± 4,15	72,534± 5,32	564,145± 54,156	658,34± 56,068
----	-------------------	-----------------	---	---	-----------------	-----------------	--------------------	-------------------

В серии хронических опытов было установлено, что после использования МЭС в области операции развивается мощный спаечный процесс, который представлен плоскостными и плотными шнуровидными спайками между местом ушивания гастро-, энтеро- или колотомной раны и париетальной брюшиной, а в части случаев имелись плотные сращения желудка с печенью, которые с трудом разъединялись или прядь большого сальника окутывала данную зону. В нескольких случаях на 3-и сутки эксперимента в брюшной полости определялся, в небольшом количестве, серозный или серозно-геморрагический выпот. Ни в одном из случаев не было выявлено несостоятельности швов анастомоза.

В экспериментальном материале, полученном на 3 сутки после операции, в области диссекции сохранялась выраженная зона некроза без признаков его фрагментации и резорбции. По данным гистостереометрии ширина зоны некроза при условии наложения 1 ряда швов составляет: в желудке  $739,259 \pm 39,929$  (от 574,452 до 968,274) мкм, в тонком кишечнике –  $1010 \pm 29,104$  (от 840,779 до 1051,954) мкм, в толстом кишечнике –  $1017,832 \pm 27,928$  (от 859,981 до 1133,609) мкм. При этом во всех органах имело место достоверное ( $P < 0,005$ ) увеличение ее ширины по сравнению с «остром» периодом более чем в 2,5 раза, то есть наблюдался феномен пролонгирования некроза, что чрезвычайно важно при формировании анастомозов ЖКТ. В дальнейшем наблюдается стабилизация и прогрессивное уменьшение зон некроза, некробиоза и воспаления с постепенным увеличением грануляционной ткани (ГТ).

Проведенное исследование показало, что в большей части наблюдений I – группы имели место широкие зоны некроза и некробиоза, которые длительно сохранялись, что связано со значительной распространенностью поражения тканей. Позднее и неполное рассасывание некротических масс определялось низкой функциональной активностью макрофагов на первых этапах послеоперационного периода. Низкое содержание в ГТ зрелых клеточных форм, ослабленный коллагеногенез (как интерстициальных коллагенов I и III типов, так и коллагена базальных мембран – IV типа), а также усиленный рост сосудов ГТ, как результат гипоксии, способствовали формированию неполноценной ГТ, склонной к воспалению и вторичным некрозам. Этому способствовал и характер воспа-

лительного инфильтрата, среди элементов которого продолжительное время преобладали НГ (CD18), а также сохранялась высокая активность клеток-продуцентов провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО). Процесс эпителизации был затруднен в тех участках диссекции, где сохранялась широкая зона некроза, имело место нарушение созревания ГТ, а воспалительный инфильтрат был значительно выражен. Эндотелиоциты сосудов, локализующихся в зоне регенерации, способны продуцировать эндотелин-1, интенсивность продукции эндотелина нарастала от 14-х суток эксперимента к 30-м суткам и расценивалась как высокая вне зависимости от локализации и характера швов. Как правило, гистостереометрические показатели (за исключением показателей зон некроза и ГТ) при 1- и 2-рядных швах не отличались достоверно. Отмечено, что в большей части наблюдений всех органов ширина зоны некроза была меньшей при 2-рядных швах. И, напротив, при 2-рядных швах ширина зоны ГТ возрастала, т.е. имела тенденция к формированию более «грубого» послеоперационного рубца. Тем не менее, иммуногистохимическое исследование не выявило достоверного усиления коллагенообразования в зависимости от вида шва. Как при 1-рядном, так и при 2-х рядном шве преобладала продукция молодого интерстициального коллагена III типа, и лишь на заключительной стадии эксперимента появлялся зрелый коллаген I типа. Отличалась площадь на которой разворачивается репаративный процесс, а следовательно и образование коллагенов. Как было выше отмечено ширина формирующегося соединительнотканного компонента больше при 2-х рядном шве. Некоторые особенности со стороны коллагенообразования выявлялись в зависимости от локализации раневого дефекта. В более ранние сроки интерстициальные коллагены появлялись в стенке желудка и несколько позже в тонком и толстом кишечнике.

Проведение экспериментального исследования позволило определить особенности воздействия на ткани ЖКТ ультразвукового скальпеля. При этом во всех наблюдениях по линии разреза был полный гемостаз. Макроскопически края раны имели белесоватый оттенок, что, вероятно, было обусловлено изменением третичной структуры белка и превращением его в коагулят, который и обеспечивал хороший гемостаз. При работе УЗС отсутствовали обугливание тканей, их

налипание на лезвие, дым, искрение и другие эффекты, возникающие при контакте манипулятора с биологическими тканями. После диссекции желудка, тонкой и толстой кишки в краях раны, во всех случаях, отмечался эффект биологической сварки, выразившийся в надёжной фиксации разных слоёв стенки органов желудочно-кишечного тракта на одном уровне, что значительно упрощало наложение непрерывного однорядного шва. Кроме этого, манипуляции выполняемые при ушивании гастро-, энтеро- и колотомной ран не приводили к разрушению плёнки, обеспечивающей данный эффект.

В «остром» периоде в краях резекции обнаруживалась неширокая по сравнению с 1 группой зона бокового некроза, распространявшаяся на все слои стенки исследуемых органов. После выполнения диссекции УЗС зона бокового некроза по данным гистостереометрии составляла в желудке  $124,186 \pm 9,21$  (от 69,266 до 148,219) мкм в клинических и  $167,486 \pm 13,853$  (от 138,593 до 220,728) мкм в экспериментальных наблюдениях, в тонком кишечнике –  $156,754 \pm 7,91$  (от 123,567 до 200,2) мкм в клинических и  $168,925 \pm 11,573$  (от 116,79 до 243,178) мкм в экспериментальных наблюдениях, а в толстом кишечнике –  $146,432 \pm 21,25$  (от 91,505 до 267,865) мкм в клинических и  $167,47 \pm 3,536$  (от 146,286 до 190,795) мкм в экспериментальных наблюдениях, что достоверно меньше, по сравнению с аналогичными показателями 1 группы наблюдений ( $P < 0,005$ ). Тщательному анализу была подвергнута зона некробиотических изменений, так как, по аналогии с I – группой животных, она могла трансформироваться в некроз. Гистостереометрически зона некробиоза в желудке составляла: в клинических наблюдениях  $119,931 \pm 7,21$  (от 78,753 до 153,078) мкм, в экспериментальных наблюдениях –  $83,56 \pm 3,923$  (от 71,561 до 103,71) мкм, в тонком кишечнике в клинических наблюдениях  $74,082 \pm 5,081$  (от 45,98 до 98,133) мкм, в экспериментальных наблюдениях –  $75,074 \pm 4,93$  (от 51,431 до 107,762) мкм, в толстом ки-

шечнике в клинических наблюдениях составила  $127,333 \pm 10,89$  (от 82,179 до 180,385) мкм, в экспериментальных –  $68,54 \pm 5,388$  (от 43,527 до 91,06) мкм. Перечисленные показатели ширины зоны некробиоза достоверно меньше, чем аналогичные показатели I группы наблюдений ( $P < 0,005$ ). Расстройства кровообращения в зоне диссекции и вблизи нее характеризовались гиперемией сосудов МЦР с развитием эритроцитарных стазов, микротромбов, а также мелких периваскулярных кровоизлияний. Сосуды собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы вне зон некроза и некробиоза характеризовались умеренным полнокровием, их БМ тонкие, интенсивно ШИК-позитивные. В составе сосудистых базальных мембран в виде линейного свечения умеренной интенсивности выявлялся коллаген IV типа. Коллагеновые волокна собственной пластинки слизистой оболочки и подслизистой основы при окраске по Ван Гизон фуксинофильны, содержали оба интерстициальных коллагена – III и I типов, с заметным преобладанием коллагена III типа.

В серии хронических опытов было установлено, что после применения УЗС, в подавляющем числе наблюдений, спаечный процесс в области операции не наблюдался. В тех случаях, когда сращения между париетальной брюшиной и органами желудочно-кишечного тракта развивались, то они были представлены плоскостными и легко разъединяемыми спайками. Исходя из того факта, что ведущим патогенетическим звеном в развитии процесса спайкообразования является выраженность повреждения брюшины, можно прийти к заключению, что влияние ультразвуковой энергии на брюшину значительно меньше, чем при электрохирургическом воздействии, что выражалось в развитии незначительного спаечного процесса.

Динамика морфологических изменений в разные сроки эксперимента после выполнения электродиссекции представлена в табл. 2.

Таблица 2  
Данные гистостереометрического исследования во II группе наблюдений желудок,  
( $M \pm m$ ,  $n=30$ )

Сутки	Зона некроза (мкм)		Зона некробиоза (мкм)		Зона воспаления (мкм)		ГТ/рубец (мкм)	
	1-о ряд.	2-х ряд.	1-о ряд.	2-х ряд.	1-о ряд.	2-х ряд.	1-о ряд.	2-х ряд.
3	$185,043 \pm 5,7$	$165,744 \pm 9,037$	$92,007 \pm 1,479$	$90,057 \pm 3,816$	$97,833 \pm 2,079$	$93,102 \pm 3,424$	$68,672 \pm 2,625$	$96,063 \pm 2,876$
7	$172,808 \pm 14,729$	$147,269 \pm 13,109$	$88,944 \pm 7,635$	-	$102,57 \pm 12,941$	$97,106 \pm 4,536$	$149,053 \pm 10,667$	$190,11 \pm 8,507$
14	$111,525 \pm 6,835$	$101,063 \pm 5,556$	-	-	$103,09 \pm 5,553$	$100,947 \pm 4,77$	$198,503 \pm 14,994$	$177,142 \pm 9,16$
30	$61,653 \pm 5,259$	$48,388 \pm 2,777$	-	-	$103,503 \pm 3,527$	$106,949 \pm 5,76$	$321,145 \pm 12,213$	$350,558 \pm 11,214$

На 3 сутки в области диссекции боковой некроз был частично фрагментирован, отграничен демаркационным валом, местами отторгался. Зона некробиотических изменений обнаруживалась не в каждом наблюдении. Зона некроза отграничивалась от окружающих тканей демаркационным воспалительным валом. В составе воспалительного инфильтрата кроме полиморфноядерных лимфоцитов (ПЯЛ) в большом количестве выявлялись функционально активные макрофаги, участвующие в резорбции некротического детрита. Тем не менее, иммуногистохимическое исследование в составе воспалительного инфильтрата выявило преобладание CD18-НГ. Кроме того определялись CD3-Т-лимфоциты, CD45RA-В-лимфоциты и ED1-макрофаги, а также клетки-продуценты провоспалительных (ИЛ-1 $\beta$ , ИЛ-6, ФНО) и противовоспалительных цитокинов (ИЛ-10, ИЛ-4). Послеоперационные швы проходили по неизменным тканям, которые характеризовались умеренно выраженными циркуляторными расстройствами в МЦР с развитием эритроцитарных стазов, периваскулярных кровоизлияний. Базальные мембраны сосудов набухшие, интенсивно ШИК-позитивные. В их составе выявлялось неравномерное линейное свечение коллагена IV типа.

В краях послеоперационной раны уже на 3 сутки обнаруживались участки восстановления призматического эпителия. При этом регенерирующий эпителий характеризовался базофилией цитоплазмы и высокой интенсивностью РНП и ДНП. Выявлялось очаговое, умеренной интенсивности свечение коллагена IV типа, по-видимому, представляющего собой элементы базальных эпителиальных мембран. В динамике репаративных процессов после выполнения ультразвуковой диссекции наблюдалось раннее и постепенное уменьшение зоны некроза, которое происходило не путем её отторжения, а путем постепенной резорбции и замещения ГТ в условиях слабо выраженного воспаления. При этом удастся проследить последовательные стадии воспалительного процесса. В нейтрофильную стадию, которая имела место на 3 сутки после оперативного вмешательства, преобладающими клеточными формами являются ПЯЛ (CD18) на фоне высокой активности провоспалительной цитокиновой системы. На смену этой стадии довольно рано приходит макрофагальная (7 сутки), когда значительно нарастает популяция ED1, а также лимфоцитов (CD3, CD45RA), а затем фибробластическая (14, 30 сутки) стадии. Особенностью местных им-

мунных реакций являлось также нарастание активности противовоспалительной цитокиновой системы и торможение провоспалительной активности по мере развития регенерационного процесса.

Регенерация в области УЗ-диссекции происходила путем формирования ГТ, при этом полноценность репарации определялась кооперацией эпителиальных и соединительнотканых компонентов. Как известно, стойкая эпителизация, завершающая процесс репарации, тесно связана с полноценностью подлежащей соединительной ткани. Начало восстановления эпителия отмечалось на 3-и сутки, но это были единичные островки, а в полной мере этот процесс проявлялся лишь после того, как окончательно резорбировались некротические массы и появлялась субэпителиальная базальная мембрана, содержащая коллаген IV типа, а именно начиная с 14 суток. Восстановление слизистой оболочки (эпителия, собственной пластинки и мышечной пластинки) в месте диссекции происходило путем реституции, а подслизистой и мышечной оболочек путем субституции, т.е. с формированием на месте диссекции соединительнотканного рубца.

Данные гистостереометрии убедительно доказывают, что при УЗ-диссекции по сравнению с ЭН-диссекцией менее выражены некротические и некробиотические процессы, имеет место значительно более быстрая резорбция и высокие темпы смены фаз воспаления и формирования полноценной ГТ, обеспечивающей успешную регенерацию всех слоев полых органов.

Сравнение гистостереометрических показателей при 1- и 2-рядных швах не выявило достоверных различий, в тоже время показало некоторое уменьшение ширины некроза и отсутствие видимых некробиотических изменений при 2-рядных швах в желудке. При этом воспалительные изменения не отличались, ГТ характеризовалась тенденцией к увеличению. В тонкой кишке гистостереометрические показатели при 1-рядных и 2-рядных швах не отличались, но опять же имело место некоторое увеличение ширины ГТ при 2-рядных швах. В толстом кишечнике имело место недостоверное увеличение ширины некроза при 2-рядных швах, остальные показатели совпадали с показателями при 1-рядных швах. Это даёт основания утверждать о достаточной надёжности 1-о рядного шва, при этом наложения 2-ух рядного шва способствует формированию вырванной грануляционной ткани с последующим образованием грубого рубца.

В отношении коллагенообразования в стенках желудка, толстого и тонкого кишечника существенные особенности не выявлены между группами, где накладывались 1-рядные и 2-х рядные швы. Во всех органах в зонах регенерации преобладал коллаген III

типа, зрелый коллаген I типа в более ранние сроки появлялся в стенке желудка, позже в стенках кишечника. По сравнению с ЭН-диссекцией для УЗ-диссекции характерно более раннее образование как интерстициальных коллагенов III и I типов, так и коллагена IV типа в эпителиальных базальных мембранах зоны регенерации соответственно желудка, тонкого и толстого кишечника.

В сосудах зон регенерации стенок желудка, тонкого и толстого кишечника с 14 суток к 30-м суткам эксперимента нарастает степень экспрессии рецепторов к эндотелину-1 вне зависимости от характера швов. При этом по сравнению с ЭН-диссекцией степень интенсивности эндотелин-продукции расценивается как умеренная.

## **ВЫВОДЫ**

1. Особенностью течения регенераторного процесса при использовании МЭС являются выраженные деструктивные изменения с развитием воспалительной инфильтрации НГ не только зоны некроза и некробиоза, но и зоны ГТ, в дальнейшем замедленные фибропластические процессы, ослабленный коллагеногенез, а также усиленный рост сосудов ГТ, как

результат гипоксии, ведут к формированию неполноценной ГТ, склонной к воспалительному процессу и вторичным некрозам, что неблагоприятно сказывается на течении процессов репарации, замедляя их.

2. Течение регенераторного процесса при использовании УЗС характеризуется ограниченностью деструктивных изменений, ранним и постепенным уменьшением зоны некроза, которое происходит не путем её отторжения, а путем постепенной резорбции и замещения ГТ в условиях слабо выраженного воспаления. Полноценность репарации определяется ко-операцией эпителиальных и соединительнотканых компонентов.
3. Сравнение течения репаративных процессов при 1- и 2-рядных швах выявило достаточную надёжность 1-но рядного шва, который выгодно отличается от 2-х рядного тем, что при его заживлении формируется эластичный рубец без выраженной грануляционной ткани. Принципиальным в течении репаративных процессов является вид физической диссекции тканей.

Перспективы дальнейших исследований заключаются в разработке наиболее щадящих методов диссекции тканей и коагуляции при выполнении операций на органах желудочно-кишечного тракта, что в комплексе с другими мероприятиями позволит предупредить послеоперационные осложнения связанные с заживлением анастомозов.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Лейзерман М.Г., Лесков И.В., Наседкин А.Н., Старосветский Б.В. и др. Сравнительное изучение радиоволнового, лазерного и ультразвукового воздействия на биологические ткани в эксперименте // *Российская ринология*. – 1999. – №3. – С. 16–18.
2. Фёдоров И.В., Сигал Е.И., Одинцов В.В. Эндоскопическая хирургия. – М.: ГЭОТАР Медицина, 1998. – 351 с.
3. Фролькис В.В., Мурадян Х.К. Экспериментальные пути продления жизни.- Л.: «Наука», 1988.- 246с.
4. Gedaly R., Pomposelly J.J., Pomfert E.A., et all. Cavernous hemangioma of the liver // *Arch. Surg.* – 1999. – Vol. 134. – P. 407 – 411.

# **ПАТОМОРФОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ ЕЛЕКТРИЧНОЇ ТА УЛЬТРАЗВУКОВОЇ ДИСЕКЦІЇ ТКАНИН НА ВИРАЖЕННЯ МІСЦЕВИХ ЗМІН ТА ДИНАМІКУ РЕПАРАТИВНОГО ПРОЦЕСУ В ОРГАНАХ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ**

*О.І. Цівенко<sup>1</sup>, І.В. Сорокіна<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Харківський Національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

<sup>2</sup>Харківський державний медичний університет, Україна

## **РЕЗЮМЕ**

Представлені результати комплексного вивчення дії ультразвукового скальпелю (УЗС) та монополярного електроскальпеля (МЕС) на тканини шлунково-кишкового тракту. Проаналізовані особливості перебігу репаративного процесу у післяопераційному періоді в експерименті після застосування УЗС та МЕС. На підставі отриманих даних виявлені особливості дії на біологічні тканини різних видів енергії та їх вплив на процеси репарації. Отримані дані свідчать про переваги ультразвукової дисекції над електрохірургічною.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ультразвуковий скальпель, монополярний електроскальпель, шлунково-кишковий тракт

## **PATHOMORFOLOGICAL STUDY OF ELECTRIC AND ULTRASONICALLY ACTIVATED TISSUE DISSECTION ON THE LOCAL ALTERATION EXPRESSION AND REPARATION PROCESS IN DIGESTIVE SYSTEM**

*A.I. Tsivenko, I.V. Sorokina<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Kharkiv State Medical University, Kharkiv, Ukraine

<sup>2</sup>V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

### **SUMMARY**

There have been shown the results in complex study of ultrasonically activated scalpel (UAS) and electric scalpel (ES) on digestive route. Specifics of after-operational period in experiment trial have been analyzed after performed interventions using UAS and ES. Basing on the results of obtained data there have been determined specifics of influence of different types of energy on the reparation processes. Obtained results showed advantages of ultrasonically activated scalpel in compare with electric scalpel.

**KEY WORDS:** ultrasonically activated scalpel, electric scalpel, digestive system

УДК: 616.351—006+615.849+615.28

## **КЛИНИКО-МОРФОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАКА ПРЯМОЙ КИШКИ**

*Т.П. Якимова, А.В. Свиначенко*

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Украина

Институт медицинской радиологии имени С.П. Григорьева АМН Украины, г. Харьков, Украина

### **РЕЗЮМЕ**

Представлены данные о морфологических вариантах и пролиферативном потенциале аденокарцином прямой кишки на биопсийном материале среди больных резектабельным раком прямой кишки, которым не проводилось лечение.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** рак прямой кишки – морфологические особенности

Рак прямой кишки (РПК) является распространенной онкопатологией и занимает одно из первых мест в ряду злокачественных новообразований. Результаты лечения РПК существенно зависят от степени распространенности процесса, состояния организма и характера лечения. Несмотря на установившуюся во всем мире практику использования лучевой терапии в качестве нео- или адьювантного метода лечения РПК, последний отличается достаточно высокой радиорезистентностью из-за того, что среди его

морфологических вариантов преобладают железистые формы [1, 2]. Последнее обстоятельство зачастую требует при проведении лучевой терапии идти на риск подведения суммарных очаговых доз, превышающих толерантность нормальных тканей [3]. Поэтому при формировании конкретного плана лучевого лечения не последнюю роль играет необходимость учитывать степень дифференцировки аденокарциномы прямой кишки, ее пролиферативный потенциал и глубину инвазии в стенку кишки [4].

Цель исследования заключалась в оценке морфологических особенностей основного варианта РПК, каким являются аденокарциномы.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стали раки прямой кишки у 50 больных в возрасте от 42 до 76 лет, которые имели стадию заболевания T2N0M0 (14 человек), T3-4N0M0 (28 человек) и T3-4N1M0 (8 человек). При морфологическом исследовании учитывали характер роста опухоли (экзофитный, эндофитный, смешанный), гистологическую структуру, степень дифференцировки опухоли, митотическую активность, количество патологических митозов, характер клеточных и иммунных реакций в строме опухоли, наличие и степень выраженности дистрофических и регрессивных изменений в опухолевых клетках и самой опухоли, а также наличие некрозов, апоптоза; морфометрическое исследование проводили при помощи морфометрической сетки [5].

Гистологическую структуру и степень дифференцировки опухоли определяли по Гистологической классификации опухолей кишечника ВОЗ (№18, 1977 г.) [6], митотический индекс и количество патологических митозов определяли по методу И.А. Алова [7] и А.И. Казанцевой [8], лучевой патоморфоз, степень лучевого повреждения опухоли и характер клеточных стромальных реакций определяли по методике Якимовой Т.П. [5].

не очень густой, но весьма значительной инфильтрацией стромы опухоли иммунокомпетентными клетками – лимфоцитами, плазмочитами и небольшим количеством нейтрофильных, а иногда и эозинофильных гранулоцитов.

В связи с наличием у преимущественного большинства опухолей смешанного, экзо- и эндофитного характера роста под воздей-

Статистическую обработку результатов проводили по методу Фишера-Стьюента. Определяли среднее значение (M) и ошибку среднего (m).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологическая характеристика рака прямой кишки без какого-либо воздействия изучена у 50 человек на основании биопсийного материала. Исследованиями установлено, что основной гистологической формой рака была умереннодифференцированная аденокарцинома (G2), которая была выявлена у 24 человек (48%), у значительного количества больных – 18 человек (36%) выявлена низкодифференцированная аденокарцинома (G3), и у 8 больных диагностирована высокодифференцированная аденокарцинома (G1), что было наименьшей частотой (16%). Характер роста опухолей был в основном эндофитным, то есть опухоль прорастала стенку кишки вглубь на 0,2-1,4 см, иногда до брыжейки. Средняя глубина инвазии составляла  $0,87 \pm 0,35$  мм.

У интактных опухолей была установлена достаточно значительная пролиферативная активность, о чем свидетельствует высокий митотический индекс и количество патологических митозов, что скорее всего обусловлено преобладанием умеренно- и низкодифференцированных опухолей (табл. 1).

Следует отметить достаточно активный характер клеточных и иммунных реакций стромы, которые характеризовались хотя и ствием на опухоль иммунокомпетентных клеток стромы и повреждения опухоли в результате деятельности кишечника и воздействия на опухоль его содержимого, у 23 человек (46%) выявлены признаки повреждения опухоли и спонтанной регрессии, хотя и весьма слабой степени выраженности (табл. 1).

Таблица 1

Морфологическая характеристика рака прямой кишки до лечения (M±m)

Изучаемые показатели	Степень лучевого повреждения опухоли, усл. ед.	Степень дистрофии опухолевых клеток, усл. ед.	Митотический индекс, ‰	Количество патологических митозов, ‰	Активность клеточных стромальных реакций, усл. ед.	Индекс апоптоза, %
Величина показателя	$0,81 \pm 0,17$	$0,63 \pm 0,14$	$21,81 \pm 2,39$	$65,46 \pm 11,06$	$2,56 \pm 0,15$	$1,12 \pm 0,13$

В результате повреждения и регрессии опухолевых масс появились мелкие участки изъязвления с наличием в строме опухоли воспалительного инфильтрата, развитием гранулирования и организации мест разрушенной опухоли. Эти процессы были более свойственны низкодифференцированным

опухолям (у 6 человек – 12%), в которых выявлены участки некроза и в большинстве опухолей криброзные структуры. В свою очередь необходимо подчеркнуть, что такие участки некроза опухоли

и пустоты, формирующие кривозные структуры, возникают в низкодифференцированных опухолях в результате апоптоза.

Признаки апоптоза выявлены в 23 интактных опухолях (46%), однако степень выраженности апоптоза в опухолях незначительна и индекс апоптоза весьма низкий –  $1,12 \pm 0,13\%$ . Объем резидуальной ткани составлял в интактных опухолях 20,25%. Наличие морфологических различий в аденокарциноме умеренной, низкой и высокой степени дифференцировки диктует необходимость отдельной характеристики опухолей разной степени дифференцировки.

Сравнительная морфологическая характеристика рака прямой кишки различной степени дифференцировки представлена в табл. 2. Как видно из приведенных в ней данных, степень повреждения опухоли в интактных опухолях высокой степени дифференцировки отсутствует, что связано скорее всего с расположением опухоли в основном в подслизистой основе и базальных отделах слизистой оболочки, так что воздействию перистальтики и кишечного содержимого они не подвергались.

Таблица 2  
Сравнительная характеристика морфологических свойств аденокарциномы прямой кишки в зависимости от степени дифференцировки (M±m)

Степень дифференцировки опухоли	Степень повреждения опухоли, усл. ед.	Степень дистрофии опухолевых клеток, усл. ед.	Митотический индекс, ‰	Количество патологических митозов, ‰	Выраженность клеточных стромальных реакций, усл. ед.	Индекс апоптоза, %
G1, n=8	0	$1,0 \pm 0,15$	$23,5 \pm 1,50$	$42,94 \pm 17,9$	$2,75 \pm 0,25$	$0,56 \pm 0,01$
G2, n=24	$0,63 \pm 0,12$	$0,57 \pm 0,17$	$22,43 \pm 3,84$	$69,65 \pm 10,8$	$2,56 \pm 0,11$	$0,72 \pm 0,12$
G3, n=18	$1,0 \pm 0,19$	$0,56 \pm 0,06$	$19,17 \pm 3,64$	$67,36 \pm 6,07$	$2,60 \pm 0,12$	$1,51 \pm 0,25^*$

\* - достоверные различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с группами G1 и G2

В этих опухолях наблюдалась высокая митотическая активность и сравнительно умеренное количество патологических митозов.

Характер и выраженность клеточных стромальных реакций был преимущественно иммунным, то есть строма опухоли была достаточно густо инфильтрирована лимфоцитами, плазмочитами, макрофагами и гистиоцитами. В опухолях выявлены признаки апоптоза, но индекс апоптоза был весьма низким (явления апоптоза выявлены у 2 из 8 больных). Хотя степень дистрофии в клетках опухолей была слабой, но она выявлялась у всех больных.

Что касается умеренно дифференцированных аденокарцином, то в них уже выявлены признаки слабой спонтанной регрессии опухоли, которые появились в результате воздействия иммунных реакций в строме опухоли и роста опухоли как экзофитно, так и эндофитно. В группе умереннодифференцированных аденокарцином регрессивные изменения выявлены в 50% случаев (у 12 человек).

Вместе с тем, эти регрессивные изменения были весьма слабо выражены и объем резидуальной опухоли составлял всего 15,75%. Степень повреждения опухолевых клеток проявлялась дистрофическими изменениями, в виде ослабления окраски клеток

опухоли и их ядер, появления признаков жировой дистрофии, вакуолизации ядра и цитоплазмы, некоторого увеличения размеров клеток за счет набухания цитоплазмы в связи с ее вакуолизацией. Такие изменения выявлены в 79,17% опухолей (у 19 из 24), однако степень их выраженности была менее чем слабой, едва заметной. В этой группе опухолей пролиферативные свойства были высокими и увеличилось количество патологических митозов, что скорее всего связано с прогрессированием опухолей и поликлональными свойствами раковых клеток. Признаки апоптоза были слабо выражены, в небольшом количестве клеток, но все же с большей частотой, чем в группе высокодифференцированных аденокарцином – в 37,5% случаев, тогда как в группе высокодифференцированных аденокарцином клетки в состоянии апоптоза выявлены у 25,0% опухолей.

Что касается клеточных реакций стромы опухоли, то они были весьма значительными с достаточным количеством иммунокомпетентных клеток в опухолях различной степени дифференцировки.

Наиболее существенные отличия от морфологии высоко дифференцированных и умереннодифференцированных аденокарцином мы выявили в группе низкодифференцированных аденокарцином. Однако, все



морфологические изменения во всех группах количественно отличались не достоверно, кроме степени выраженности и частоты апоптоза. Степень повреждения опухоли на тканевом уровне в группе низкодифференцированных аденокарцином была слабо выражена и выявлялась она у 61,11% опухолей, что несколько выше и чаще, чем в группе умереннодифференцированных опухолей. Как было указано выше, это участки повреждения и изъязвления на поверхности и в более глубоких участках, замещенные грануляционной и соединительной тканью. Дистрофические изменения в опухолевых клетках были минимальны в 66,67% опухолей. Пролiferативная активность в аденокарциномах низкой степени дифференцировки была довольно высокой, хотя несколько ниже, чем в опухолях более высокой степени дифференцировки. Это можно объяснить наличием в опухолях некрозов и формированием кривозных структур на месте мелких некрозов, возникших в результате изъязвлений опухоли и апоптоза. Нами установлено, что чем ниже степень дифференцировки опухоли, тем больше выражена степень спонтанного повреждения опухоли как путем некроза, так и апоптоза.

Подводя итог морфологическому исследованию интактного рака прямой кишки, следует указать, что основной гистологической структурой опухоли является умереннодифференцированная аденокарцинома (48%) и довольно часто (36%) выявляется аденокарцинома низкой степени дифференцировки. У 46% опухолей появляются весьма незначительные признаки повреждения опухоли в поверхностных отделах за счет травмы опухоли содержимым кишечника и перистальтикой и изъязвления, воспаления и воздействия местных клеточных иммунных реакций. Рак прямой кишки отличается высокой пролиферативной активностью и количеством патологических митозов, уровень и частота которых нарастает по мере снижения степени дифференцировки аденокарциномы. По мере снижения степени дифференцировки опухоли в ней появляются некрозы, усиливаются явления апоптоза, что приводит к изменению структуры опухоли и появлению в низкодифференцированных опухолях кривозных структур.

Глубина прорастания опухолью стенки кишки слабо зависит от степени дифферен-

цировки опухоли. При умеренной и низкой степени дифференцировки аденокарциномы глубина прорастания стенки кишки колеблется чаще от 0,2 до 0,8 мм, но иногда опухоль прорастает стенку на глубину 1,4 см. Вместе с тем, при высоко дифференцированной аденокарциноме нами не выявлено опухолей с глубиной инвазии более 0,6 см, а при умеренно- и низкодифференцированной аденокарциноме нами выявлены опухоли, прорастающие кишку и окружающие ткани с глубиной инвазии до 1,4 см.

## ВЫВОДЫ

1. Основной гистологической структурой рака прямой кишки является умереннодифференцированная аденокарцинома, выявляемая в 48% случаев. Низкодифференцированная аденокарцинома регистрируется в 36,0%, а высоко дифференцированная аденокарцинома является наименее редкой опухолью – 16%.
2. Рак прямой кишки имеет высокие пролиферативные потенции, о чем свидетельствует высокий митотический индекс –  $21,81 \pm 2,33^{0/00}$ .
3. Глубина инвазии опухолей колеблется от 0,2 см до 1,4 см, что скорее всего и обуславливает высокий уровень местных клеточных реакций стромы на опухоль и наличие спонтанных мелких некрозов у 12% опухолей, в основном, едва заметные регрессивные изменения, что в основном связано с наличием перистальтики и воздействия кишечного содержимого.
4. Некрозы в опухолях подвергаются заживлению с помощью общепатологических реакций организма – через стадию воспаления, развития грануляционной ткани и организацию патологического очага с разрастанием вновь образованной соединительной ткани.
5. В низкодифференцированных аденокарциномах апоптоз обуславливает развитие кривозных структур.

Перспективы исследования: результаты исследования являются основой оценки эффективности лучевой терапии рака прямой кишки и дают четкое представление об особенностях морфологической структуры современного рака данной локализации.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Manenti A., Gavioli M., Santantonio M. et al. // *Minerva Chir.* - 1997. - Vol.52. - № 2. - P. 1029-1034.
2. Wheeler J.M., Warren B.F., Mortensen N.J.McC, et al. // *Dis. Colon Rectum.* - 2002. - Vol. 45. - P. 1051-1056.
3. International Commission on Radiation Units and Measurements. ICRU Report 62: Prescribing, recording and reporting photon beam therapy (supplement to ICRU report 50). ICRU News, Desember. - 1999.

4. Pacelli F., Di Giorgio A., Papa V., et al. // *Dis. Colon Rectum*. - 2004. - Vol. 47. - P. 170-179.
5. Якимова Т.П. // *Информац. письмо*. – Киев. - 1982. - № 2. - 2 с.
6. Патологоанатомическая диагностика опухолей человека. Руководство в 2-х томах. / Под ред. Н.А. Краевского, А.В. Смольяникова, Д.С. Саркисова - 4-е изд. - М.:Медгиз. - 1993. - 688 с.
7. Алов И.А. Цитофизиология и патология митоза. - М.:Медицина. - 1972. - 264 с.
8. Казанцева А.И. // *Архив патологии*. - 1980. - № 2. - С. 77-82.

## КЛІНІКО-МОРФОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА РАКУ ПРЯМОЇ КИШКИ

*Т.П. Якимова, А.В. Свинаренко*

Харківська медична академія післядипломної освіти, Україна  
Інститут медичної радіології імені С.П. Григор'єва АМН України, м. Харків, Україна

---

### РЕЗЮМЕ

Представлені дані про морфологічні варіанти і проліферативний потенціал аденокарцином прямої кишки на біопсійному матеріалі серед хворих на резектабельний рак прямої кишки, яким не проводилося лікування.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** рак прямої кишки – морфологічні особливості

## CLINICAL AND MORPHOLOGICAL DESCRIPTION OF RECTAL CANCER

*T.P. Yakimova, A.V. Svinarenko*

Kharkov medical academy of postgraduate education, Ukraine  
Institute of medical radiology named by S.P. Grigoriev, Academy of Medical Science, Kharkov, Ukraine

---

### SUMMARY

The data about histological varieties and proliferation activity of rectal adenocarcinomas evaluated in biopsies taken from untreated patients with resectable rectal cancer are presented.

**KEY WORDS:** rectal cancer – morphology

УДК: 612.359

## НЕСПЕЦИФИЧЕСКИЙ РЕАКТИВНЫЙ ГЕПАТИТ У БОЛЬНЫХ ЖЕЛЧНОКАМЕННОЙ БОЛЕЗНЬЮ

*С.А. Бычков*

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

---

### РЕЗЮМЕ

В работе проведено патоморфологическое исследование структуры печени у больных калькулезным холециститом. В результате проведенных патоморфологических исследований показано, что при калькулезном холецистите имеет место неспецифический реактивный гепатит, наличие которого обуславливает проведение корригирующей медикаментозной терапии в предоперационном и раннем послеоперационном периодах.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** желчнокаменная болезнь, неспецифический реактивный гепатит

При желчнокаменной болезни (ЖКБ), в большинстве случаев, в патологический процесс вовлекаются печеночная паренхима, внутриспеченочные и внепеченочные протоки, что в свою очередь может привести к развитию неспецифического реактивного гепатита (НРГ), который сопровождается нарушениями физико-химического состава

желчи, холестатическими и цирротическими изменениями, тяжесть которых коррелирует с длительностью и тяжестью основного заболевания [1, 2, 3, 4, 5]. Большинство авторов высказывают предположение о нарушениях ультраструктуры гепатоцитов как о факторе патогенеза камнеобразования [1, 5, 6].

Работа выполнена в соответствии с комплексной научно-исследовательской работой кафедры хирургических болезней Харьковского национального университета имени В.Н. Каразина «Разработка малоинвазивных оперативных вмешательств с использованием низких температур в лечении больных желчнокаменной болезнью, язвенной болезнью желудка и двенадцатиперстной кишки», номер госрегистрации 0100U005308.

Анатомическая и физиологическая взаимосвязь желчного пузыря и печени обуславливает вовлечение ее в патологический процесс при ЖКБ. По данным В.Б.Симоненко и соавт. (1999) морфологические изменения в печени наблюдаются у 91-92% больных ЖКБ. У 25-50% страдающих ЖКБ при морфологическом исследовании выявляется жировая дистрофия печени, у 18-27,3% – персистирующий гепатит и в 14,3-15,6% отмечается их сочетание [4]. У 88% пациентов обнаруживаются воспалительные, фиброзные и дегенеративные изменения, причем частота билиарного цирроза может достигать 4% [7, 8].

Нельзя не отметить, что длительное течение ЖКБ с развитием осложненных её форм и наличием морфологических изменений в печени, пожилой и старческий возраст пациентов оказывает значительное влияние на результаты хирургического лечения. Послеоперационная летальность у данной группы больных, по данным многих исследователей, составляет 18,5-20% [5, 8], в то время как у пациентов без сопутствующих изменений печени она находится на уровне 0,9-1,3% [7, 8]. Следовательно, выявление патоморфологических изменений печени и их своевременное окислин-эозином, по Гимзе, по Ван-Гизону, PAS или ШИК-реакцией.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

В результате анализа проведенной работы были получены следующие данные, которые представлены в табл. и на рис. 1-5. У 46 (86,8%) больных острым и хроническим калькулезным холециститом выявлены морфологические изменения печени, характеризующиеся дистрофическими изменениями клеток паренхимы (21 больной), воспалительной инфильтрацией интерстициальной ткани (16 больных), желчных капилляров (34 больных), разрастанием фиброзной ткани (11 больных) и дилатацией синусоидов (14 больных). Выявленные изменения можно расценивать как проявления НРГ. Частота выявления НРГ при хронических (86,2%) и острых (87,5%) формах ЖКБ была практически одинакова.

Только у 7 (13,2%) больных ЖКБ не было

и целенаправленная коррекция являются необходимым условием эффективного лечения ЖКБ.

Целью настоящей работы явилось изучение патоморфологических изменений печени у больных ЖКБ.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Нами изучены патоморфологические изменения в печени у 53 больных ЖКБ в зависимости от формы воспаления желчного пузыря. Среди обследованных больных хронический холецистит диагностирован у 29 больных, острый холецистит – у 24 больных. Формы острого калькулезного холецистита были следующими: острый катаральный холецистит (10), флегмонозный (8) и гангренозный (6).

Материалом для исследования служила ткань печени, полученная в ходе лапароскопической холецистэктомии путем краевой биопсии правой доли печени в месте, удаленном от желчного пузыря. Биопсия печени проводилась у больных с отсутствием в анамнезе вирусных гепатитов и их сывороточных маркеров, а также других заболеваний печени с целью исключения влияния на морфологические изменения печени других факторов, кроме ЖКБ.

Для морфологического исследования использовали биоптаты печени, полученные субоперационно, и удаленные желчные пузыри. Полученный материал фиксировали в 10% нейтральном растворе формалина и потом заливали в парафин. Парафиновые срезы окрашивали стандартными методиками: ге-

выявлено морфологических изменений печени. Следует отметить, что длительность заболевания у них не превышала 3 лет.

У 16 (30,2%) больных выявлены воспалительные изменения, проявляющиеся лимфоцитарной инфильтрацией межлочечковой ткани. Причем на частоту выявления и выраженность изменений во многом влияла форма воспаления желчного пузыря. При острых формах ЖКБ лимфоцитарная инфильтрация выявлена у 11 (45,8%) больных, у большинства (9 больных) из которых наблюдалась умеренная и выраженная степень проявления последней. При хронических формах ЖКБ лимфоцитарная инфильтрация выявлена только у 5 (17,2%) больных, причем в основном (у 4 из 5 больных) в виде слабо выраженных изменений.

Большой удельный вес в морфологических изменениях печени при ЖКБ занимает внутриспеченочный холангит, который выявлен у 34 (64,2%) больных. При этом отмеча-

ется, что лимфоциты и другие клетки в наибольшем количестве располагаются в междольковой соединительной ткани вокруг желчных капилляров, портальные тракты были утолщены, приобретали цилиндрическую форму и обильно инфильтрированы лимфоидно-гистоцитарными элементами. В последующем происходило склерозирование портальных трактов и септ, направленных внутрь долек. Одновременное наличие склерозированных и лимфоцитарно-инфильтрированных портальных трактов свидетельствуют о волнообразном развитии изменений в печени, что, по-видимому, обусловлено периодами обострения и ремиссии болезни. Портальные тракты за счет образования фиброзных, воспалительно-инфильтративных септ приобретали звездчатую форму, местами сливались между собой, развивался перидуктальный фиброз. Причем на частоту и степень выраженности воспалительной

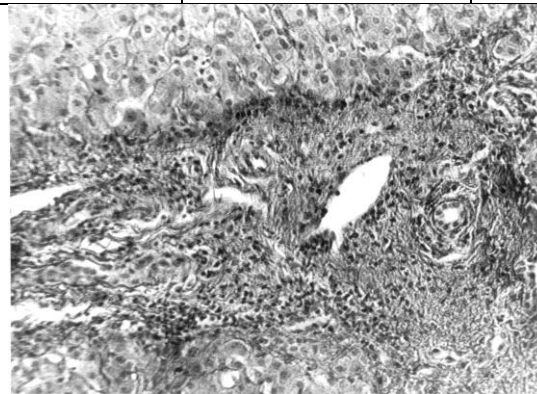
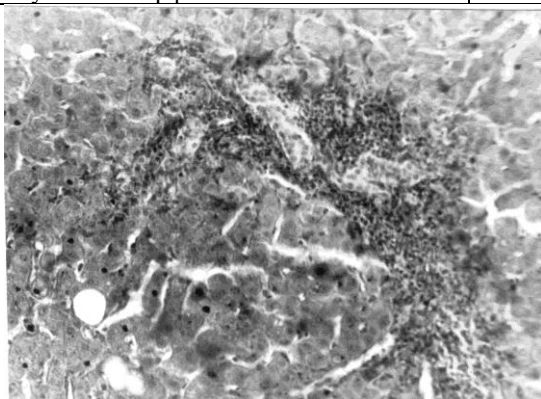
инфильтрации желчных капилляров во многом влияли форма воспаления желчного пузыря и длительность камненосительства. Гистологические признаки внутриспеченочного холангита выявлены у 21 (87,5%) больного при остром холецистите и у 13 (44,8%) больных при хроническом холецистите, причем наиболее выраженная тяжесть внутриспеченочного холангита наблюдалась у больных с анамнезом ЖКБ более 10 лет и при наличии механической желтухи при поступлении.

При внутриспеченочном холангите лимфоцитарная инфильтрация выявлена у 10 (29,4%) больных. По мере возрастания тяжести холангита степень лимфоцитарной инфильтрации также усиливалась. Выявлен четкий параллелизм между степенью выраженности холангита и частотой фиброзных поражений портальных трактов, которые выявлены у 11 (20,7%) больных.

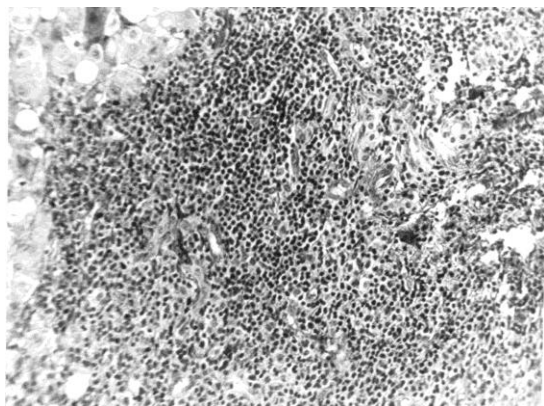
Таблица

**Характер морфологических изменений ткани печени у больных ЖКБ**

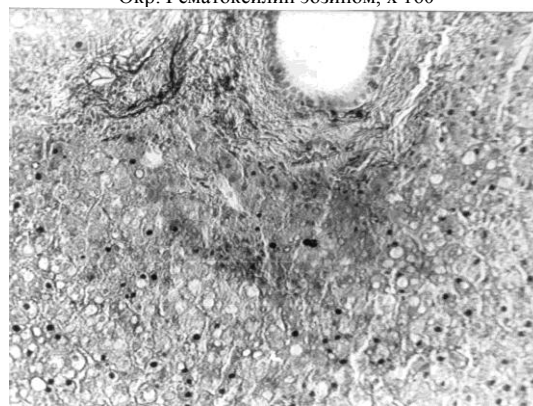
Морфологические признаки	Хронический калькулезный холецистит n=29	Острый калькулезный холецистит n=24	Всего
Лимфоцитарная инфильтрация:			
слабая	4	2	6
умеренная	1	7	8
выраженная	-	2	2
Жировая дистрофия:			
слабая	4	-	4
умеренная	2	6	8
выраженная	6	3	9
Холангиты:			
слабый	6	1	7
умеренный	4	9	13
выраженный	3	11	14
Фиброзные изменения	5	6	11
Дилатация синусоидов	6	8	14
Отсутствие морфологических изменений	4	3	7



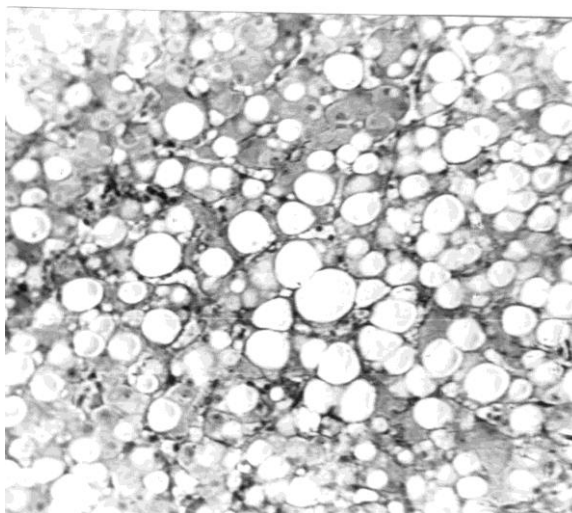
**Рис. 1.** Биоптат печени больного К. Умеренный холангит мелких протоков со слабой жировой дистрофией. Окр. гематоксилин-эозином,  $\times 160$



**Рис. 2.** Биоптат печени больной С. интенсивный холангит с умеренным и выраженным фиброзом вокруг мелких и средних желчных протоков. Окр. Гематоксилин эозином,  $\times 160$



**Рис. 3.** Биоптат печени больной З. Зона интенсивной лимфоцитарной инфильтрации со значительным распространением в паренхиму печени, умеренная жировая дистрофия. Окр. гематоксилин-эозином,  $\times 160$



**Рис. 4.** Биоптат печени больной Ш. Интенсивный перидуктальный фиброз вокруг крупного желчного протока, диффузная умеренная жировая дистрофия, лимфоидная инфильтрация. Окр. по ван-гизону,  $\times 160$

**Рис. 5.** Биоптат печени больной К. Тотальная интенсивная жировая дистрофия печени с единичными некрозами гепатоцитов. Окр. гематоксилин-эозином,  $\times 160$

Жировая дистрофия гепатоцитов выявлена у 21 (39,6%) больного. При жировой дистрофии гепатоциты теряли присущую им призматическую форму и балкообразное расположение, приобретали неправильную округлую форму. Протоплазма их была набухшей, окраска пестрой и просветленной, утрачивался специфический печеночный пузырь, а в основном определялись длительностью заболевания. Наиболее часто и более выраженные формы жировой дистрофии наблюдались у больных с анамнезом заболевания более 10 лет.

У 14 (26,4%) больных наблюдалось расширение синусоидов, в результате чего возникло сдавление и атрофия гепатоцитов.

Таким образом, при ЖКБ наблюдается развитие явлений НРГ, степень выраженности которого зависит от длительности заболевания и характера воспаления желчного пузыря.

цвет. В протоплазме обнаруживалось множество мелких и мельчайших жировых капелек, не сливавшихся между собой. Распределение дистрофии носило мозаичный характер, поражая преимущественно центрлобулярные отделы, причем частота и степень выраженности жировой дистрофии не зависели от характера воспаления желчного

## ВЫВОДЫ

1. При ЖКБ наблюдается развитие явлений НРГ, степень выраженности которого зависит от длительности заболевания и характера воспаления желчного пузыря.
2. У больных острым калькулезным холециститом явления НРГ проявляются в более выраженной форме, чем при хронических калькулезных холециститах.
3. Наличие НРГ у больных ЖКБ патогенетически обосновывают применение кор-

ригируюющей терапии в предоперационной подготовке и в раннем послеоперационном периоде.

Перспективы дальнейших исследований в данном направлении. Полученные результа-

ты указывают на целесообразность продолжения исследования в данном направлении с целью выбора оптимальных схем корригирующей терапии НРГ у больных ЖКБ.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Данилова Г.В. // Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». - 1999. - № 10. - С. 59-62.
2. Болдин Б.В., Каралкин А.В., Фомин Д.К. // Росс. гастроэнт. журнал. - 2000. - № 2. - С. 21-30.
3. Ермолов А.С., Дасаев Н.А., Юрченко С.В. и др. // Хирургия. - 2002. - № 4. - С. 4-10.
4. Симоненко В.Б., Беляев Л.Б., Пинуза В.И. // Клиническая медицина. - 1999. - № 5. - С. 38-41.
5. Lausten S.V., Ibrahim T.M., El-Sefi T. et al. // Dig. Surgery. - 1999. - Vol. 16. - № 6. - P. 471-477.
6. Голофеевский В.Ю., Парфенов В.Т. // Рос. журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. - 2001. - Т. XI. - № 5. - С. 91.
7. Вірстюк Н.Г., Гончар М.Г., Михайлюк І.О. и др. // Науковий вісник Ужгородського університету. - 2001. - Вип. 14. - С. 65-67.
8. Лапароскопические технологии и их интеграция в билиарную хирургию / Малоштан А.В., Бойко В.В., Тищенко А.М., и др. - Харьков: СИМ. - 2005. - 367 с.

## **НЕСПЕЦИФІЧНИЙ РЕАКТИВНИЙ ГЕПАТИТ У ХВОРИХ НА ЖОВЧНОКАМ'ЯНУ ХВОРОБУ**

*С.О. Бичков*

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

---

#### **РЕЗЮМЕ**

В роботі проведено патоморфологічне дослідження структури печінки у хворих на калькульозний холецистит. В результаті проведених патоморфологічних досліджень показано, що при калькульозному холециститі має місце неспецифічний реактивний гепатит, що зумовлює проведення коригуючої медикаментозної терапії в передопераційному та післяопераційному періодах.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** жовчнокам'яна хвороба, неспецифічний реактивний гепатит

## **NONSPECIFIC REACTIVE HEPATITIS AT PATIENTS WITH GALLSTONE DISEASE**

*S.A. Bychkov*

V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

---

#### **SUMMARY**

In work it is conducted patomorphological research of liver structure at patients with cholecystolithiasis. It is shown as a result of the conducted patomorphological researches, that at patients with cholecystolithiasis takes place reactive hepatitis, which necessitates conducting of correcting medicinal therapy in preoperative and postoperative periods.

**KEY WORDS:** cholelithiasis, nonspecific reactive hepatitis

УДК: 616.366 – 002 - 612.397-008:616.127-005.4

## **ОПЫТ ПРИМЕНЕНИЯ СИМВАСТАТИНА ПРИ МЕТАБОЛИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ХОЛЕЦИСТИТОМ И САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА**

*К.В. Вовк*

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

---

#### **РЕЗЮМЕ**

В настоящее время сочетанная патология внутренних органов – актуальная проблема терапии.

Цель работы – определение влияния симвастатина на показатели липидного спектра сыворотки крови у больных хроническим холециститом (ХрХ) при сахарном диабете (СД) 2 типа.

У больных ХрХ при СД 2 типа по сравнению с больными ХрХ наблюдаются признаки дислипидемии, а именно: гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия, повышение показателей ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП и снижение показателей ХС ЛПВП.

Терапия больных ХрХ при СД 2 типа симвастатином в дозе 20 мг в сутки приводит к нормализации показателей липидного спектра сыворотки крови и может использоваться в качестве профилактики МС и комплексном лечении данной категории больных.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** симвастатин, метаболический синдром, хронический холецистит, сахарный диабет

В настоящее время сочетанная патология внутренних органов – актуальная проблема терапии. Для сахарного диабета (СД) характерный полиорганный характер нарушений. Особое место занимает патология органов желудочно-кишечного тракта при СД [5]. «Диабетическая холецистопатия» – поражение гепатобилиарной системы при СД характеризуется нарушением функции желчного пузыря и желчевыводительной системы, а также изменением желчеобразовательной функции печени, нередко сопровождается формированием метаболического синдрома (МС) [2].

Нарушение липидного обмена – характерная черта больных СД 2 типа. Наиболее характерными особенностями дислипидемий при СД 2 типа являются: повышение содержания общего холестерина (ХС), триглицеридов (ТГ), холестерина липопротеидов низкой плотности (ХС ЛПНП) и очень низкой плотности (ХС ЛПОНП), снижение содержания антиатерогенных липопротеидов высокой плотности в плазме крови (ХС ЛПВП). Количественные и качественные изменения в липидном спектре больных СД 2 типа позволяют говорить о высоком атерогенном потенциале сыворотки крови как характерной специфической черте СД 2 типа [7, 8].

Нарушение метаболизма липидов у больных СД 2 типа является результатом, с одной стороны, нарушением контроля гликемии, с другой – составной МС.

В исследованиях с использованием гиполипидемических средств доказана эффективность коррекции дислипидемии в плане снижения заболеваемости и смертности у больных СД [3]. К гиполипидемическим средствам первой линии относятся ингиби-

рового, пигментного и ферментного обменов, перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы.

Для выявления дискинетических изменений со стороны желчного пузыря (ЖП) и желчевыводящих путей всем больным проводилась динамическая эхохолецистография (серия последовательных измерений объема ЖП с интервалом 15 минут на протяжении 1 часа после приема желчегонного завтрака),

торы 3-гидрокси-3-метилглутарил-коэнзим А (ГМГ-КоА) – редуктазы – статины, основное действие которых направлено на снижение уровня общего холестерина (ХС). Показано также, что гиполипидемический эффект симвастатина проявляется снижением уровня общего ХС, ХС ЛПНП и повышением ХС ЛПВП в плазме крови у больных СД 2 типа [4]. В настоящее время имеются немногочисленные данные о нарушениях липидного обмена у больных при сочетанной патологии, а, именно, при ХрХ и СД 2 типа. Терапевтическая коррекция таких нарушений требует детальных исследований.

Цель работы – определение влияния симвастатина на показатели липидного спектра сыворотки крови у больных ХрХ при СД 2 типа.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Было обследовано 35 больных ХрХ при СД 2 типа (1-я группа), находившихся на стационарном лечении в эндокринологическом отделении и 32 пациента ХрХ (без СД) (2-я группа), находившихся в гастроэнтерологическом отделении областной клинической больницы г. Харькова.

Постановка и верификация диагноза ХрХ у больных с СД и у пациентов без СД проводилась на основании комплексного клинико-лабораторного, биохимического и инструментального обследования в соответствии с приказом МЗ Украины № 271 от 2005 г. «Про затвердження протоколів надання допомоги за спеціальністю гастроентерологія». Биохимические исследования включали методы, позволяющие оценить состояние бел-

позволяющая оценить сократительную способность ЖП, темп эвакуации желчи [5]. Ультразвуковое исследование ЖП, желчевыводящих путей и печени осуществляли методом сплошного динамического сканирования на сканере SL-450 "Siemens"- № 14944172 в режиме реального времени. Эхо-сонографию проводили утром, натощак, после ночного голодания на протяжении 10 часов. За несколько дней до проведения исследования пациента переводили на редуци-

руемую диету: из рациона исключали бобовые, капусту, виноград, молоко, черный хлеб и другие продукты, которые повышают газообразование в кишечнике.

Оценка состояния углеводного обмена проводилась с помощью определения глюкозы натощак и гликемического профиля. Глюкозу в крови определяли глюкозооксидазным методом [1]. Для мониторинга углеводного обмена применяли следующие показатели: КГН – среднесуточные колебания глюкозы натощак; СПГ – средняя постпрандиальная гликемия; СКГ – средняя амплитуда колебаний глюкозы на протяжении суток. Как информативный метод характеристики долгосрочного гликемического контроля использовали определение гликозилированного гемоглобина (HbA<sub>1c</sub>) с помощью набора «Диабет-тест».

Липидный спектр в сыворотке крови изучался у всех больных в динамике лечения.

Изучение уровня общего ХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП проводился энзиматическим методом с помощью биохимического анализатора Stat fax 1904 plus и тест наборов Bio Merieux (Франция). Изучение содержания триглицеридов (ТГ) проводилось с помощью тест-системы Sentinel CH (Италия).

Нормативные величины изучавшихся биохимических показателей получены при обследовании 20 практически здоровых лиц,

сопоставимых по возрасту, полу и индексу массы тела. Лечение больных 1-ой группы (35 человек) проводилось традиционным способом: лечебное питание (стол № 9), глибенкламид, урсохол (пероральный ежедневный прием на ночь по 10 мг/кг/сут), эспа-липон (600 мг в сутки), спазмолитики и антибиотики (по показанием).

Больным 2-ой подгруппы (32 человека) назначали: лечебное питание стол № 5, холагогум 1 табл. 3 раза день за 15-20 мин. до еды, спазмолитики и антибиотики (по показанием).

Дополнительно всем больным назначали симвастатин в дозе 20 мг/сут однократно вечером в течение 21 дня и после выписки из стационара на протяжении 2-х месяцев.

Статистическую обработку данных проводили методами вариационной и описательной статистики с помощью стандартного пакета анализа данных программы Microsoft Excel на персональном компьютере Pentium 4 XP. Определяли показатели углеводного обмена (КГН, СПГ, СКГ, гликозилированный гемоглобин), показатели липидного обмена (общий ХС, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП, ТГ) в динамике лечения.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Среди обследованных больных женщины преобладали в обеих группах, возраст исследуемых был старше в 1-й группе (табл.1).

Таблица 1

### Основные антропометрические и клинические характеристики обследованных больных (M±m)

Показатель	Контрольная группа, n=20	1-я группа, n=35	2-я группа, n=32
Возраст (года)	40,3±3,7	49,7±1,5	46,5±2,2
Женщины (число/%)	14/70	23/65,7	24/75
Мужчины (число/%)	6/30	12/34,3	8/25
Длительность ХрХ (года)	-	6,9±1,4	6,3±0,7
Длительность СД (года)	-	10,7±0,8	-
Индекс Кетле (кг/м <sup>2</sup> )	23,7±0,9	30,8±2,3	26,3±1,4
<b>ОТ/ОБ</b>	0,81±0,1	0,98±0,1	0,84±0,2
Глибенкламид (%)	-	35 (100)	-
СД средней тяжести (%)	-	26(74,28)	-
СД тяжелый (%)	-	9( 25,72)	-

У больных 1-й группы по сравнению с больными 2-й группы уменьшалась распространенность абдоминально-болевого синдрома, практически отсутствовали проявления холецисто-кардиального синдрома. Отсутствие последнего может быть связано с нарушением вегетативной иннервации миокарда, типичной для СД. Частота правостороннего реактивного и солитарного синдромов у больных 1-й группы увеличивалась.

Из диспептических синдромов у больных 1-й группы преобладали плохой аппетит. У больных 2-й группы чаще наблюдались запоры, у больных 1-й группы наблюдались случаи выделения неоформленного кала, запоры отмечались у 3 (8,57 %) из исследуемых пациентов, что связано с наличием сопутствующей вегетативной нейропатией.



Тождественными для 2-х групп были симптомы астении – повышенная утомляемость, снижения мотивации и активности.

Таким образом, симптоматика у больных 1-й группы имеет определенные особенности в сравнении с классическими проявлениями ХрХ у пациентов без сопутствующих заболеваний. У этих больных наблюдается модификация болевого и диспепсического синдрома, растет распространенность и выраженность неспецифических проявлений ХрХ: нейро-вегетативного и астенического синдромов.

При оценке показателей динамической эхолецистографии были выявлены следующие изменения: наибольший начальный объем ЖП был у пациентов 1-й группы, у этой же группы достоверно ниже нормы были коэффициенты опорожнения ЖП на 15-ой, 30-ой, 45-ой и 60-ой минуте исследова-

ния. Таким образом, у больных 1-й группы наблюдалось увеличение латентного периода холекинетического рефлекса, увеличение начального и конечного объема ЖП, снижение коэффициента сокращения ЖП, что свидетельствовало о дилатации и снижении сократительной функции ЖП.

Показатели выраженности МС, а именно, индекс Кетле и соотношение ОТ/ОБ был увеличен у больных 1-й группы.

Амплитуда суточных колебаний уровня глюкозы в крови у больных 1-й группы достоверно превышала контрольные значения и показатели во 2-й группе обследованных. Наличие ХрХ у больных СД 2 типа вызывали перепады уровня гликемии в течение суток, что свидетельствовало о неудовлетворительном состоянии углеводного контроля (табл. 2).

Таблица 2

## Показатели углеводного и липидного обменов у больных 1-й и 2-й групп (M±m)

Показатель	Контрольная группа, n=20	1-я группа, n=35	2-я группа, n=32
КГН (ммоль/л)	3,85±0,18	9,76±0,13 <sup>к)</sup>	4,41±0,20
СПГ (ммоль/л)	4,79±0,24	13,62±0,45 <sup>к)</sup>	5,12±0,8
СКГ (ммоль/л)	1,46±0,32	3,85±0,27 <sup>к)</sup>	1,10±0,3
Hb A <sub>1c</sub> (%)	4,72±0,04	10,98±0,27 <sup>к)</sup>	4,86±0,1
ТГ (ммоль/л)	1,22±0,15	2,35±0,19 <sup>к)</sup>	1,28±0,11
ХС (ммоль/л)	5,19±0,34	6,81±0,22 <sup>к)</sup>	5,24±0,23
ХС ЛПВП (ммоль/л)	1,35±0,08	0,88±0,06 <sup>к)</sup>	1,23±0,09
ХС ЛПНП (ммоль/л)	3,30±0,27	4,56±0,21 <sup>к)</sup>	3,5±0,31
ХС ЛПОНП (ммоль/л)	0,51±0,08	0,73±0,12 <sup>к)</sup>	0,65±0,03

<sup>к)</sup> - достоверно при сравнении одинаковых показателей у больных с контролем (p<0,05);

<sup>д)</sup> - достоверно при сравнении одинаковых показателей между 1-й и 2-й группами (p<0,05).

Аналогичной была динамика показателя долгосрочной компенсации углеводного баланса: уровень HbA<sub>1c</sub> достоверно превышал контрольные значения у пациентов 1-й группы. Субкомпенсация углеводного баланса – типичная особенность метаболизма у больных ХрХ при СД 2 типа.

Нарушения углеводного баланса у больных 1-й группы находилось в прямой корреляции с нарушениями липидного спектра [7].

Уровень ТГ был достоверно выше у пациентов 1-й группы по сравнению с контролем и 2-й группой, что может быть одним из факторов риска формирования желчных камней. Содержание ХС также было повышенным у пациентов 1-й группы по сравнению с контролем и 2-й группой, что может

Виявлена корреляция между СКГ и ХС ЛПНП ( $\tau=0,42$ ;  $P<0,05$ ) и СКГ и ТГ ( $\tau=0,37$ ;  $P<0,05$ ) у пациентов 1-й группы. Увеличение амплитуды суточных колебаний глюкозы, отсутствие стабильного гликемического контроля является одной из причин нарушения липидного обмена у пациентов 1-й группы.

Таким образом, у больных ХрХ при СД 2 типа была обнаружена гипердислипидемия.

расцениваться как возможный дополнительный фактор развития литогенеза.

Концентрация в сыворотке крови фракции ХС ЛПВП была ниже контрольных значений у больных 1-й группы. Поскольку белки липид-транспортной системы одинаковые как для сыворотки крови, так и для желчи, низкий уровень ХС ЛПВП сыворотки крови может опосредовано свидетельствовать о дефиците аналогичных липид-транспортных белков в желчи, что снижает способность липидных факторов желчи к растворению в водной среде.

У пациентов 1-й группы содержание ХС ЛПНП и ХС ЛПОНП было достоверно выше контрольных показателей и больных 2-й группы.

Наличие СД ухудшало метаболические показатели у больных ХрХ, что является дополнительным усугубляющим фактором.

Феномен метаболической дезадаптации у больных СД служил причиной прогрессирования ХрХ. Наличие ХрХ, как хронического воспалительного процесса, в свою очередь отрицательно влияло на состояние углеводного баланса у больных СД: замкнутый круг или феномен взаимного отягощения. Иссле-

дование углеводно-липидного баланса у больных ХрХ при СД является обязательным и может использоваться в качестве биохимических маркеров в диагностике и мониторинге сопутствующих поражений гепатобилиарной системы у данного контингента больных.

У больных 1-ой группы улучшение происходило на 8 день лечения, исчезновение большинства субъективных и объективных патологических симптомов — на 14 день лечения. У отдельных пациентов сохранились патологические синдромы: астенический — у 13 пациентов (37,14%), нейро-вегетативный — у 7 (20%) абдоминально-болевой синдром у 3 (8,57%), диспепсический — у 2 (5,7%). У больных 2-ой группы улучшение общего состояния происходило на 5 день лечения. Полностью исчезли признаки абдоминально-болевого, правостороннего реактивного, диспепсического синдромов. У 2 пациентов (5,7%) оставались признаки нейровегетативного и астенического синдромов.

Положительные изменения в липидтранспортной системе под влиянием симвастатина, возможно, обусловлены увеличением количества ЛПНП-рецепторов, что сопровождается уменьшением в кровотоке количества частиц ЛПНП, их метаболических предшественников ЛПОНП и, соответственно, уровня ХС и ТГ [12]. По-видимому, этот же механизм ответственен за повышенное выделение из кровотока АпоВ и АпоЕ-содержащих ЛП — атерогенных ремнантов ХМ и ЛПОНП [13]. Способность симвастатина уменьшать выраженность (постпрондиальной липопротеидемии) ППЛ, вероятно, опосредуется снижением синтеза ХС в гепатоцитах, уменьшением образования ЛПОНП и их секреции в кровь, что способствует снижению уровня ТГ. В то же время, гиперреактивность рецепторов для ЛПНП может ускорять катаболизм ТГ.

У всех больных применение симвастатина в качестве основного и единственного гиполипидемического средства не вызывало никаких побочных явлений. Во 2-й группе, где не было значимых изменений со стороны липидного спектра сыворотки крови была обнаружена полная нормализация всех исследуемых показателей.

## ВЫВОДЫ

1. У больных ХрХ при СД 2 типа по сравнению с больными ХрХ наблюдаются признаки дислипидемии, а именно: гиперхолестеринемия, гипертриглицеридемия, повышение показателей ХС ЛПНП, ХС ЛПОНП и снижение показателей ХС ЛПВП.

Терапия симвастатином у больных 1-й группы привела к статистически достоверному снижению уровней ХС: ( $6,81 \pm 0,22$ ) и ( $4,62 \pm 0,16$ ) ммоль/л до и после лечения соответственно ( $p < 0,05$ ); ТГ с ( $2,35 \pm 0,19$ ) до ( $1,65 \pm 0,12$ ) ммоль/л, ( $p < 0,05$ ); ХС ЛПНП с ( $4,56 \pm 0,21$ ) до ( $2,70 \pm 0,35$ ) ммоль/л, ( $p < 0,05$ ); ХС ЛПОНП с ( $0,73 \pm 0,12$ ) до ( $0,65 \pm 0,03$ ) ммоль/л ( $p < 0,05$ ); достоверному повышению ХС ЛПВП с ( $0,88 \pm 0,06$ ) до ( $1,31 \pm 0,06$ ) ммоль/л, ( $p < 0,05$ ).

Статины в сравнении с гиполипидемическими препаратами других групп позволяют наиболее результативно снижать уровень ХС ЛПНП. Доказательства положительного влияния гиполипидемической терапии статинами на прогноз больных СД 2 типа впервые были получены в исследованиях Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S), Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Trial и Long-term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study [28-30].

Достижение целевого уровня ХС ЛПНП рассматривают как первый эффект гиполипидемической терапии и рекомендованный оптимальный уровень этого показателя для больных СД составляет  $< 2,6$  ммоль/л [11]. Подавление синтеза ингибиторами ГМГ-КоА — редуктазы способствуют снижению количества внутриклеточного ХС [6]. Это приводит к повышению количества и активности клеточных рецепторов к ЛПНП и соответственно к снижению уровней ХС ЛПНП за счет увеличения их клиренса из плазмы [10]. Кроме того, статины снижают содержание ХС ЛПНП за счет подавления синтеза ХС ЛПОНП в печени [9].

Вторичный эффект гиполипидемической терапии состоит в достижении оптимальной концентрации в плазме ТГ (менее 1,7 ммоль/л) и ХС ЛПВП (выше 1,15 ммоль/л) [11]. Результаты исследования доказывают положительное влияние симвастатина на стабилизацию липидного обмена у больных ХрХ при СД 2 типа. Лечение должно проводиться длительно — не менее 2-х месяцев подряд, с обязательным 3-х месячным исследованием развернутого спектра липидов сыворотки крови.

2. Терапия больных ХрХ при СД 2 типа симвастатином в дозе 20 мг в сутки приводит к нормализации показателей липидного спектра сыворотки крови и может использоваться в качестве профилактики МС и комплексном лечении данной категории больных.

Перспективним в корекції дисліпидемії вважається вивчення нових лікарських засобів, тривала стабілізація нормальних рівнів ліпідів при мінімальних побічних ефектах. По результатах багачисленних клінічних керіводств, рекомендується послідовні кроки ліпомодифікуючої терапії: скринінг пацієн-

тов, виявлення факторів ризику, визначення тактики фармакологічної модифікації факторів ризику для досягнення цільових рівнів ліпидемії, оцінка ефективності вжитих заходів, при необхідності – корекція фармакотерапії і наступний моніторинг.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Alberti K.G, Burrin J.M. Research metodologes in measuring blood glucose and in defining diabetes // In.: Mogensen C.E., Stande E.A. Research metodologes in human diabetes. Part 2. Walter de Gruyter. - 2006. - P.9-26.
2. Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Кремінська. // Тер. архив. - 2000. - № 10. - С.5-10.
3. Eder I., Miquel J., Junst D. // Free rad.Biol.Med. - 2001. - P. 743-749.
4. Ефимов А.С., Соколова Л.К. // Фармацевтичний журнал. - 2000. - № 3. - С. 48-53.
5. Knobler H., Schottner A., Zhornicki T. // Quart. J. Med. - 2005. - № 2. - P. 73-79.
6. Lawrence J., Campbelle G., Barington H. // Ann. Clin. Biochem. J. - 2004. - № 3. - P. 387-392.
7. Sasazuki S., Koho S., Todoroki I. // J. Epidemiol. - 1999. - № 3. - P. 245-251.
8. Ramrath S., Tritschler HJ, Eckel J. // Horm. Metab. Res. - 2004. - Dec. - Vol. 31(12). - P.632-5.
9. Sniderman A.D., Scantlerbury T. //Ann. Internal. Med. - 2005. - Vol. 135. - № 6. - P. 447- 459.
10. Third report of the National Cholesterol Educational Program (NCEP) expert panel on detection, and treatment of high blood cholesterol in adults. (Adult Treatment Panel III) final report // Circulation. - 2002. - Vol. 106. - P. 3143-3421.
11. Van Gaal L. // Glucoscope. - 2006. - № 1. - P. 1-3.
12. Ose L., Scott R. // Clin. Drug. Invest. - 2001. - Vol. 10. - № 3. - P. 127-138.
13. Перова Н.В., Бубнова М.Г., Аронов Д.М. и др. // Кардиология. - 2002. - № 4. - С. 8-10.

## ДОСВІД ВЖИВАННЯ СИМВАСТАТИНУ ПРИ МЕТАБОЛІЧНОМУ СИНДРОМІ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ХОЛЕЦИСТИТ І ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ

**К.В. Вовк**

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

#### РЕЗЮМЕ

У даний час поєднана патологія внутрішніх органів – актуальна проблема терапії.

Мета роботи – визначення впливу симвастатину на показники ліпідного спектру сироватки крові у хворих на хронічний холецистит (ХрХ) при СД 2 типу.

У хворих ХрХ при СД 2 типу в порівнянні з хворими ХрХ спостерігаються ознаки діліпідемії, а саме: гіперхолестерінемія, гіпертригліцеридемія, підвищення показників ХС ЛПНЦ, ХС ЛПДНЦ і зниження показників ХС ЛПВЦ.

Терапія хворих ХрХ при СД 2 типу симвастатином в дозі 20 мг на добу призводить до нормалізації показників ліпідного спектру сироватки крові і може використовуватися як профілактика МС та комплексному лікуванні даної категорії хворих.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** симвастатин, метаболічний синдром, хронічний холецистит, цукровий діабет

## AN EXPERIENCE OF USING SIMVASTATINUM IN THE METABOLIC SYNDROME OF PATIENTS WITH CHRONIC CHOLECYSTITIS AND DIABETES MELLITUS TYPE II

**K.V. Vovk**

V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

#### SUMMARY

The combined pathology of the internal organs at present time is the issue of the day in therapy.

The aim of the work: to define the influence of simvastatinum on the index of the lipid spectrum of the blood serum of patients with chronic cholecystitis (CC) and diabetes mellitus (DM) type II. The patients with CC and DM type II, in comparison with patients only with CC, have dislipidemia, which is characterized by:

hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, increase of the low density and very low density lipoprotein cholesterol index, and the reduction of the high density lipoprotein cholesterol index.

The treatment of patients with both, CC and DM type II, using simvastatinum in doses of 20 mg/day result the normalization of the lipid spectrum of blood serum indexes, and may be used both as prophylaxis of the metabolic syndrome, and as treatment of patients of this category.

**KEY WORDS:** simvastatinum, metabolic syndrome, chronic cholecystitis, diabetes mellitus

УДК: 616.12-008.331.1:616.12-07

## ТИПЫ ОРТОСТАТИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ СИСТОЛИЧЕСКОГО АРТЕРИАЛЬНОГО ДАВЛЕНИЯ У ПАЦИЕНТОВ С АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ

*П.А. Гарькавий, А.Ю. Егорова, Н.И. Яблунчанский*

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

### РЕЗЮМЕ

Изучена зависимость изменения систолического артериального давления (САД) во время перехода из клиностаза в ортостаз у пациентов с эссенциальной артериальной гипертензией (АГ). Обследовано 154 пациента с АГ (58 мужчин и 96 женщин) в возрасте  $63 \pm 7$  лет. Средняя продолжительность заболевания составила  $10,4 \pm 7,8$  лет. У 48 пациентов диагностирована мягкая АГ, у 55 – умеренная, у 51 – тяжелая.

По изменениям САД в ортостатической пробе пациенты были разделены на 3 группы: повышение САД – группа 1 (гипертонический тип), отсутствие изменений САД – группа 2 (изотонический тип), снижение САД – группа 3 (гипотонический тип). Критериями повышения и понижения САД были его соответствующие изменения в объеме не менее 5 мм.рт.ст.

При переходе из клиностаза в ортостаз у 67,5% пациентов отмечалось повышение САД, у 11,7% САД не изменялось и у 20,8% САД снижалось.

Гипертонический тип реакции САД у мужчин (81%) встречается чаще, чем у женщин (59,4%). Гипотонический и изотонический типы у мужчин отмечаются реже (у 12,1% и у 6,9% соответственно), чем у женщин (у 26% и у 14,6% соответственно).

Различия в реакциях показателей диастолического артериального давления (ДАД) и САД обнаруженные во время проведения ортостатических проб указывают на важность проведения отдельного сравнительного и описательного исследования с использованием контрольной группы.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** систолическое артериальное давление, артериальная гипертензия, ортостатические реакции

Существует три основных типа реакций артериального давления (АД) в ортостатических пробах: повышение АД, отсутствие изменений АД и снижение АД. Каждый практикующий врач сталкивается с ними в своей повседневной практике. Особым типом, имеющим важное клиническое значение, считается ортостатическая гипотензия (ОГ). По данным мировой литературы ОГ наблюдается у 15-35% пациентов пожилого возраста [5, 6]. Клиническими исследованиями доказано что ОГ – независимый предиктор сосудистой смертности [7], а также фактор риска развития инсульта [8], коронарного синдрома [9], и обладает выраженным отрицательным прогностическим значением. Известно, что с возрастом распространенность ОГ увеличивается [6]. Доказана прямая взаимосвязь между степенью тяжести артериальной гипертензии, частотой ОГ, и показателями сердечно-сосудистой смертности [6].

Как показали Timothy C. Hain et al. в своей работе «Orthostatic hypotension. Proceedings of National Institute of Health» показатели систолического артериального давления

(САД) являются точными, информативными и достоверными диагностическими и прогностическими критериями у пациентов с ОГ. Традиционно показатели САД тщательно оценивают у пациентов с АГ и практически полностью игнорируют при ОГ. Современная классификация АГ равноценно базируется на показателях как ДАД так и САД, как на взаимодополняющих критериях. Диагностическим критерием ОГ практически всегда является уменьшение ДАД в ортостатической пробе на 10 мм.рт.ст. и более, при этом показатель САД может вообще не учитываться [6]. Существование отдельной систолической формы АГ свидетельствует о самостоятельной диагностической ценности показателя САД как при АГ так, возможно, и при ОГ.

Диагноз ОГ это по-прежнему исключение целого ряда заболеваний центральной и периферической нервных [1,3], сердечно-сосудистой [4], вегетативной, эндокринной и прочих систем. Также исключения требуют онкологическая и психическая патологии [2].

Механизмы поддержания и регуляции

САД и ДАД имеют ряд отличий, а значит, причины и следствия нарушения могут значительно варьировать.

Данные о диагностическом значении САД у пациентов с ОГ в мировой литературе есть в относительно небольшом объеме. В отечественной литературе подобной информации не обнаружено.

Работа выполнена в рамках НИР «Исследования нелинейных динамических эффектов в автономной регуляции сердечной биомеханики» № госрегистрации 0103U004222 МОН Украины.

В отличие от зарубежных источников, отечественных публикаций, посвященных оценке нарушений автономной регуляции у пациентов с артериальной гипертензией и особенностям ортостатических реакций САД не обнаружено.

Мы не обнаружили данных об исследовании пациентов с АГ в ортостатических пробах с выделением нескольких типов реакций на основании показателей САД.

Цель настоящей работы – установить частотное распределение типов ортостатических реакций на основании показателей САД для последующего детального изучения их роли в течении и исходах АГ и разработки адекватных схем терапии.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В амбулаторных условиях обследовано 154 пациента с АГ (58 мужчин и 96 женщин) в возрасте  $63 \pm 7$  лет. Средняя продолжительность заболевания составила  $10,4 \pm 7,8$  лет. У 83 пациентов диагностирована мягкая АГ, у 36 – умеренная, у 35 – тяжелая. В исследование не включались лица, перенесшие инфаркт миокарда, острое нарушение мозгового кровообращения, страдающие ХСН IV функционального класса (ФК), ожирением III-IV степени, пациенты с вторичной АГ [9].

Исследование проводилось в утреннее время, за 24 часа до исследования пациенты не принимали кофе, алкоголя и лекарственных препаратов, за 30 минут – ограничивалась физическая нагрузка.

АД измеряли по методу Короткова. Измерение осуществлялось в условиях клиностаза после 5 минутного отдыха и спустя 3 минуты после перехода в ортостаз. По изменениям САД в ортостатической пробе пациенты были разделены на 3 группы: повышение САД – группа 1 (гипертонический тип), от-

сутствие изменений САД – группа 2 (изотонический тип), снижение САД – группа 3 (гипотонический тип). Критериями повышения и понижения САД были его соответствующие изменения в объеме не менее 5 мм рт. ст.

В зависимости от пола пациенты были разделены на две группы.

Для статистической оценки результатов использовались параметрические критерии (среднее значение – М и стандартное отклонение –sd).

Данные заносились в базу Microsoft Excel, достоверность различий между группами пациентов определяли с помощью критерия Пирсона, расчет показателей производился с помощью SPSS 10.0 для Windows.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 представлены результаты изучения распределения пациентов на группы ортостатических реакций с учетом факторов возраста, пола, давности заболевания и степени АГ.

При переходе из клиностаза в ортостаз у 67,5% пациентов отмечалось повышение САД, у 11,7% пациентов САД не изменялось и у 20,8% пациентов отмечалось снижение САД. Значимых различий по продолжительности АГ в данных трех группах не обнаружено.

Гипертонический тип реакции САД у мужчин (81%) встречается чаще, чем у женщин (59,4%). Гипотонический тип менее распространен, и у мужчин (12,1%) отмечается реже, чем у женщин (26%). Изотонический тип наименее распространен и у мужчин (6,9%) отмечается реже, чем у женщин (14,6%). В целом, обнаруженное распределение частот соответствует данным мировой литературы [6, 7, 8].

При гипертоническом типе частота сердечных сокращений (ЧСС) незначительно возрастает ( $5,6 \pm 0,5$  уд/мин или на 7,79%), при изотоническом типе отмечается более выраженное увеличение ЧСС ( $6,0 \pm 1,9$  уд/мин или на 8,57%) и при гипотоническом типе отмечается наиболее значительное увеличение ЧСС ( $9,1 \pm 0,9$  уд/мин или на 12,62%).

На рис. 1 представлены частоты распределения пациентов в зависимости от реакции САД при проведении ортостатической пробы.

Таблица 1

Распределение пациентов с АГ на группы ортостатических реакций САД с учетом факторов возраста, пола, давности заболевания и степени АГ (n, %, M±sd)

Показатели	Группы пациентов		
	1	2	3
Общее количество пациентов	104 (67,5%)	18 (11,7%)	32 (20,8%)
Возраст, годы (M, sd)	$62,9 \pm 7,0$	$62,9 \pm 6,9$	$62,8 \pm 7,1$

Мужчины	47 (81,0%)	4 (6,9%)	7 (12,1%)
Женщины	57 (59,4%)	14 (14,6%)	25 (26,0%)
Давность АГ, годы (M, sd)	9,9±6,2	10,2±6,1	11,6±7,3
ЧСС лежа/стоя, (M, sd)	71,9±12,9/ 77,5±13,4	70,0±15,1/ 76,0±17,0	72,1±8,6/81,2±9,5
ЧСС стоя – ЧСС лежа (M, sd)	5,6±0,5	6,0±1,9	9,1±0,9

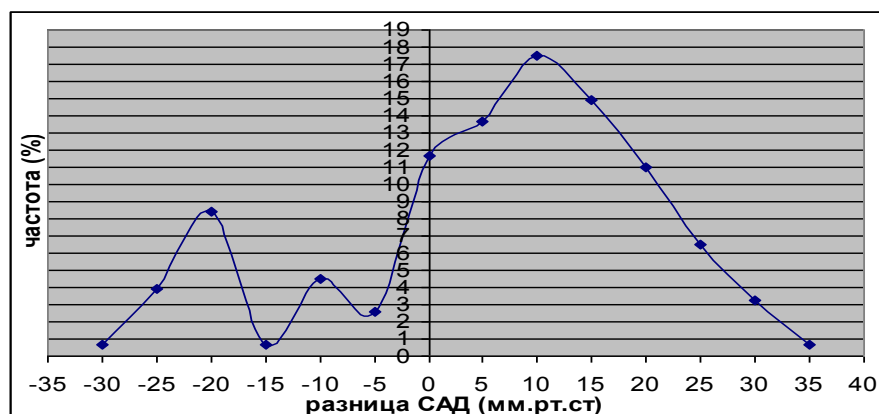


Рис. 1. Распределение пациентов в зависимости от реакции САД при проведении ортостатической пробы

В данной группе пациентов наиболее часто встречающиеся реакции САД в ортостатических пробах являются повышение САД на 10 мм.рт.ст. (17,54%), отсутствие изменений САД (11,69%), и снижение САД на 20 мм.рт.ст. (8,44%), что является диагностическим критерием для постановки диагноза ОГ.

Процентное распределение частот реакций САД приведено в табл. 2.

Таблица 2  
Распределение частот реакций САД при проведении ортостатической пробы

Реакция САД, мм рт.ст	Пациенты, %
-30	0,65
-25	3,90
-20	8,44
-15	0,65
-10	4,54
-5	2,60
0	11,69
5	13,63
10	17,54
15	14,94
20	11,03
25	6,50
30	3,24
35	0,65

У относительно небольшого количества пациентов у 0,65% отмечено снижение САД на 30 мм.рт.ст и на 15 мм.рт.ст, у 3,90% на 25 мм.рт.ст. Снижение САД на 20 мм.рт.ст отмечалось у 8,44%, то есть являлось наиболее распространенной степенью снижения САД. У 4,54% пациентов САД снижалось на 10 мм.рт.ст., у 2,60% САД снижался на 5 мм.рт.ст. У 11,69% САД не изменялся. В группе с повышением САД отмечалось следующее распределение: у 13,63% пациентов отмечено повышение САД на 5 мм.рт.ст.; повышение САД на 10 мм.рт.ст. отмечалось

у 17,54% пациентов, то есть являлось наиболее распространенным вариантом повышения САД. Повышение САД на 15 мм.рт.ст. отмечалось у 14,94%, на 20 мм.рт.ст. у 11,03%, на 25 мм.рт.ст. у 6,50%, на 30 мм.рт.ст. у 3,24% и повышение САД на 35 мм.рт.ст. всего у 0,65%.

Таким образом, наиболее распространенными типами реакций САД в ортостатических пробах являются: увеличение САД на 5-10-15 мм.рт.ст. у 13,63%, 17,54% и 14,94% пациентов соответственно; отсутствие изменений САД у 11,69%; а также снижение САД на 20 мм.рт.ст. у 8,44% пациентов.

## ВЫВОДЫ

1. Можно выделить три основных типа ортостатической реакции САД у пациентов с АГ: гипертонический, изотонический и гипотонический тип.
2. В исследованной группе пациентов чаще встречался гипертонический (67,5%) и реже гипотонический (20,8%) и изотонический (11,7%) типы ортостатической реакции САД.
3. У мужчин преобладает гипертонический (у 81% мужчин и у 59,4% женщин) и у женщин - изотонический (у 12,1% мужчин и у 26% женщин) типы реакций САД в ортостатических пробах.
4. При гипертоническом типе ортостатической реакции САД ЧСС возрастала на  $5,6 \pm 0,5$  уд/мин, изотоническом – на  $6,0 \pm 1,9$  уд/мин и гипотоническом – на  $9,1 \pm 0,9$ .
5. Можно выделить наиболее часто встречающиеся изменения показателей САД в ортостатической пробе – повышение САД на 10 мм.рт.ст., отсутствие измене-

- ний САД, и снижение САД на 20 мм.рт.ст.
6. Максимальное увеличение ЧСС в ортостатических пробах в гипотонической группе пациентов, вероятно, является компенсаторным механизмом, направленным на поддержание физиологически необходимого систолического объема крови.
- Является целесообразным исследование

фармакодинамики лекарственных препаратов различных групп и изменений показателей АД при переходных процессах у пациентов с АГ, в том числе при проведении медикаментозного и иного лечения.

Обнаруженные различия в реакциях показателей ДАД [10] и САД в ортостатических пробах, вероятно, требуют отдельного сравнительного и описательного исследования.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Goldstein D.S. and others. // Neurology. - 2003. - № 60. - P.1327-1332
2. Radke A., et. al. // The Lancet. - 2000. - № 356. - P. 736-7
3. Wright R.A. and others. // Neurology. - 1998. - № 51. - P. 120-124
4. LaMaca et al. // Clin Physiol. - 1999. - № 19. - P. 111-120
5. Timothy C. Hain, et al. Orthostatic hypotension. Proceedings of National Institute of Health. - 2003. - Vol..5
6. M. Sahni, D.T. Lowenthal, J.Meuleman. // International Urology and Nephrology. - 2005. - № 37. - P. 669-674
7. Rose K.M., Eigenbrodt M.L., Biga R.L. et al. // Circulation. - 2006. Aug 15; - № 114(7). - P. 630-636. - Epub 2006 Aug 7
8. Eigenbrodt M.L., Rose K.M., Couper D.J. // Stroke. - 2000. Oct. - № 31(10). - P. 2307-2313.
9. Rose K.M., Tyroler H.A, Nardo C.J. // Am J Hypertens. - 2000. Jun. - № 13(6 Pt 1). - P. 571-578.
10. П.О. Гарькавий, А.Ю. Сарасева, М.І. Яблчанський. // Вісник Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна. - 2006. - № 736. - вип.. 13. - С. 75-79.

## ТИПИ ОРТОСТАТИЧНИХ РЕАКЦІЙ СИСТОЛІЧНОГО АРТЕРІАЛЬНОГО ТИСКУ У ПАЦІЄНТІВ З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

*П.О. Гарькавий, А.Ю. Єгорова, М.І. Яблчанський*

*Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна*

### РЕЗЮМЕ

Вивчена залежність зміни систолічного артеріального тиску (САТ) під час переходу із кліностазу в ортостаз у пацієнтів з есенціальною артеріальною гіпертензією (АГ). Досліджено 154 пацієнта з АГ (58 чоловіків та 96 жінок) віком  $63 \pm 7$  років. Середня тривалість захворювання складала  $10,4 \pm 7,8$  років. У 48 пацієнтів діагностована м'яка АГ, у 55 – помірна, у 51 – важка.

Згідно змін САТ в ортостатичній пробі пацієнти були розділені на 3 групи: підвищення САТ - група 1 (гіпертонічний тип), незмінний САТ – група 2 (ізотонічний тип), зниження САТ – група 3 (гіпотонічний тип). Критеріями підвищення та зниження САТ були його відповідні зміни в об'ємі не менше 5 мм.рт.ст.

При переході з кліностазу в ортостаз у 67,5% пацієнтів відмічалось підвищення САТ, у 11,7% САТ не змінювалось, та у 20,8% САТ знижувалось. Гіпертонічний тип реакції САТ у чоловіків (81%) зустрічався частіше, ніж у жінок (59,4%). Гіпотонічний та ізотонічний типи у чоловіків зустрічалися рідше (у 12,1% та у 6,9% відповідно), ніж у жінок (у 26% та у 14,6% відповідно).

Різниця в реакціях показників ДАТ та САТ знайдена під час проведення ортостатичних проб вказує на важливість проведення окремого порівняльного та описового дослідження з використанням контрольної групи.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** систолічний артеріальний тиск, артеріальна гіпертензія, ортостатичні реакції

## TYPES OF SYSTOLIC ARTERIAL BLOOD PRESSURE ORTHOSTATIC REACTIONS IN PATIENTS WITH ARTERIAL HYPERTENSION

*P.A. Garkaviy, A.Yu. Yegorova, N.I. Yabluchanskiy*

*V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine*

### SUMMARY

Peculiarities of systolic arterial blood pressure (SABP) changes during the clino/orthotatic test in patients with primary arterial hypertension (AH). 154 patients were investigated, (58 males and 94 females), median age  $63 \pm 7$  years. Average duration of AH was  $10,4 \pm 7,8$  years. 48 patients had mild AH, 55 had moderate AH, 51 had severe AH.

According to the changes of SABP during the orthostatic test patients were divided into 3 groups: increase of SABP – group 1 (hypertonic type), no changes of SABP – group 2 (isotonic type), decrease of SABP – group 3 (hypotonic type). Minimal change on 5 mm was a criteria of SABP increase or decrease.

During the transition from clinostasis to orthostasis 67,5% of patients had SABP increase, 11,7% of patients had no changes of SABP and in 20,8% of patients SABP decreased.

Hypertonic type of reaction was more frequent in males (81%), than in females (59,4%). Hypotonic and isotonic types were seen less frequent in males (in 12,1% and in 6,9% of patients respectively), than in females (in 26% and in 14,6% of patients respectively).

Variations in diastolic and systolic blood pressure parameters that were found during orthostatic tests indicate on the importance of conducting a separate comparative and descriptive investigation with using control group.

**KEY WORDS:** systolic arterial blood pressure, arterial hypertension, orthostatic reactions

УДК: 116.12.-008.33.1(616.16:611.018)

## **МОРФОМЕТРИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ТОЛЩИНЫ ИНТИМЫ-МЕДИИ И ДИАМЕТРА СОННЫХ И БЕДРЕННЫХ АРТЕРИЙ У УМЕРШИХ, СТРАДАВШИХ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ**

*Е.В. Дановская, Н.И. Яблчанский, Н.А. Ремнева*

*Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина*

### **РЕЗЮМЕ**

Представлены результаты морфометрических показателей интимы, меди и диаметров сонных и бедренных артерий по материалам биопсии от пациентов, страдавших артериальной гипертензией (АГ). Сделан вывод, что при АГ структурные изменения сосудистой стенки в сонных артериях происходят больше за счет утолщения интимы, а в бедренных – за счет меди, при этом размеры их практически не отличались.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** артериальная гипертензия, сонные артерии, бедренные артерии, гистология, морфометрия

Артериальная гипертензия (АГ) является ведущей проблемой. АГ имеет особое влияние на структурно-геометрическую перестройку сосудов. Увеличение толщины интимы-меди (ТИМ) ассоциирована с увеличением риска сердечно-сосудистых осложнений [1, 2, 3], а увеличение диаметра свидетельствует о ремоделировании сосуда [4].

В клинической практике оценить ТИМ и определить диаметр сосуда при различных состояниях позволяют неинвазивные ультразвуковые методы, высокого разрешения. Но УЗИ позволяет лишь оценить ТИМ, без разграничения интимы от меди.

Хотя в основе увеличения интимы-меди могут лежать как утолщение слоя интимы, за счет атеросклеротических изменений (обычно проводилась оценка геометрических параметров сонных и бедренных артерий у пациентов с АГ, при том, что имеются данные, в соответствии с которыми сонные артерии построены по эластическому, а бедренные – по мышечному типу [10].

Цель работы – установление морфометрических показателей интимы, меди и диаметров сонных и бедренных артерий.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

динтимального пространства) так и слоя меди, за счет мышечной гипертрофии [5].

В литературе поражению органов-мишеней при АГ уделяется особое внимание. В последнее время объектом исследования оказалась ТИМ сонных артерий как фактор риска сердечно-сосудистых осложнений [5].

Полученные при ультразвуковом исследовании данные ТИМ значительно не отличаются от данных полученных при патологическом исследовании [6], с тем замечанием, что в сравнении с гистологическими измерениями *in vivo* ультразвуковые результаты ТИМ систематически больше [7, 8, 9].

Нами не найдено публикаций, в которых

Материалом исследования служили биоптаты общих сонных (21 случай) и бедренных (20 случаев) артерий, полученных от 20 умерших женщин и мужчин, средний возраст в среднем (65,42±15,16) лет, с клинически подтвержденной артериальной гипертензией I-II (с систолическим АД 140-220 мм.рт.ст. и/или диастолическим АД 90-120 мм.рт.ст.) в соответствии с классификацией в зависимости от поражения отдельных органов (Украинская ассоциация кардиологов,



2004) [11], предоставленные Харьковским НИИ общей и неотложной хирургии АМН Украины.

Для морфологического исследования вырезанные фрагменты сонных и бедренных артерий фиксировались в 10% растворе нейтрального формалина. Материал подвергался стандартной проводке через спирты увеличивающейся концентрации, жидкость Никифорова (96% спирт и диэтиловый эфир в соотношении 1:1, хлороформ, после чего заливался парафином).

Из приготовленных блоков делались серийные срезы толщиной 4-5 мкм. Морфологически сонные и бедренные артерии изучались с использованием гистологических окрасок по методу ван Гизона, Вейгерта и гематоксилином и эозином.

Каждый исследуемый случай подвергался обзорной микроскопии, при которой оценивались общий характер строения стенки артерий, объемные взаимоотношение интимы и меди, наличие патологических изменений в сосудах.

Комплекс гистологических и морфометрических исследований проводился на мик-

роскопе Olympus DR-Soft (Version 3:1). Морфометрическое исследование включало определение величины максимального и минимального диаметров просвета сосудов (между противоположными внутренними поверхностями интимы), толщины интимы, меди, а также суммарно интимы и меди. Также вычислялся средний геометрический диаметр просвета артерий как корень из суммы минимального и максимального диаметров. Относительный объем интимы (%) в комплексе интимы-меди вычисляли, используя пропорцию, где интима-медиа составляет 100%, а интима – X%.

Статистический анализ производился при помощи программных пакетов Excel 2002, Microsoft Excel, Statistica 6 с вычислением среднего арифметического (M) и его стандартного отклонения (SD).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные результаты при исследовании общей сонной артерии (ОСА) отдельно по каждому случаю в отдельности представлены в таблице 1.

Таблица 1

Диаметр и толщина интимы-меди сонных артерий по данным гистологического исследования

№ препарата	Диаметр артерии, мм			Толщина, мм			Относительный объем интимы, %
	Максимальный	Минимальный	Средний геометрический	Интимы	Медии	Интима + Медиа	
1	4,2	2,1	2,5	0,2	0,6	0,8	25,0
2	4,5	2,5	2,6	0,1	0,5	0,6	17,0
3	3,5	2,0	2,3	0,2	0,8	1,0	20,0
4	3,6	2,2	2,4	0,1	0,6	0,7	14,0
5	4,9	2,1	2,6	0,2	1,0	1,2	17,0
6	4,9	2,2	2,6	0,2	0,9	1,1	19,0
7	5,0	2,0	2,6	0,1	0,7	0,8	13,0
8	4,9	2,4	2,7	0,1	0,7	0,8	13,0
9	4,8	2,0	2,6	0,1	0,7	0,8	13,0
10	5,3	3,0	2,8	0,2	1,3	1,5	14,0
11	5,2	2,9	2,8	0,2	0,9	1,1	18,0
12	7,1	4,9	3,4	0,2	0,9	1,1	18,0
13	7,2	4,3	3,3	0,3	0,6	0,9	33,3
14	5,0	4,1	3,0	0,1	1,0	1,1	10,0
15	5,2	4,0	3,0	0,1	1,0	1,1	10,0
16	4,9	4,1	3,0	0,2	0,6	0,8	25,0
17	2,3	2,1	2,0	0,1	0,4	0,5	16,0
18	5,3	2,2	2,7	0,2	0,9	1,1	18,0
19	5,4	2,3	2,7	0,1	0,8	0,9	11,0
20	4,9	3,0	2,8	0,1	0,8	0,9	11,0
21	4,9	2,9	2,7	0,1	0,5	0,6	16,0

Максимальный диаметр ОСА колебался в пределах от 2,3 до 7,2 мм. Минимальный диаметр ОСА находился в пределах от 2,0 до 4,9 мм. Средний геометрический диаметр от 2,0 до 3,4 мм.

Толщина слоя интимы по каждому случаю в отдельности находилась в пределах от 0,1 до 0,3 мм, а меди – от 0,4 до 1,3 мм.

Толщина интимы-меди находилась в пределах 0,5 до 1,5 мм.

Относительный объем интимы в комплексе интимы-меди находился в пределах от 10 до 33,3%.

Таблица 2 демонстрирует показатели измерений бедренных артерий по каждому случаю в отдельности.

Таблица 2

Диаметр и толщина интимы-меди бедренных артерий по данным гистологического исследования

№	Диаметр артерии, мм	Толщина, мм	Относи-
---	---------------------	-------------	---------

препарата	Максимальный	Минимальный	Средний геометрический	Интимы	Медии	Интима + Медиа	Тельный объем интимы, %
1	7,0	1,0	2,8	0,1	1,3	1,4	7,0
2	6,5	4,2	3,2	0,1	0,9	1,0	10
3	6,1	4,7	3,2	0,1	1,1	1,2	8
4	7,6	0,8	2,8	0,1	0,9	1,0	10,0
5	7,3	1,1	2,8	0,1	0,9	1,0	10,0
6	6,9	0,5	2,7	0,1	1,0	1,1	10
7	6,2	2,3	2,9	0,1	0,5	0,6	17,0
8	6,3	2,3	2,9	0,1	0,6	0,7	14,0
9	5,3	3,3	2,9	0,1	1,1	1,2	8,0
10	4,6	3,6	2,8	0,1	0,9	1,0	10,0
11	7,9	2,5	3,2	0,2	1,0	1,2	17,0
12	8,0	3,0	3,3	0,2	1,3	1,5	13
13	6,5	2,5	3,0	0,1	0,7	0,8	13,0
14	6,0	3,0	3,0	0,1	0,9	1,0	10,0
15	5,1	1,3	2,5	0,1	0,8	0,9	11,0
16	4,3	2,1	2,5	0,1	1,0	1,1	10,0
17	2,0	1,2	1,7	0,1	0,6	0,7	14
18	1,8	1,2	1,7	0,1	0,8	0,9	11
19	4,5	1,1	2,3	0,1	0,6	0,7	14,0
20	5,3	3,3	2,9	0,1	1,1	1,2	8,0

Максимальный диаметр бедренных артерий колебался в пределах от 1,8 до 8 мм. Минимальный диаметр находился в пределах от 0,5 до 4,7 мм. Средний геометрический диаметр колебался в пределах от 1,7 до 3,2 мм.

Минимальная толщина интимы равнялась 0,1мм, а максимальная толщина составила 0,2 мм. Минимальная толщина меди бедренной

артерии составила 0,5 мм, а максимальная толщина 1,3 мм. Толщина интимы-меди лежала в пределах от 0,6 до 1,5 мм.

Относительный объем интимы в комплексе интимы-меди в пределах от 7 до 17%.

В табл. 3 показаны статистические показатели диаметра, толщин, и процентный состав интимы в комплексе интимы-меди.

Таблица 3

**Диаметр и толщина интимы-меди сонных и бедренных артерий по данным гистологического исследования (мм, M±SD)**

Параметр	Сонная артерия	Бедренная артерия
Диаметр максимальный	4,9±1,0	5,7±1,7
Диаметр минимальный	2,8±0,9	2,1±1,2
Диаметр средний геометрический	2,7±0,3	2,7±0,4
Толщина интимы	0,1±0,1	0,4±0,7
Толщина меди	0,8±0,4	0,9±0,3
Интима+Медиа	0,9±0,4	1,3±1,1
% Интимы	14,6±6,0	12,8±4,8

Средний минимальный диаметр сонной артерии равнялся 2,8, а максимальный 4,9 мм, мм. Средний геометрический диаметр ОСА равнялся 2,7 мм.

Средняя толщина интимы составила 0,2 мм, а толщина меди 0,8 мм. Средняя толщина интимы-меди равнялась 0,9 мм. Средний относительный объем интимы в комплексе интимы меди составил 16,7%.

Средний максимальный диаметр БА составил 5,7 мм, а минимальный 2,1 мм. Средний геометрический диаметр БА равнялся 2,7 мм.

Средняя толщина интимы БА составила 0,1 мм, а толщина меди 0,9 мм. Средняя толщина интимы меди составила 1,0 мм. Средний относительный объем интимы в комплексе интимы-меди составил 11,2%.

Максимальный диаметр бедренной арте-

рии (БА) превысил максимальный диаметр ОСА, в свою очередь минимальный диаметр ОСА превысил минимальный диаметр БА. Значительных различий в среднем геометрическом диаметре между сонной и бедренной артерией не найдено.

Толщина интимы ОСА превысила толщину интимы БА. Толщина меди была выше в БА. Толщина интимы меди в БА была больше интимы меди в ОСА.

Принимая во внимание строение изучаемых артерий, следует отметить, что сонная артерия – артерия эластического типа, а бедренная-мышечного типа. Так как артерии эластического типа выполняют транспортную функцию и функцию поддержания давления в артериальной системе во время диастолы, в этом типе сосудов сильно развит эластический каркас, который дает возмож-

ность сосудам сильно растягиваться, сохраняя при этом их целостность [10]. Внутренняя оболочка сонной артерии достаточно толстая и образована тремя слоями: эндотелиальным, подэндотелиальным и слоем эластических волокон. Средняя оболочка состоит в основном из эластических элементов.

В артериях мышечного типа сила пульсовой волны существенно снижается, и возникает необходимость создания дополнительных условий по продвижению крови, поэтому в средней оболочке преобладает мышечный компонент.

Исходя из этого, следует полагать, что одновременный анализ сонной и бедренной артерии позволяет более полно оценить изменения артериального бассейна при АГ и должен стать правилом в обследовании таких пациентов.

Работами [12, 13] впервые показана роль структурных изменений сосудистой стенки в повышении периферического сопротивления при АГ, которые при АГ получили название ремоделирования сосудов. Под ремоделированием понимается адаптивная модификация функции и морфологии сосудов к повышенному АД [14]. Этот процесс включает две стадии: функциональных изменений сосудов, связанную с вазоконстрикторными реакциями в ответ на трансмуральное давление и нейрогуморальную стимуляцию, и морфологическую, характеризующуюся структурным уменьшением просвета сосудов вследствие утолщения их медиального слоя [14].

При сравнении полученных нами данных по определению диаметров сонных и бедренных артерий отмечен больший максимальный диаметр БА, чем сонной артерии

(СА). Хотя больший минимальный диаметр наблюдался в СА. При сравнении средних геометрических диаметров в СА и БА значительной разницы не было обнаружено. Одинаковый класс размеров обеих сосудов дает основание утверждать, что при их сравнении у пациентов с АГ нет необходимости вводить нормировочные коэффициенты.

Толщина слоя меди и интимы-медики оказалась большей в БА, хотя больший относительный процентный объем интимы наблюдался в СА. Принимая во внимание различия в строении сонных и бедренных артерий, можно сделать вывод, что в сонных артериях при АГ больший вклад в утолщение стенки вносит интима, а в бедренных – медиа.

## **ВЫВОДЫ**

1. Сонные и бедренные артерии при разном морфологическом строении имеют одинаковый класс размеров.
2. При АГ происходит структурные изменения сосудистой стенки сонных и бедренных артерий, в сонных артериях больше за счет утолщения интимы и в бедренных – за счет медики.
3. Разное строение сонных и бедренных артерий ставит задачи одномоментного исследования обоих сосудов в ультразвуковой диагностике ремоделирования при АГ.

Полученные результаты являются предпосылкой развития исследований реакций сонных и бедренных артерий на артериальную гипертензию с учетом ее патогенетических вариантов и различных методов лечения.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. O'Leary D., Polak J., Kronmal R. et al. // *N Engl J Med.* - 1999. - № 1. - Vol. 340. - P.14-22.
2. Touboul P., Elbaz A., Koller C. et al. // *Circulation.* - 2000. - Vol. - P102: 313-318.
3. 2007 Guidelines for the management of arterial hypertension. The Task Force for the Management of Arterial Hypertension of the European Society of hypertension and of the European Society of Cardiology // *European Heart Journal.* - 2007. - № 28. - P. 1462-1536.
4. Pries A., Reglin B., Secomb T. // *Hypertension.* - 2005. - № 46. - P. 725.
5. Bortel Van. // *J. of Hypertension.* - 2005. - № 23. - Vol. 1. - P. 37-39.
6. Pignoli P., Tremoli E., Poli A. et al. // *Circulation.* - 1986. - №74. - P. 1399-1406.
7. Schulte-Altendorneburg G., Droste D., Felszeghy S. et al. // *Stroke.* - 2001. - № 32. - P. 1520.
8. Wong M., Edelstein J., Wollmann. et al. // *Arterioscler Thromb.* - 1993. - № 13. - P.482-486.
9. Persson J., Formgren J., Israelsson B., Berglund G. // *Arterioscler Thromb.* - 1994. - № 14. - P. 261-264.
10. Пальцев М.А. Аничков Н.М. Пат. анатомия. Уч. в 2-х т. Т.2, ч.1. -М.: Медицина. - 2001. - 736 с.
11. Рекомендації УАК з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії. -Київ. - 2004. - 85 с.
12. Folkow B. // *Physiol Rev.* - 1982. - № 62. - P. 347-504.
13. Folkow B. // *Hypertension.* - 1990. - № 16. - P. 89-101
14. Cowley A. // *Am J Med.* - 1980. - Vol. 68. - № 6. - P. 184-200.

## **МОРФОМЕТРИЧНІ ПОКАЗНИКИ ТОВЩИНИ ІНТИМИ-МЕДІ І ДІАМЕТРУ СОННИХ І СТЕГНОВИХ АРТЕРІЙ У ПОМЕРЛИХ, ЩО СТРАЖДАЛИ НА АРТЕРІАЛЬНУ ГІПЕРТЕНЗІЮ**

Є.В. Дановська, М.І. Яблучанський, Н.О. Ремньова  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

## РЕЗЮМЕ

Представлені результати морфометричних показників інтими, медії та діаметрів сонних та стегнових артерій за матеріалами біопсії від пацієнтів, що страждали на артеріальну гіпертензію (АГ). Зроблений висновок, що при АГ структурні зміни судинної стінки в сонних артеріях відбуваються більше за рахунок потовщення інтими та в стегнових – за рахунок медії, при цьому розміри їх практично не відрізнялися.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** артеріальна гіпертензія, сонні артерії, стеговні артерії, гістологія, морфометрія

## MORPHOMETRIC PARAMETERS OF INTIMA-MEDIA THICKNESS AND DIAMETERS OF CAROTID AND FEMORAL ARTERIES OF THE DEAD, SUFFERED ARTERIAL HYPERTENSION

E.V. Danovskaya, N.I. Yabluchanskiy, N.A. Remniova  
V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

## SUMMARY

This paper presents the result of morphometric parameters of intima, media and diameters of carotid and femoral arteries according to biopsy materials from patients, suffered from arterial hypertension (AH). The conclusion has been made that structural changes of vascular wall in the presence of AH in carotid arteries is occur to a greater extent, due to thickening of intima and in femoral arteries- due to media, but for all that their sizes practically did not differ.

**KEY WORDS:** arterial hypertension, carotid arteries, femoral arteries, histology, morphometry

УДК: 612-231:616.34-053.6

## ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДИХУВАНОВОГО ПОВІТРЯ ПІДЛІТКІВ З ХРОНІЧНОЮ ДИСПЕПСІЄЮ ЗА ДОПОМОГОЮ НОВИХ ГАЗОЧУТЛИВИХ СЕНСОРІВ: МЕТОДИЧНІ АСПЕКТИ

Є.Г. Куш  
Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України, м.Харків

## РЕЗЮМЕ

Вперше в клінічній практиці застосовані нові газочутливі сенсори на основі синтетичних органічних провідників для дослідження видихуваного повітря людини. Відпрацьовано методику дихального тесту у підлітків з хронічною диспепсією та адаптовано її до педіатричної практики. Вивчено відгук сенсорів на видихуваний газ хворих при різній довжині експозиції. Встановлено, що при пролонгованій експозиції газочутливої речовини сенсора в середовищі видихуваного повітря крива відгуку стає більш складною, на ній з'являються додаткові особливості. Виділено характеристичні параметри зазначеної залежності, які дають змогу реалізувати комп'ютерний аналіз отриманих даних. Запропонований підхід є основою для подальшої розробки нового неінвазивного дихального тесту у підлітків з хронічною диспепсією.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** видихуване повітря, сенсори, хронічна диспепсія, підлітки

Патологія верхніх відділів шлунково-кишкового тракту, найпоширенішим проявом якої є синдром хронічної диспепсії, є однією з найвагоміших в педіатрії та гастроентерології [1]. Не дивлячись на значні успіхи, досягнуті в лікуванні цих захворювань, в усьому світі і, зокрема, в Україні, відзначається зростання її поширеності як серед дорослого населення, так і серед дітей та підлітків [2, 3]. До того ж, сучасні методи діагностики (ендоскопія, рН-метрія, гісто-

логічні дослідження) є інвазивними, трудомісткими та дорогими. Їх складно застосувати для моніторингу активності запалення, контролю ефективності призначеної терапії. Тому вдосконалення діагностичного процесу в гастроентерології найбільш доцільно здійснювати шляхом впровадження сучасних інноваційних неінвазивних методів з доступною собівартістю, високоінформативних, простих для використання та тлумачення [4, 5]. Особливо це важливо для педіатричної

практики, де потреба в неінвазивних діагностичних методах є найбільш необхідною [6, 7].

В останні роки в сучасній гастроентерології та педіатрії все більше стали використовуватись методи неінвазивної діагностики [7]. Перспективним напрямком в вирішенні цієї проблеми є аналіз видихуваного повітря (ВП), компоненти якого відбивають індивідуальний метаболічний профіль людини та змінюються при різних патологічних станах, у тому числі і при хворобах шлунка та дванадцятипалої кишки [8, 9].

Проблема аналізу повітря, яке видихається, придбала останнім часом особливий науковий інтерес у різних галузях науки, техніки, господарчої діяльності, в тому числі й в медичній діагностиці [8, 9]. Важливим поштовхом до прискорення робіт в цьому напрямку було присудження в 1998 році Нобелівської премії за відкриття «ролі оксиду азоту як сигнальної молекули в кардіоваскулярній системі». Це призвело до справжнього буму досліджень. За короткий час у ведучих світових журналах було опубліковано більш ніж 1000 робіт, присвячених вивченню оксиду азоту (NO) в різних біологічних середовищах, в тому числі і в ВП при різноманітній патології. Вони підтвердили, що NO є не тільки молекулою ключового значення для кардіоваскулярної системи, а також може служити маркером активності запального процесу, зокрема, при бронхіальній астмі. Поряд з дослідженнями NO було звернуто увагу на те, що й інші компоненти ВП можуть бути маркерами різних захворювань людини [9, 10].

За даними літератури, ВП людини містить понад 500 летючих органічних і неорганічних компонентів, які відбивають індивідуальний метаболічний профіль людини, а його компоненти змінюються при різних патологічних станах. Між складом ВП і біохімічним складом крові є певна кореляція [9, 11]. Отже, аналіз продуктів дихання людини може бути використаним як інформативний діагностичний тест ряду патологічних процесів (хронічні запальні захворювання, інтоксикація, рак легенів і стравоходу, серцева результатів між різними людьми з високим рівнем їх відтворюваності у кожного з них та відмінності відгуку сенсора у хворих з виразковою хворобою, що обумовили наш інтерес до подальшої роботи в цьому напрямку.

Представлені дослідження підтримані АМН України (НДР «Розробити спосіб неінвазивної діагностики хронічного гастродуоденіту та виразкової хвороби у підлітків з використанням нових газочувливих сенсо-

патологія та ін.) [12, 13].

У даний час активно використовуються різні методи для проведення аналізу повітря, яке видихається. Наприклад, широке застосування знаходять різні види спектроскопії для реєстрації ізотопів-маркерів, що вводяться в організм людини [11, 12]. Великі можливості дають також методи виявлення маркерів за допомогою реагентів, які вводяться в зону детектора. Але через значну собівартість обладнання ці аналітичні технології можуть бути використані тільки в спеціалізованих установах для проведення фундаментальних наукових досліджень. Найбільш перспективним може бути розвиток простих і доступних технологій, що дозволять давати результат безпосередньо при аналізі газу, який видихається, без додаткових операцій і обробки, тобто, не вдаючись до введення в організм людини хімічних препаратів. Тому в останній час велика увага зосереджена на створенні нових високотехнологічних матеріалів і сенсорів, що реагують на зміни складу газових і рідких середовищ [13].

Галузь дослідження і розробки сенсорів зазнала швидкого прогресу за останні роки і перетворилась на мультидисциплінарну науково-технічну діяльність, яка об'єднує фізику, хімію, біологію, матеріалознавство та інші науки. Створення сенсорів нового покоління для контролю газових середовищ є одним із перспективних напрямків цієї діяльності. Вдосконалення сенсорної техніки відбувається як у напрямку розробки нових методів виготовлення чутливих елементів, так і шляхом створення нових матеріалів. Серед таких матеріалів з унікальними фізико-хімічними властивостями, здатними забезпечити високі метрологічні характеристики, особливе місце займають синтетичні органічні сполуки, до числа яких належать солі 7,7,8,8-тетраціанохінодиметану (TCNQ).

Нещодавно нами вперше було встановлено, що при контакті з ВП людини похідні солей TCNQ міняють свої провідні властивості [14]. На основі цих матеріалів створені принципово нові сенсори. Пілотні випробування продемонстрували варіацію рів» (№ держреєстрації 0106U001171)) та УНТЦ (проект 3268).

Мета роботи – відпрацювання методики дослідження ВП у підлітків з урахуванням особливостей функціонування сенсорів в залежності від тривалості експозиції.

## **МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Робота виконувалась на базі відділення педіатрії та реабілітації Інституту охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України.

Обстежено 67 підлітків віком 10-18 років із симптомами хронічної диспепсії. Дослідження ВП підлітків проводилось на атестованому робочому місці, яке включало: вмонтований в тримач чутливий елемент (сенсор), блок живлення, вимірюючий пристрій (вольтметр універсальний В7-21А), реєструючий пристрій (персональний комп'ютер). Дихальний тест проводився натще. Хворі зранку не приймали ніяких медикаментів. По ко-

манді дослідника хворий брав в рот мундштук з вмонтованим всередині сенсором, на який одягалась змінна насадка (рис. 1). При контакті газочутливого матеріалу сенсора з ВП людини змінюється його електропровідність. Даний ефект відображається на екрані монітору у вигляді кривої, що являє собою залежність падіння напруги на сенсорі від часу. Результати вимірів автоматично реєструються в комп'ютері.



**Рис. 1.** Проведення експерименту з дослідження видихуваного газу хворого за допомогою сенсорів

Процес реєстрації результатів складається з 3 етапів.

1. Введення інформації про пацієнта та умови проведення дослідження.

2. Запис залежності сигналу відгуку від часу. Крива відгуку відображає два періоди: період експозиції, що настає з моменту контакту сенсора з ВП хворого і відповідає східчастому впливу видихуваного повітря на сенсор, і період релаксації, коли цей вплив цілком припинявся й сенсор переходив у вихідний стан при безпосередньому контакті з атмосферним повітрям.

3. Обробка кривої відгуку перед занесенням у базу даних.

Після експерименту крива відгуку відображається в границях мінімуму й максимуму величин сигналу, що був зареєстрований.

Аналіз газу, що видихається, проведено на основі серій кривих відгуку, зареєстрованих для кожного з пацієнтів.

Статистичне опрацювання отриманих даних проводилося за допомогою пакета прикладних програм Statgraphics.

## **РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ**

На першому етапі дослідження сигнал відгуку сенсора вимірювався при короткій тривалості експозиції протягом 10 і 20 секунд. Такий вибір часу впливу був зумовлений урахуванням параметрів кривих відгуку, які дозволяли виявити достовірні відмінності при аналізі даних, одержаних в різних експериментах. Зокрема, одним із таких характерних параметрів є максимальна швидкість зростання вихідного сигналу сенсора в режимі експозиції. Експериментальні дані свідчили про монотонну зміну швидкості, яка досягала максимуму протягом 10-15 секунд впливу, що і визначало загальну тривалість експозиції в цьому режимі. При цьому спостерігалась добра відтворюваність результатів для кожного досліджуваного. Загальний вигляд кривої відгуку сенсора на дію видихуваного повітря в режимі короткої експозиції наведено на рис. 2.



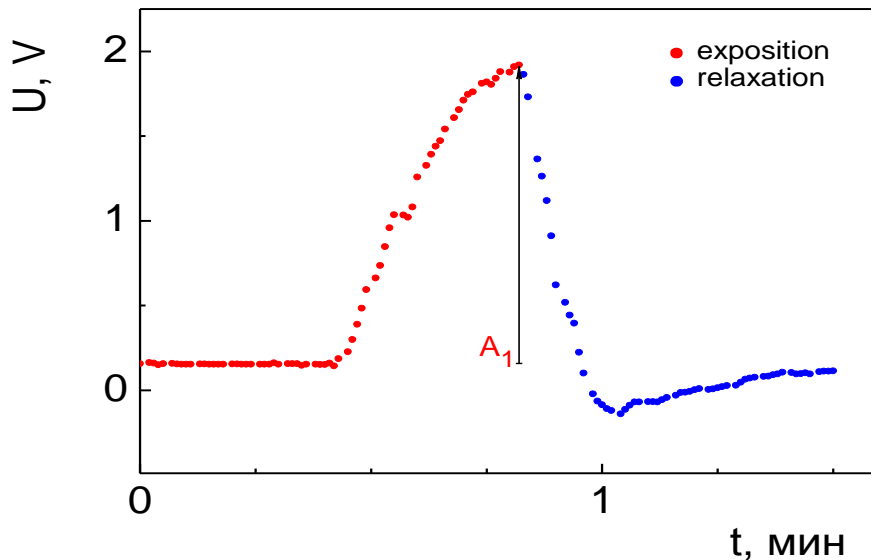


Рис. 2. Відгук сенсора на дію видихуваного газу при експозиції 10-20 секунд.  
 $U$  – падіння напруги на сенсорі,  $t$  – час,  $A_1$  – амплітуда сигналу сенсора при закінченні експозиції

Однак при дослідженні ВП пацієнтів в такому режимі іноді спостерігалась різна інтенсивність відгуку для одного випробуваного в різних експериментах, що було пов'язано з погрішністю визначення початку та кінця періоду експозиції. Це обумовлено тим, що при малій довжині експозиції сенсор працює в області різкої зміни сигналу відгуку, і навіть невелика помилка (порядку однієї секунди) у фіксації часу початку та кінця періоду взаємодії сенсора з ВП хворого може приводити в одній серії експериментів до істотних коливань в розмірі амплі-

туд сигналу, що реєструється. Неточність у реєстрації часу пов'язана з порушеннями синхронності в діях пацієнта та дослідника.

Щоб нівелювати вплив означених погрішностей на результати досліджень методика експерименту була доповнена вимірами в режимі з більш тривалою експозицією. Проведено вивчення сигналу відгуку сенсора на видихуваний газ підлітків при експозиції 1 хвилина та більше. В результаті було з'ясовано, що у цьому випадку з'являються додаткові максимуми на кривій релаксації, які раніше не реєструвались (рис. 3).

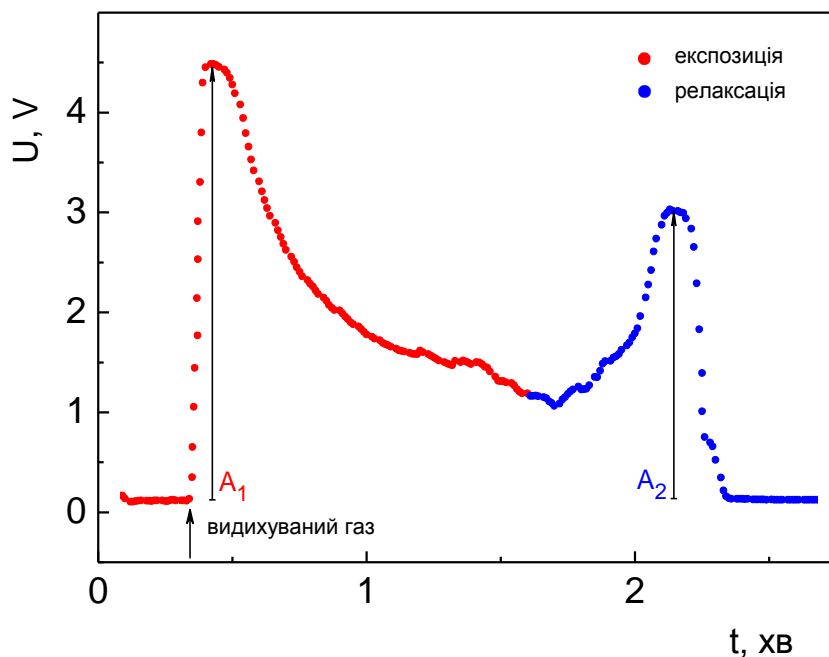


Рис. 3. Відгук сенсора на видихуваний газ у режимі пролонгованої експозиції.  
 $U$  – падіння напруги на сенсорі,  $t$  – час,  $A_1$  – амплітуда максимуму експозиції,  $A_2$  – амплітуда максимуму релаксації

Така поведінка кривої відгуку може свідчити про те, що чутлива речовина сенсора, в

основному, повністю прореагувала з компонентами видихуваного газу [3, 4]. Вона може



відбивати взаємодію сенсора з компонентами видихуваного газу, що мають більш тривалий час адсорбції.

Таким чином, криві відгуку  $U(t)$  стали більш складними на вигляд і, відповідно, характеризувались істотно більшою інформативністю. Вони включали максимуми періодів експозиції та релаксації. Аналіз їх поведінки дозволив визначити характеристичні параметри, які найбільш повно відбивають особливості відгуку сенсора та дозволяють проводити поглиблений аналіз ВП пацієнтів. Такими параметрами є: абсолютні значення максимумів експозиції та релаксації; значення вихідного сигналу сенсора в точці початку релаксації; відношення висота релаксаційного максимуму, що вимірюється від рівня в точці початку релаксації до абсолютної величини цього максимуму; нахил початкових ділянок кривої експозиції до точки максимуму; максимальне значення похідної (нахил кривої релаксації) на ділянці підйому кривої релаксації до максимуму; максимальне значення похідної (абсолютне значення) на ділянці спаду кривої релаксації від максимуму до вихідного значення сигналу сенсора; різниця максимальних значень похідних на початку та в кінці вихідного сигналу сенсора; час експозиції; час релаксації.

З урахуванням виявлених нових особливостей поведінки сенсора було проведено пошук оптимальної схеми вимірів в режимі з тривалою експозицією. При цьому спочатку дослідження видихуваного газу проводилося в умовах пролонгованої експозиції, що дорівнювала максимально стерпному кожним пацієнтом часу затримки дихання, і, відповідно, різної в кожному експерименті. Отримані в таких умовах криві були складні для порівняльного аналізу через різну тривалість експозиції. Встановити ж заздалегідь фіксований час експозиції було неможливо, тому що це б значно звузило коло обстежених дітей, обмеживши його тільки тими особами, які здатні до тривалої затримки дихання. Крім того, деякі підлітки, під час проведення дослідження за даною методикою мимоволі продовжували поверхневе дихання або робили короткі вдихи. Щоб спробувати нівелювати зазначені обмеження були проведені експерименти в режимі тривалої експозиції, під час яких випробуваний міг зробити 1-2 коротких й неглибоких вдихів-видихів через ніс, не припиняючи при цьому вплив на сенсор. Така організація експерименту показала, що істотної циркуляції атмосферного повітря в ротовій порожнині не відбувається і сенсор, як і раніше, знаходився під впли-

вом видихуваного газу, що відповідає складу газу на момент початку експерименту. В результаті було виявлено, що сигнали від-гуку сенсора на дію видихуваного газу однієї людини, отримані в умовах різних експериментів із затримкою подиху протягом 1-1,5 хвилини та з можливістю 1-2 вдихів-видихів через ніс, достовірних відмінностей не мають. Це дозволило проводити вимірювання в новому модифікованому режимі з чітко фіксованою довжиною експозиції тривалістю 1 хвилина з індивідуально можливою для кожного випробуваного обмеженою затримкою подиху, а при необхідності 1-2 коротким вдихом-видихом через ніс. Такий підхід робить дану діагностичну процедуру доступною для застосування в педіатричній практиці. При вимірах необхідно лише захищати сенсор від впливу рідин ротової порожнини (слина, мокротиння). Розроблена методика в даний час використовується для неінвазивного дослідження ВП підлітків з хронічною диспепсією з метою розробки способу діагностики найбільш поширених захворювань гастроудоденальної області.

## **ВИСНОВКИ**

1. Використання нових газочутливих сенсорів у підлітків з хронічною диспепсією в запропонованому новому модифікованому режимі робить дану діагностичну процедуру для хворої дитини більш комфортною, а для дослідника більш інформативною.
2. Вперше визначені характеристичні параметри поведінки кривої відгуку сенсора дозволяють реалізувати уніфікований комп'ютерний аналіз отриманих даних. Запропонований підхід є основою для подальшої розробки нового неінвазивного дихального тесту у підлітків з хронічною диспепсією.

Про перспективність запропонованого методичного підходу до вивчення впливу ВП хворих на нові газочутливі сенсори свідчать результати проведеного за даною методикою дихального тесту 67 підлітків з симптомами хронічної диспепсії, які показали відмінності відгуку сенсора у пацієнтів з різними варіантами патології верхніх від-ділів шлунково-кишкового тракту (деструктивними, запальними та функціональними захворюваннями шлунка та дванадцятипалої кишки, лімфоїдною гіперплазією шлунка) [15]. Результати цього етапу дослідження є важливим кроком до розробки нового неінвазивного дихального тесту.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Белоусов Ю.В., Денисова М.Ф. // Современная педиатрия - 2006. - № 3 (12). - С. 121-122.
2. Пархоменко Л.К. Ювенологія. -Х.:Факт. - 2004. - С. 429-456.
3. Белоусов Ю.В. Педиатрическая гастроэнтерология: Клинические лекции. -Х.:Факт. - 2007. - 376 с.
4. Баранов А.А. // Педиатрия. - 2002. - № 3. - С. 12-18.
5. Солодчий В.А., Перхов В.И., Ступанов Н.И. и др.// Здравоохранение Рос. Федерации. - 2006. - №3. - С. 28-31.
6. Кошля В.И., Дмитриева С.Н., Шватченко С.В. // Совр. педиатрия. - 2005. - № 6. - С. 100-103.
7. Печуров Д.В., Щербаков П.Л., Каганова Т.И. // Педиатрия. - 2004. - № 2. - С. 12-16.
8. Marczin N., Yacoub M.H. (Eds.). Disease Markers in Exhaled Breath: Basic Mechanisms and Clinical Applications (NATO ASI Series, IOS Press, Amsterdam. - 2002. - 418 p.
9. Amann Ed. Smith A.D. Breath analysis for medical diagnosis and therapeutic monitoring. World Scientific, Singapore. - 2005. - 536 p.
10. Berri. M.J. Lung Cancer Screening by Breath Analysis. Disease Markers in Exhaled Breath NATO ASI Series, IOS Press. - Amsterdam. - 2002. - 418 p.
11. Kharitonov S.A., Barnes P.J. // Am. J. Respir. Crit. Care Med. - 2001. - Vol. 163. - P. 1693-1722.
12. Amann A., Schmid A., Scholl-Burgi S. // Spectroscopy Eur. - 2005. - Vol. 17. - №3 - P. 16-20.
13. Philips M., Cataneo R.N., Ditkoff B.A. // Breast J.- 2002. - Vol. 9. - P. 184-191.
14. Kamarchuk G.V., Pospelov O.P., Alexandrov Yu.L., et al. // "Breath Analysis for Medical Diagnosis and Therapeutic Monitoring". Ed. by A. Amann and D. Smith. World Scientific, Singapore. - 2005. - P. 85-99.
15. Kushch I.G., Kamarchuk L.V., Pospelov A.P., et al. // "Breath Analysis in Physiology and Medicine". Book of Abstracts, September 4<sup>th</sup> and 5<sup>th</sup> 2006 Prague, Czech Republic. - P. 7.

## ИССЛЕДОВАНИЕ ВЫДЫХАЕМОГО ВОЗДУХА ПОДРОСТКОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ДИСПЕПСИЕЙ С ПОМОЩЬЮ НОВЫХ ГАЗОЧУВСТВИТЕЛЬНЫХ СЕНСОРОВ: МЕТОДИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ

*Е.Г. Куш*

Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины, г. Харьков

---

## РЕЗЮМЕ

Впервые в клинической практике использованы новые газочувствительные сенсоры на основе синтетических органических проводников для исследования выдыхаемого воздуха человека. Отработано методика дыхательного теста у подростков с хронической диспепсией и адаптировано ее к педиатрической практике. Изучено отклик сенсора на выдыхаемый газ больных при разной длительности экспозиции. Установлено, что при пролонгированной экспозиции газочувствительного вещества в среде выдыхаемого воздуха кривая отклика приобретает более сложный характер, на ней появляются дополнительные особенности. Выделены характеристические параметры отмеченной зависимости, которые дают возможность реализовать компьютерный анализ полученных данных. Предложенный подход является основой для дальнейшей разработки нового неинвазивного дыхательного теста у подростков с хронической диспепсией.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** выдыхаемый воздух, сенсоры, хроническая диспепсия, подростки

## STUDY OF BREATH OF ADOLESCENTS WITH CHRONIC DYSPEPSIA BY MEANS OF NEW GAS-SENSITIVE SENSORS: METHODIC ASPECTS

*I.G. Kusch*

Institute for Children and Adolescents Health Care of AMS of Ukraine, Kharkiv

---

## SUMMARY

New gas-sensitive sensors based on synthetic organic conductors were applied to clinical practice for the first time to analyze human breath gas. Methodic of breath test of adolescents suffered from chronic dyspepsia was developed and adapted for pediatrics. Sensor responses upon breath of ill patients were studied under different duration of exposition. It was revealed that response curve transforms to more complex dependence under prolong exposition of gas-sensitive material in breath environmental: new peculiarities appear. Characteristic parameters of such response curve were determined. They provide computer analysis of obtained data. Proposed approach is a basis for further development of a new noninvasive breath test for adolescents with chronic dyspepsia.

**KEY WORDS:** breath, sensors, chronic dyspepsia, adolescents



УДК: 616.72-002-053.6

## ХАРАКТЕРИСТИКА ПСИХОЛОГІЧНИХ ОСОБЛИВОСТЕЙ ТА АДАПТОВАНОСТІ ДО ЗАХВОРЮВАННЯ У ПІДЛІТКІВ ІЗ ОСТЕОАРТРОЗОМ

І.С. Лебець<sup>1</sup>, Г.В. Леляго<sup>2</sup><sup>1</sup>Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України, Харків, Україна<sup>2</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

### РЕЗЮМЕ

Вивчено психологічні особливості та активність регуляторних систем підлітків, хворих на остеоартроз, що розвинувся на тлі гіпермобільного синдрому (основна група) і пацієнтів із гіпермобільним синдромом без ознак остеоартрозу (група порівняння). Встановлено, що в основній групі частіше визначаються окремі «чисті» типи ставлення до хвороби переважно «адаптивного блоку», емоційна нестабільність та середній рівень стресу. В групі порівняння частіше спостерігалися «змішані» типи ставлення до хвороби і високий рівень емоційного стресу. Показник активності регуляторних систем не відрізнявся між групами підлітків, але зі збільшенням тривалості остеоартрозу знижувався, що вказує на формування поступової адаптованості до захворювання.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** остеоартроз, підлітки, психологічні особливості, активність регуляторних систем

За статистичними даними країн усього світу остеоартроз (ОА) є однією з найбільших соціальних, економічних та психологічних проблем. У формуванні останньої певне значення має наявність у хворих постійного больового синдрому, обмеження повсякденної активності. Визначається, що порушення рухливої активності у суглобах різного ступеня вираженості спостерігаються у 80% дорослих із ОА, а 25% хворих неспроможні виконувати звичайну домашню роботу. Економічні питання стосуються не тільки хворого на ОА, його сім'ї, але й усього суспільства також, і обумовлені витратами на лікування, реабілітацію, утриманням за рахунок державних коштів неспроможних обслуговувати себе пацієнтів.

Звертає на себе увагу той факт, що за останні декілька десятиріч поширеність ОА значно зростає. Зазначена тенденція спостерігається й на наш час. Прогнозується, що до 2020 року близько 60% населення усього світу буде страждати на ОА. Це пов'язують зі збільшенням відсотка людей похилого віку на тлі зниження народжуваності, бо саме похилий вік є основною віковою категорією, в якій перш за все розвивається ОА. Проте спостерігається загрозлива тенденція щодо формування даного захворювання й в осіб молодше 45 років, що в подальшому призводить до більш раннього вікового вилучення їх з трудового процесу. Тому однією з найважливіших проблем ОА є його первинна профілактика та діагностика на ранніх етапах розвитку для своєчасного призначення адекватного лікування, що попередить прогресування захворювання і сприятиме розв'язанню частки соціальних, економічних, психологічних питань.

Робота виконувалася відповідно до планів

науково-дослідних робіт Інституту охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України в рамках теми «Вивчити особливості дебюту остеоартрозу у підлітків з урахуванням ключових механізмів формування захворювання» (шифр АМН 24/05, № держреєстрації 0105U002437).

В основу розвитку ОА покладають руйнування суглобового хряща. Клінічно цей процес супроводжується постійним больовим синдромом, обмеженням рухів. Встановлено, що часті артралгії в уражених суглобах можуть не тільки знижувати їх рухливу активність, але й призводити до різних психологічних порушень у пацієнтів. За даними Михайлової Г.Є., у дорослих із ОА, відбуваються значні психогенні зсуви [1]. Дослідники визначають, що у хворих на ОА досить часто спостерігається депресивний стан завдяки вираженому болю та неспроможності виконувати свої функції [2, 3].

Відомо, що важливими чинниками ризику розвитку ОА є жіноча стать, заняття спортом, травми, а також гіпермобільний синдром (ГМС). Встановлено, що в підлітковому віці деструктивний процес часто розвивається саме на тлі ГМС [4]. На сьогодні гіпермобільність суглобів (ГС) визначена приблизно у 27% населення світу. Вона передусім обумовлена гіперрозтягненістю та неповноцінністю синтезу колагену і аномалією колагенових структур. Здебільшого ГС клінічно мало проявляється, але в деяких випадках виникають артралгії, розтягнення та порушення цілісності зв'язок, звивихи, досить часті травми, крововиливи у суглоб. Зазначені симптоми можуть з'являтися навіть при найменшій фізичній нарузі, тобто при ГМС формуються умови для постійного емоційного навантаження. В останні часи досить

активно обговорюються питання щодо внеску ГМС у розвиток ОА. Вважається, що збільшена амплітуда рухів у суглобах при ГМС може сприяти появі початкових ознак ОА за рахунок розбалансованості суглобової системи, порушення конгруентності суглобових поверхонь кісток та неправильного розподілу навантаження. В деяких роботах дослідники звертають увагу на те, що ГМС супроводжується змінами у вегетативному гомеостазі, що є досить актуальним особливо при ОА, бо вегетативна нервова система (ВНС) впливає на кровопостачання суглобової системи через регулювання судинного тонуусу та робить значний внесок у підтримання адекватного складу синовіальної рідини. Окрім цього зміни у вегетативному гомеостазі можуть мати зв'язок зі ступенем емоційного напруження людини [5].

Науково-дослідні розробки щодо визначення значущості особливостей особистості та ВНС у формуванні ОА, до нашого часу не проводилися.

Мета даного дослідження – удосконалення діагностики ОА у підлітків на підставі уточнення їх психологічних особливостей та психологічної адаптованості на тлі різної тривалості хвороби.

## МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Під наглядом знаходилося 120 підлітків 14-18 років; 100 хворих на ОА, що розвинулися на тлі ГМС, склали основну групу, а 20 пацієнтів із ГМС без ОА – групу порівняння. Діагноз ОА встановлювався з урахуванням МКХ – 10 і критеріїв РЗ [6]. Рентгенологічні зміни у суглобах відповідали I – II ступеню за класифікацією Kellgren. За статтю підлітки розподілялися наступним чином: в основній групі хлопців було 29, дівчат – 71, в групі порівняння відповідно 11 і 9. Тривалість ОА у середньому склала  $3,1 \pm 0,12$  роки. Виділено групу хворих з наявністю клінічних та рентгенологічних ознак ОА до 1 року (дівчат – 30 осіб, хлопців – 13) та групу підлітків з клініко-рентгенологічними проявами хвороби більше 1 року (дівчат – 41 особа, хлопців – 16). Найчастіше патологічний процес визначався в колінних суглобах (86,0%). Хворі з тривалістю ОА до 1 року скаржилися на артралгії, які виникали тільки після надмірних фізичних навантажень. При збільшенні тривалості ОА артралгії турбували хворих також при спусканні зі сходів і наприкінці дня (78,9%). Серед останніх у 61,4% осіб спостерігалася короткочасна тугорухливість у суглобах. У більшості підлітків мало місце хрускотіння у суглобах (87,7%) та метеозалежність (73,7%).

Психологічне обстеження підлітків включало у себе визначення типів ставлення до хвороби за допомогою тесту «Типы отношения к болезни» (ТСХ) [7], акцентуації характеру за допомогою «Патохарактерологического опросника для подростков» (ПДО) за А.Е. Личко [8], рівня нейротизму за тестом Айзенка [9] та особистісної тривожності за восьмикольоровим тестом Люшера [10]. Оцінка результатів досліджень проводилася за загальноприйнятими методиками для кожного із тестів.

Стан вегетативної нервової системи вивчали за оцінкою варіабельності серцевого ритму (ВСР) з використанням комп'ютерної діагностичної системи «Cardiolab+» (ХАІ-медика) [11] і вираховували показник активності регуляторних систем (ПАРС, бали) за Р.М. Баєвським [12].

Статистичну обробку отриманих (середнє значення  $M$ , його помилка ( $m$ ), достовірність ( $p$ ) різниць між групами за кутовим перетворенням Фішера та критерієм Ст'юдента) результатів проводили за допомогою пакетів програм Microsoft Excel 2003 для Microsoft Windows XP Professional.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз результатів тесту «Тип отношения к болезни» (табл. 1) дозволив встановити, що для пацієнтів із ОА більш характерні конкретні окремі ТСХ (71,0%). Переважно це були типи з «адаптивного блоку» – ергопатичний ( $P$ , 36,6%), анозогнозичний ( $З$ , 25,4%) та гармонійний ( $Г$ , 22,5%). В групі порівняння навпаки частіше визначалися «змішані» ТСХ ( $p < 0,01$ ), а серед «чистих» діагностувалися лише  $Г$  (у дівчат) і  $P$  (у хлопців).

Дівчата, хворі на ОА, ставилися до свого захворювання більш об'єктивно ніж хлопці. На це вказувала більша кількість «чистих» ТСХ ( $p < 0,001$ ). Здебільшого вони розуміли, що хворі, але намагалися відволіктися від думок про хворобу ( $P$ , 40,4%). Хлопці переважно взагалі відкидали будь-які думки про ОА ( $З$ , 36,8%). В той же час, як серед дівчат, так і серед хлопців були підлітки, які адекватно оцінювали свій стан, без зменшення або перевищення його тяжкості ( $Г$  тип). Тривалість ОА у дівчат майже не вплинула на їх відношення до хвороби. Проте хлопці із збільшенням тривалості ОА, як і дівчата, починають розуміти, що вони хворі. Деяка частина з них маскує хворобу надмірною працею ( $P$ , 33,3%), а деяка адекватно до неї ставиться ( $Г$ , 33,3%).

Акцентуації характеру (АХ) за даними тесту ПДО, визначалися у 94,0% пацієнтів, хворих на ОА (табл. 2).

Таблиця 1

## Типи ставлення до хвороби у підлітків, хворих на остеоартроз, та із гіпермобільним синдромом

Групи хворих	Стать	Тривалість хвороби	Стат. показн.	«Чисті» типи					«Змішані» типи	
				Усього	Г	Р	З	інші		
Основна група	Усього (n=100)	n %±p	n	71	16	26	18	11	29 29,0±4,5	
			%±p	71,0±4,5	22,5±4,9	36,6±5,7	25,4±5,2	15,5±4,3		
			Усього (n=71)	n	52	12	21	11		8
	Дівчата	n %±p	До 1 року (n=30)	n	25	5	10	6	4	5
			%±p	83,3±6,8	20,0±8,2	40,0±10,0	24,0±8,7	16,0±7,5	16,7±6,8	
			Більше 1 року (n=41)	n	27 <sup>ooo</sup>	7	11	5	4	14
	Хлопці	n %±p	Усього (n=29)	n	19 <sup>ooo</sup>	4	5	7	3	10
			%±p	65,5±8,9	21,1±9,6	26,3±10,4	36,8±11,4	15,8±8,6	34,5±8,9	
			До 1 року (n=13)	n	7 <sup>ooo</sup>	-	1	5	1	6
	n %±p	%±p	53,8±14,4	-	14,3±14,3	71,4±18,5	14,3±14,3	46,2±14,4		
		Більше 1 року (n=16)	n	12 <sup>ooo</sup>	4	4	2	2	4	
		%±p	75,0±11,2	33,3±14,2	33,3±14,2	16,7±11,3	16,7±11,3	25,0±11,2		
Група порівняння	Усього (n=20)	n %±p	n	7	3	4	-	-	13 <sup>**</sup>	
			%±p	35,0±10,9	42,9±20,2	57,1±20,2	-	-	65,0±10,9	
			Дівчата (n=9)	n	3	3 <sup>ooo</sup>	-	-	-	6 <sup>ooo</sup>
	n %±p	%±p	33,3±16,7	100,0	-	-	-	66,6±16,7		
		Хлопці (n=11)	n	4	-	4 <sup>ooo</sup>	-	-	7 <sup>ooo</sup>	
	n %±p	%±p	36,4±15,2	-	100,0	-	-	63,6±15,2		

Примітки: типи ставлення до хвороби: Г – гармонійний, Р – ергопатичний, З – анозогнозичний; \*\*p<0,01 – розбіжності між показниками у пацієнтів основної групи та групи порівняння; \*\*\*p<0,001 – розбіжності між показниками у хлопців основної групи та групи порівняння; \*\*\*\*p<0,001 – розбіжності між показниками у дівчат та хлопців основної групи; \*\*\*\*\*p<0,001 – розбіжності між показниками у дівчат основної групи та групи порівняння; oooop<0,001 – розбіжності між показниками у хлопців із тривалістю ОА до 1 року і більше 1 року; oooop<0,001 – розбіжності між показниками у дівчат із тривалістю ОА до 1 року і більше 1 року.

Таблиця 2

## Типи акцентуацій характеру у підлітків, хворих на остеоартроз, та із гіпермобільним синдромом

Групи хворих	Стать	Тривалість хвороби	Стат. показн.	«Чисті» типи							«Змішані» типи		
				Усього	І	Е	Л	Г	Ш	П		інші	
Основна група	Усього (n=94)	n %±p	n	69 <sup>ooo</sup>	16	14	14	4	5	8	8	25	
			%±p	73,4±4,6	23,2±5,1	20,3±4,8	20,3±4,8	5,8±2,8	7,2±3,1	11,6±3,9	11,6±3,9	26,6±4,6	
			Усього (n=67)	n	51	14	11	12	3	1	6	4	19
	Дівчата	n %±p	До 1 року (n=25)	n	19	6	5	4	-	-	1	3	6
			%±p	76,0±8,7	31,6±10,9	26,3±9,4	21,1±9,6	-	-	5,3±3,3	15,8±8,6	24,0±8,7	
			Більше 1 року (n=42)	n	32 <sup>ooo</sup>	8	6	8	3	1	5	1	13
	Хлопці	n %±p	%±p	76,2±6,6	25,0±7,6	18,8±6,9	25,0±7,6	9,4±5,2	3,1±3,1	15,6±6,4	3,1±3,1	23,8±6,6	
			Усього (n=27)	n	18 <sup>ooo</sup>	2	3	2	1	4	2	4	9
			%±p	66,7±9,2	11,1±7,6	16,7±9,1	11,1±7,6	5,6±5,6	22,2±10,1	11,1±7,6	22,2±10,1	33,3±9,2	
	n %±p	До 1 року (n=11)	n	9 <sup>ooo</sup>	1	-	1	1	1	2	3	3	
		%±p	81,8±12,2	11,1±11,1	-	11,1±11,1	11,1±11,1	11,1±11,1	22,2±14,7	33,3±16,7	18,2±12,2		
		Більше 1 року (n=16)	n	9	1	3	1	-	3	-	1	7	
	n %±p	%±p	56,3±12,8	11,1±11,1	33,3±16,7	11,1±11,1	-	33,3±16,7	-	11,1±11,1	43,7±12,8		
		Усього (n=20)	n	16	5	9*	2	-	-	-	-	4	
		%±p	80,0±9,2	31,3±11,9	56,3±12,8	12,5±8,5	-	-	-	-	-	20,0±9,2	
Група порівняння	Дівчата (n=9)	n %±p	n	7 <sup>ooo</sup>	4	0	2	-	-	-	-	2	
			%±p	77,8±14,7	57,1±20,2	14,3±14,3	28,6±18,4	-	-	-	-	28,6±18,4	
	Хлопці (n=11)	n %±p	n	9 <sup>ooo</sup>	1 <sup>▲</sup>	8 <sup>ooo</sup>	-	-	-	-	-	2	
			%±p	81,8±12,2	11,1±11,1	88,9±11,1	-	-	-	-	-	18,2±12,2	

Примітки: типи акцентуацій характеру: І – істероїдний, Е – епілептоїдний, П – параноїдний, Г – гіпертимний, Ш – шизоїдний, Л – лабільний; \*\*\*p<0,001, \*p<0,05 – розбіжності між показниками у хворих основної групи та групи порівняння; \*\*\*\*p<0,001 – розбіжності між показниками у хлопців основної групи та групи порівняння; oooop<0,001 – розбіжності між показниками у дівчат та хлопців основної групи; \*\*\*\*\*p<0,001 – розбіжності між показниками у дівчат основної групи та групи порівняння; oooop<0,001 – розбіжності між показниками у хлопців із тривалістю ОА до 1 року і більше 1 року; oooop<0,001 – розбіжності між показниками у дівчат із тривалістю ОА до 1 року і більше 1 року; ▲p<0,001, ▲▲p<0,01 – розбіжності між показниками у дівчат та хлопців групи порівняння.

В основній групі переважно мали місце «чисті» АХ (73,4%). Серед них найбільш частими були: істероїдний тип АХ (І, 23,2%), лабільний (Л, 20,3), епілептоїдний (Е, 20,3%), психастенічний (П, 11,6%), шизоїдний (Ш,

7,2%) та гіпертимний (Г, 5,8%). Досить рідкими були й інші типи АХ (11,6%). Встановлено, що дівчата більш схильні до емоційного забарвлення поведінки у вигляді намагання привернути увагу оточуючих і близь-

ких до себе (**I**, 27,5%, та **Л**, 23,5%, типи), або до роздратування з найменших причин (**Е**, 21,6%). Особливості характеру осіб чоловічої статі переважно проявлялися замкненістю у собі (**Ш**, 22,2%), агресивністю (**Е**, 16,7%). Великі плани на майбутнє (**Г** тип) та тривожність стосовно нього (**П** тип) мали місце серед осіб обох статей. З часом збереження клінічних ознак ОА у дівчат суттєво не змінило їх характер, а у хлопців додалося роздратування (**Е**, 33,3%). В групі порівняння АХ встановлені у всіх досліджуваних. Серед них переважали «чисті» типи АХ, а саме – **Е** тип (56,3%). В цій групі дівчатам були більш притаманні ознаки **I** типу, а хлопцям – **Е** типу АХ.

Визначені в процесі дослідження у пацієнтів з ОА постійні зміни настрою, ігнорування хвороби або її маскуванню справами, агресивність та роздратованість можуть бути ознаками емоційної нестабільності.

За даними опитувальника Айзенка, нейротизм визначався в обох групах. У хворих на ОА емоційна невривноваженість діагностувалася у 33,0% випадків. Причому її рівень у середньому становив  $19,1 \pm 4,0$  балів. Слід зазначити, що дівчата були більш схильні до проявів нейротизму ніж хлопці (38,1% проти 20,7%,  $p < 0,05$ ). Така тенденція спостерігалася і з часом, незважаючи на те, що у дівчат із ознаками ОА більше року частота нейротизму знижувалася (з 46,7% до 31,7%), а у хлопців – підвищувалася (з 15,4% до 25,0%).

В групі порівняння емоційна нестабільність мала місце у 65,0% досліджуваних. Встановлено, що його частота була вищою у дівчат ніж у хлопців (77,8% проти 54,5%,  $p < 0,05$ ). Слід зазначити, що в групі пацієнтів із ГМС без ознак ОА як серед дівчат (77,8% проти 38,1%,  $p < 0,001$ ), так і серед хлопців (54,5% проти 20,7%,  $p < 0,05$ ) нейротизм виявлявся частіше, порівняно із хворими основної групи.

Тривалий перебіг захворювання, стійкий больовий синдром можуть сприяти формуванню хронічного стресу, який, за даними тесту Люшера, у хворих основної групи і в групі порівняння діагностувався в більшості випадків.

У всіх пацієнтів рівень емоційного стресу розподілявся на низький, середній та високий. Дуже високий рівень тривожності в жодній групі підлітків не спостерігався. Аналіз даних тесту Люшера дозволив встановити, що у підлітків із ОА частота емоційного стресу була нижче ніж в групі підлітків із ГМС без ознак ОА (77,0% проти 80,0%,  $p < 0,001$ ). Загалом хворим основної групи переважно притаманний середній рівень стресу

як у дівчат (64,3%), так і у хлопців (63,6%). Високий рівень стресу в цій групі визначався у 20,8% хворих, а низький – у 14,1%. Зі збільшенням тривалості ОА суттєвих зсувів у частоті стресу у дівчат не відбувалося (65,5% та 65,7% відповідно). Проте у хлопців мало місце збільшення частоти середнього рівня стресу (з 50,0% до 71,4%,  $p < 0,001$ ).

В групі порівняння як у дівчат (71,4%), так і у хлопців (55,5%) спостерігався здебільшого високий рівень стресу, причому його частота була вищою у осіб жіночої статі ( $p < 0,001$ ).

Важливим індикатором стану здоров'я, психологічної адаптованості є значення ПАРС, який відображає неспецифічну реакцію організму на стресову ситуацію. На підставі даних ПАРС встановлюються різні функціональні стани: оптимальне, помірне, виражене напруження регуляторних систем (РС), перенапруження та виснаження РС.

У підлітків основної групи та групи порівняння ПАРС відповідав помірному напруженню РС ( $3,8 \pm 0,14$  та  $3,8 \pm 0,12$  бали відповідно), що характеризується необхідністю в додаткових функціональних резервах для адаптації організму до оточуючого середовища. Переважно такий рівень напруження РС формується на тлі емоційного стресу. У цілому в залежності від статі різниця у значенні ПАРС не було ( $3,8 \pm 0,14$  у дівчат і  $3,6 \pm 0,12$  у хлопців). Проте при тривалому перебізі ОА мала місце тенденція щодо зниження результатів цього показника як у дівчат (з  $4,1 \pm 0,14$  до  $3,7 \pm 0,14$ ,  $p < 0,05$ ), так і у хлопців (з  $3,8 \pm 0,1$  до  $3,3 \pm 0,08$ ,  $p < 0,01$ ). В групі порівняння значення ПАРС було значно вищим у дівчат ніж у хлопців ( $4,0 \pm 0,12$  проти  $3,7 \pm 0,08$ ,  $p < 0,05$ ). В залежності від статі суттєвих різниць в значеннях показника ПАРС між хворими основної групи та групи порівняння не виявлено.

Таким чином, дані нашого дослідження свідчать, що клінічні ознаки ОА, переважно больовий синдром, сприяли формуванню хронічного стресу, який з психологічної точки зору, проявлявся своєрідним ставленням до хвороби, акцентуаціями характеру, нейротизмом. Мали місце статеві відмінності. Так, хлопці на відміну від дівчат відкидають думки про хворобу і в якійсь мірі це можна пов'язати з тим, що біль у них носить випадковий характер. Порівняно з хлопцями розвиток ОА більш впливає на дівчат і у них частіше визначаються зсуви у психологічній сфері та середній рівень стресу. При збільшенні тривалості ОА відмічається тенденція щодо поступового звикання дівчат до наявності захворювання і частка такого рівня стресу та емоційної не-

стабільності зменшується, навпроти, хлопці з часом тільки починають розуміти, що вони хворі і у них збільшується частота стресу.

В групі пацієнтів із ГМС без ознак ОА переважно формувався неоднозначне ставлення до стану свого опорно-рухового апарату. Як правило, підлітки не можуть пристосуватися до негативних клінічних симптомів ГМС, які доволі часто проявляються непередбаченим падінням, травмами. Саме цим фактором і пояснюється визначення у значної кількості таких досліджуваних нейротизму та стресу високого рівня. Однак, постійний, протягом життя, контроль за правильністю рухів в зв'язку з розбалансованістю суглобів, необхідністю бути обережними при русі, призводить до звикання до хвороби і в результаті чого рівень стресу знижується у підлітків з ОА на тлі ГМС. На це вказує те, що частота нейротизму та рівень стресу у пацієнтів із ОА були нижчими ніж в групі підлітків із ГМС без ознак ОА. Ми також встановили, що стрес впливав не тільки на психологічні особливості особистості, але й на активність регуляторних систем. Деякі дослідники зазначають [13,14], що однією з перших на стрес реагує симпатична ланка ВНС. За результатами нашого дослідження, встановлено, що як при ГМС, так і в разі ОА на тлі ГМС має місце реакція з боку ВНС на рівні помірного напруження регуляторних систем (ПАРС до 4 балів). Причому за наявності у пацієнтів ГМС без ознак ОА ця реакція була більш вираженою ніж у хворих на ОА на тлі ГМС. Визначено, що в обох групах значення ПАРС було вищим у дівчат. В основній групі при збільшенні тривалості хвороби, вегетативне забезпечення характеризувалося зниженням активності регуляторних систем, що відображало можливу адаптацію до захворювання.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Михайлова А.Е. Протопопова Р.Н., Кривошапкин В.Г., и др. // Научно-практическая ревматология. - 2005.- № 2. - С. 11-14.
2. Семенів І.П., Головач І.Ю., Суліма В.С., и др. // Укр. ревматол. журнал. - 2004. - № 2.- С. 61-65.
3. Giuseppina M., Giardini A., Scotti A. // Health and Quality of Life Outcomes. - 2005. - Vol. 3. - P.1-8.
4. Лебець І.С., Костюріна Н.О., Матвієнко О.В., Лєтяго Г.В. // Вісник Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна. - 2004. - вип. 9. - № 639. - С. 60 - 63.
5. McCrarty R., Atkinson M., Tiller W.A., et al // Am.J.Cardiol. - 1995. -Vol. 76. - P. 1089-1093.
6. Коваленко В.Н., Шуба Н.М. Ревматические болезни: номенклатура, классификация, стандарты диагностики и лечения. -К.:ООО «Катран групп». - 2002. - 214 с.
7. Вассерман Л.И., Вукс А.Я., Иовлев Б.В., Карпова Э.Б. Методика для психологической диагностики типов отношения к болезни: Метод. рекомендации. -Л. - 1987.- 21с.
8. Иванов Н.Я., Личко А.Е. Патохарактерологический диагностический опросник для подростков. - Санкт-Петербург. - 1992. - 36 с.
9. Бурлачук Л.Ф., С.М. Морозов. Словарь-справочник по психологической диагностике. -К.:«Наукова думка». - 1989. - 197 с.
10. Драгунский В.В. Цветовой личностный тест: Практ. пособие. -М.:АСТ, Мн.:Харвест.- 2003.- 448 с.
11. Яблчанский Н.И., Мартыненко А.В., Исаева А.С. Основы практического применения неинвазивной технологии исследования регуляторных систем человека. - Харьков «Основа». - 2000. - 88 с.

## ВИСНОВКИ

1. Психологічне дослідження показало, що підлітки із ОА намагаються відволіктися від думок про хворобу за рахунок різних видів діяльності, наприклад, навчання. Особливо це стосується дівчат. Для осіб чоловічої статі на початковому етапі розвитку ОА більш характерне ігнорування захворювання. Проте при збільшенні тривалості ОА, підсиленні больового синдрому у хлопців визначається тенденція щодо формування схожих з дівчатами ТСХ.
2. Встановлено, що підліткам, хворим на ОА, притаманні риси істероїдності, агресивності, в деякій мірі – мрійливості. Окрім того, незалежно від статі, визначається емоційна нестабільність та середній рівень психологічного стресу.
3. В групі пацієнтів із ГМС без ознак ОА психологічні особливості характеризуються розвитком переважно агресивності у хлопців, у дівчат - істероїдності. Поряд з цим у осіб обох статей спостерігається високий рівень емоційного стресу.
4. Значення ПАРС підтверджують відхилення в емоційній сфері у пацієнтів як основної групи, так і групи порівняння. У дівчат рівень напруження регуляторних систем значно вищий ніж у хлопців. При тривалому перебізі ОА у осіб обох статей основної групи ПАРС знижується. Перспективним у розробці проблеми ОА в підлітків є встановлення зв'язку між психологічними особливостями, станом ВНС, мікроциркуляцією та ступенем деструктивних змін у хрящі, за даними рентгенологічного й ультразвукового досліджень, що дозволить доповнити лікувально-профілактичні заходи щодо вторинної профілактики захворювання – його прогресування.



12. Баевский Р.М., Иванов Г.Г. // Ультразв. и функциональная диагностика. - 2001. - №1. - С. 108-127.
13. Передерій В.Г., Безюк М.М. // Український медичний часопис. - 2003. - № 6. - С. 65-69.
14. Steptoe A., Marmot M. // Eur. heart J. - 2002. - Vol. 23. - P. 13-25.

## **ХАРАКТЕРИСТИКА ПСИХОЛОГИЧЕСКИХ ОСОБЕННОСТЕЙ И АДАПТИРОВАННОСТИ К ЗАБОЛЕВАНИЮ У ПОДРОСТКОВ С ОСТЕОАРТРОЗОМ**

*И.С. Лебец<sup>1</sup>, А.В. Лягго<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины, Харьков

<sup>2</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

---

### **РЕЗЮМЕ**

Изучены психологические особенности и активность регуляторных систем у подростков с остеоартрозом, который сформировался на фоне гипермобильного синдрома (основная группа) и у пациентов с гипермобильным синдромом без признаков остеоартроза (группа сравнения). Выявлено, что в основной группе наиболее часто определяются «чистые» типы отношения к болезни преимущественно «адаптивного блока», эмоциональная нестабильность и средний уровень стресса. В группе сравнения чаще отмечались «смешанные» типы отношения к болезни и высокий уровень стресса. Показатель активности регуляторных систем не отличался между группами подростков, но при увеличении длительности остеоартроза снижался, что указывает на формирование постепенной адаптированности к заболеванию.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** остеоартроз, подростки, психологические особенности, активность регуляторных систем

## **THE CHARACTER OF PSYCHOLOGICAL FEATURES AND ADAPTABILITY TO THE DISEASE IN ADOLESCENTS WITH OSTEOARTHRISIS**

*I.S. Lebetz<sup>1</sup>, A.V. Letyago<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Institute of Children and Adolescents Health Care at AMS of Ukraine, Kharkov

<sup>2</sup>V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

---

### **SUMMARY**

Psychological features and regulatory systems activity have been studied in adolescents with OA which developed against the background of hypermobility syndrome (main group) and in patients with hypermobility syndrome without any signs of osteoarthritis (comparison group). It has been established that in the main group some "pure" types of attitude to the disease, mainly of "adaptive block", as well as emotional instability and mean level of stress are more frequent. In the comparison group "mixed" types of attitude to the disease and a high level of emotional stress are registered. The level of regulatory systems activity did not differ among the groups of adolescents but with an increase of osteoarthritis duration it decreased testifying to formation of gradual adaptability to the disease.

**KEY WORDS:** osteoarthritis, adolescents, psychological features, regulatory systems activity

УДК: 616.216.1: 616.379-008.64

## **ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФАГОЦИТАРНЫХ КЛЕТОК БОЛЬНЫХ ВЕРХНЕЧЕЛЮСТНЫМ СИНУСИТОМ, СТРАДАЮЩИХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

*Е.В. Огнивенко<sup>1</sup>, Н.Н. Попов<sup>1</sup>, Е.А. Романова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Харьковский национальный университет имени В.Н.Каразина, Украина

<sup>2</sup>Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины, Харьков, Украина

---

### **РЕЗЮМЕ**

В работе изучена фагоцитарная активность нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов у больных верхнечелюстным синуситом, страдающих сахарным диабетом. У больных хроническим верхнечелюстным синуситом, страдающих сахарным диабетом, наблюдается угнетение фагоцитарной активно-

сти нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов, нарушение процессов захвата и киллинга бактерий, депрессия оксидантной микробицидной системы и активности рецепторного аппарата.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** иммунитет, фагоциты, хронический верхнечелюстной синусит, сахарный диабет

Клинические наблюдения свидетельствуют о том, что в последнее время наблюдается устойчивая тенденция к росту числа хронических бактериальных и вирусных заболеваний ЛОР-органов, среди которых весьма значительной является доля синуситов. Для лиц с сахарным диабетом характерным является непрерывное рецидивирующее течение заболевания и малая эффективность антимикробной и симптоматической терапии [2].

В возникновении и развитии хронических риносинуситов наряду с особенностями возбудителя, его патогенными, вирулентными и инвазивными свойствами большую роль играют иммунные нарушения как системного, так и местного характера, расстройства во взаимодействии различных звеньев иммунной системы [1, 8].

Ведущая роль в элиминации инфекционных агентов из организма принадлежит клеткам с фагоцитарными свойствами, иммуноглобулинам и комплементу. Фагоциты обеспечивают поглощение и переваривание микробов, а комплемент и иммуноглобулины усиливают этот процесс [4].

Эффективная комплексная терапия хронических инфекционно-воспалительных заболеваний предусматривает применение иммунокорректирующих средств, а адресность их назначения предполагает выяснение характера расстройств в иммунной системе и степени нарушения в отдельных ее звеньях.

Учитывая вышеизложенное, целью настоящей работы явилось изучение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов у больных верхнечелюстным синуситом, страдающих сахарным диабетом.

Подобные данные в зарубежной и отечественной литературе отсутствуют.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Проведено иммунологическое обследование 30 больных хроническим гнойным верхнечелюстным синуситом в фазе обострения на фоне инсулинзависимого сахарного диабета (ИЗСД). Степень тяжести СД определялась как среднетяжелая. Контрольную группу составили 30 здоровых лиц.

По данным микробиологического исследования этиологическими факторами заболевания выступали бактериальные ассоциации, представленные грамположительными бактериями *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. ruo-*

*genes*, *S. pneumoniae*; грамотрицательными бактериями – *E. coli*, *P. aeruginosa*; анаэробами – *Peptostreptococcus*, *Bacteroides spp.*

Программа иммунологического исследования включала изучение фагоцитарной активности нейтрофилов и моноцитов, эффективности внутриклеточного киллинга бактерий, состояния кислородзависимых микробицидных систем клеток, плотности экспрессии молекул CD11b, CD16, CD35, CD14.

Лейкоциты из периферической крови выделяли на 3%-ном растворе желатина. Взвесь мононуклеарных лейкоцитов получали на градиенте плотности фиколла-верографина 1,077, нейтрофилы – на градиенте двойной плотности 1,093:1,077 [6]. Фагоцитарную активность нейтрофилов и моноцитов оценивали по их способности поглощать бактерии *S. aureus* (штамм 209) [3]. Для этого смешивали 1 мл суспензии клеток ( $10^7$ ) и 1 мл взвеси бактерий ( $10^9$ ) в растворе Хенкса. Смесь инкубировали 30 мин при температуре 37°C при постоянном помешивании. По окончании процедуры на стеклах готовили мазки, которые окрашивали по Романовскому-Гимзе. В препаратах подсчитывали 200 клеток, из них число фагоцитировавших клеток (ФЧ) и число бактерий, поглощенных одной клеткой (ФИ). Эффективность фагоцитоза опсонизированных бактерий изучали таким же способом. Опсонизацию бактерий проводили в растворе Хенкса, содержащем 20% термоактивированной сыворотки больных (ауто-сыворотки) или сыворотки здоровых доноров (пул от 3-5 доноров) в течение 30 мин при 37°C. Бактерицидную способность (БС) фагоцитов оценивали по методу S.Nielsen [9]. После 30-минутной инкубации лейкоцитов со стафилококком непоглощенные бактерии отмывали центрифугированием при 1500 об/мин в течение 10 мин. Число поглощенных, но живых стафилококков определяли после высева лизата клеток по методу Гольда на чашки Петри с мясопептонным агаром. Лизис лейкоцитов проводили путем добавления 3-кратного объема воды. Активность кислородзависимой микробицидной системы фагоцитов оценивали в спонтанном и стимулированном *S. aureus* НСТ-тесте [3]. Результаты учитывали морфологически, определяя относительное количество формазанположительных клеток.

Количество CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD35<sup>+</sup>-клеток в суспензии нейтрофилов и CD14<sup>+</sup>-клеток в суспензии мононуклеаров определяли

методом непрямой мембранной иммунофлюоресценции с использованием панели моноклональных антител («Сорбент», Москва) [5]. О плотности экспрессии на клетках молекул CD11b, CD16, CD35, CD14 судили по интенсивности флюоресценции клеток, обработанных моноклональными антителами, меченными ФИТЦ. Интенсивность свечения клеток выражали в относительных единицах. Весь диапазон флюоресценции клеток делили на 3 равные части: 0,05-0,20 отн. ед. – считали слабой, 0,21-0,40 отн. ед. - средней, 0,41-0,60 отн. ед. – сильной. В каждом образце изучали по 200 клеток. Полноценность реакции рецепторного аппарата клеток больных хроническим гнойным синуситом оценивали в сравнении с таковой клеток больных острым гнойным синуситом, протекающем без осложнений (32 человека).

Математическую обработку полученных данных проводили с использованием программы Statistica 6.0. Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали t-критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Данные в тексте приведены в виде среднего арифметического значения  $M$  и среднеквадратичного отклонения  $\sigma$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование крови больных верхнечелюстным синуситом, страдающих сахарным диабетом, показало, что заболевание протекает на фоне повышения общего количества лейкоцитов, увеличения относительного и абсолютного числа палочкоядерных и сегментоядерных форм нейтрофилов, абсолютного числа моноцитов (табл. 1).

Таблица 1

**Показатели периферической крови больных хроническим верхнечелюстным синуситом, страдающих сахарным диабетом ( $M \pm \sigma$ )**

Показатели	Здоровые лица	Больные
Лейкоциты, $\times 10^9/\text{л}$	$6,3 \pm 0,57$	$9,2 \pm 0,65^*$
Лимфоциты, %	$30,9 \pm 1,16$	$22,5 \pm 1,27^*$
абс. число/л ( $\times 10^9$ )	$1,9 \pm 0,15$	$1,9 \pm 0,18$
Нейтрофилы палочкоядерные, %	$2,5 \pm 0,10$	$6,0 \pm 0,31^*$
абс. число/л ( $\times 10^9$ )	$0,15 \pm 0,010$	$0,55 \pm 0,032^*$
Нейтрофилы сегментоядерные, %	$57,5 \pm 1,19$	$64,0 \pm 1,21^*$
абс. число/л ( $\times 10^9$ )	$3,60 \pm 0,16$	$5,89 \pm 0,16^*$
Моноциты, %	$7,1 \pm 0,18$	$6,3 \pm 0,69$
абс. число/л ( $\times 10^9$ )	$0,45 \pm 0,017$	$0,58 \pm 0,0064^*$

\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями здоровых лиц

Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных верхнечелюстным синуситом число клеток, потенциально способных к фагоцитозу, составляет 76,3%, у здоровых лиц – 67,1% от общего числа лейкоцитов. Соответственно абсолютное число клеток с фагоцитарной активностью в крови больных в 1,67 раз выше, чем у лиц контрольной группы.

Изучение фагоцитарной активности клеток показало, что поглощение бактериальных частиц и переваривающая способность нейтрофилов и моноцитов больных значительно ниже, чем у контрольной группы лиц (табл. 2). Низкая фагоцитарная способность клеток больных наблюдалась и в отношении

опсонизированных аутосывороткой бактерий. Донорская сыворотка в качестве опсонина в несколько большей степени повышала фагоцитарную активность клеток больных. При этом достоверно повышался только фагоцитарный индекс, отражающий число бактерий, захватываемых нейтрофилами и моноцитами (табл. 3).

Полученные данные свидетельствуют о том, что у пациентов с хроническим верхнечелюстным синуситом, страдающих инсулинзависимым сахарным диабетом, снижены как опсонизирующие свойства самой сыворотки, так и фагоцитарная способность клеток.

Таблица 2

**Фагоцитарная и бактерицидная активность нейтрофилов и моноцитов больных хроническим верхнечелюстным синуситом и здоровых лиц ( $M \pm \sigma$ )**

Показатели	Нейтрофилы		Моноциты	
	больные	здоровые	больные	здоровые
Фагоцитарное число (ФЧ), %	$56,1 \pm 6,2^*$	$75,6 \pm 7,2$	$54,8 \pm 6,5^*$	$76,0 \pm 7,0$
	$3,2 \pm 0,4^*$	$5,7 \pm 0,6$	$3,0 \pm 0,4^*$	$5,4 \pm 0,6$
Фагоцитарный индекс (ФИ)	$17,3 \pm 1,8^*$	$5,0 \pm 0,5$	$18,1 \pm 1,9^*$	$4,8 \pm 0,5$
	$5,0 \pm 0,5$			

\*  $p < 0,05$  по сравнению с показателями здоровых лиц

Таблица 3

**Фагоцитарная активность нейтрофилов и моноцитов больных и здоровых доноров  
в отношении опсонизированных бактерий (M±σ)**

Показатели		Сыворотка здо- ровых доноров	Повышение фагоцитоза, %	Сыворотка больных	Повышение фагоцитоза, %
		<i>Нейтрофилы</i>			
Фагоцитарное число (ФЧ), %	больные	64,7±7,2*	115,3	58,8±6,7	104,8
	здоровые	91,5±8,3*	121	81,9±6,78	108,3
Фагоцитарный индекс (ФИ)	больные	5,3±0,6*	165,6	3,2±0,3	0
	здоровые	9,6±0,6*	168,4	6,2±0,6	108,7
<i>Моноциты</i>					
Фагоцитарное число (ФЧ), %	больные	61,9±7,1	112,9	58,1±6,5	106,0
	здоровые	90,3±8,1	118,8	82,5±7,7	108,5
Фагоцитарный индекс (ФИ)	больные	5,0±0,5*	166,6	3,1±0,3	103,3
	здоровые	8,7±0,6*	161,1	6,0±0,5	111,1

\* p<0,05 по сравнению с показателями фагоцитоза неопсонизированных бактерий в соответствующей группе обследованных

Исследование клеток в НСТ-тесте показало, что активность кислородзависимой микробицидной системы фагоцитов больных хроническими синуситами достоверно ниже, чем лиц контрольной группы. У больных показатель индуцированного НСТ-теста составлял 22,7±2,16%, у здоровых лиц – 28,1±2,05% (p<0,05).

Учитывая, что фагоцитарная способность нейтрофилов и моноцитов находится в прямой зависимости от состояния их рецепторного аппарата, нами была исследована экспрессия основных молекул, ответственных за этот процесс. Молекула CD14 является специфическим маркером макрофагов, участвует в активации клеток, связывании

бактерий и их фагоцитозе. CD11b/CD18 принимает участие в хемотаксисе и фагоцитозе, индукции респираторного взрыва, адгезии гранулоцитов и макрофагов к сосудистой стенке. CD16 является субъединицей низкоаффинного Fc-рецептора фагоцитов, участвует в фагоцитозе Ig-опсонизированных микробов. CD35 – рецептор для C4b и C3b, участвует в адгезии клеток и фагоцитозе опсонизированных частиц.

Было показано, что у больных хроническим синуситом наблюдается повышение числа клеток, экспрессирующих эти молекулы, по сравнению с группой здоровых лиц (табл. 4).

Таблица 4

**Содержание CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD35<sup>+</sup> нейтрофильных гранулоцитов и CD14<sup>+</sup>-клеток среди лейкоцитов периферической крови больных верхнечелюстным синуситом (M±σ)**

Показатели	Здоровые лица	Больные острой формой	Больные хронической формой
Нейтрофилы, %	60,0±1,20	73,4±1,8*	70,0±1,22*
CD11b <sup>+</sup> -клетки, %	26,8±3,18	47,1±5,3*	38,7±4,8*
CD16 <sup>+</sup> -клетки, %	32,5±3,83	54,8±6,0*	45,9±5,3*
CD35 <sup>+</sup> -клетки, %	28,9±3,15	43,7±5,9*	38,7±5,1*
CD14 <sup>+</sup> -клетки, %	6,1±0,7	5,9±0,2	5,8±0,2
Моноциты, %	7,1±0,18	7,0±0,18	6,3±0,69

\* p<0,05 по сравнению с показателями здоровых лиц

Сравнение полученных данных с показателями больных острым верхнечелюстным синуситом демонстрирует, что количество клеток, экспрессирующих CD14, CD16, CD11b, CD35, и плотность их экспрессии на клетках значительно ниже у больных хроническим верхнечелюстным синуситом (рис. 1, 2).

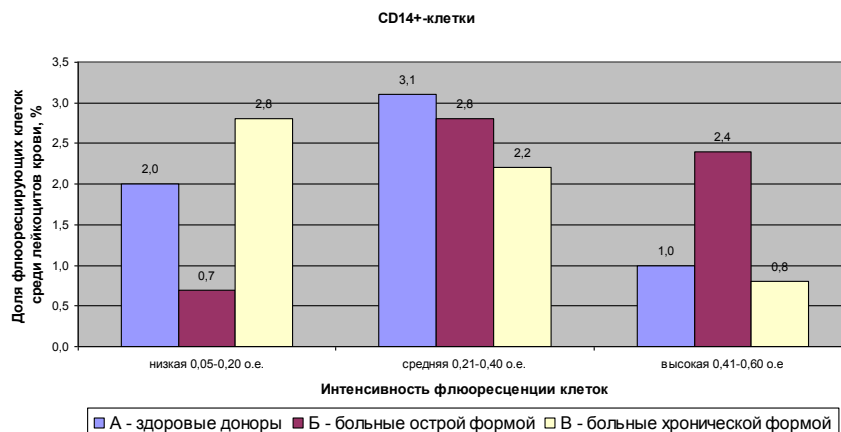
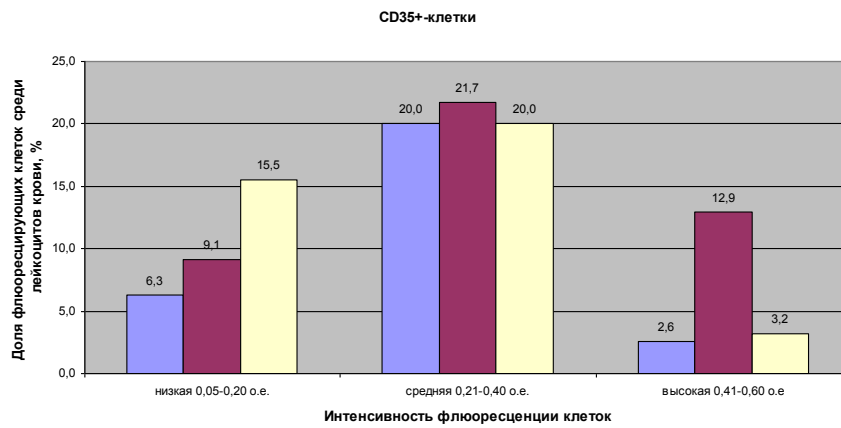
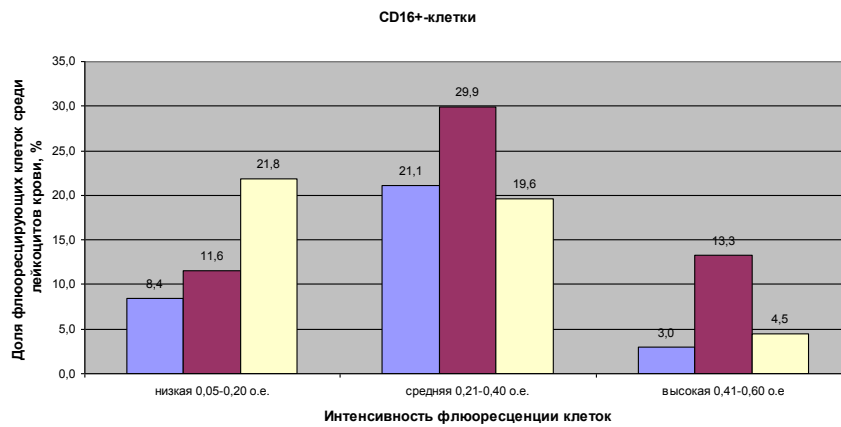
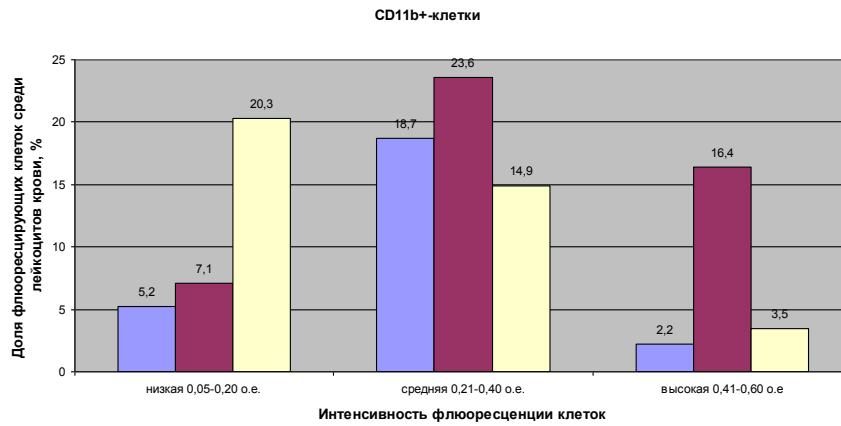
Результаты теста иммунофлюоресценции свидетельствуют о том, что у больных хронической формой заболевания практически отсутствуют клетки с высокой степенью флюоресценции, а увеличение доли флюоресцирующих клеток главным образом происходит за счет слабофлюоресцирующих клеток. У больных острой формой заболевания это происходит за счет существенного

повышения доли средне- и сильнофлюоресцирующих.

Полученные данные свидетельствуют о том, что у больных хроническим верхнечелюстным синуситом, страдающих сахарным диабетом, наблюдается угнетение фагоцитарной активности нейтрофильных гранулоцитов и моноцитов, нарушение процессов захвата и киллинга бактерий, депрессия оксидантной микробицидной системы и активности рецепторного аппарата.

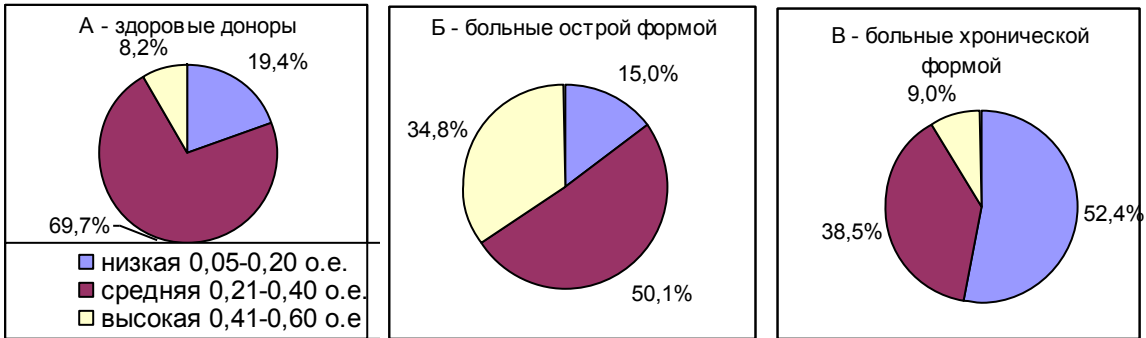
Выявленные нарушения в фагоцитарных клетках, по-видимому, являются следствием изменений их метаболизма и структурно-функциональных перестроек их мембран. У больных сахарным диабетом, как известно, страдают все виды обменных процессов и

адаптационно-регуляторные механизмы.

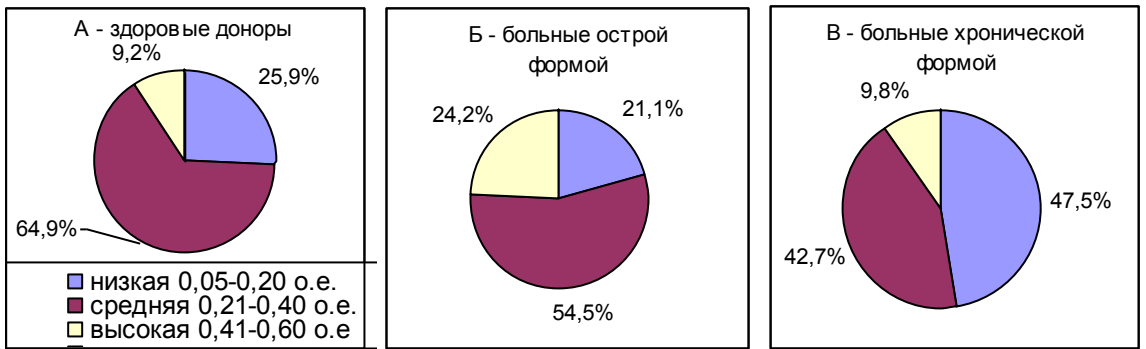


**Рис. 1.** Интенсивность флюоресценции клеток, обработанных моноклональными антителами анти- CD11b, CD16, CD35, CD14, меченными ФИТЦ

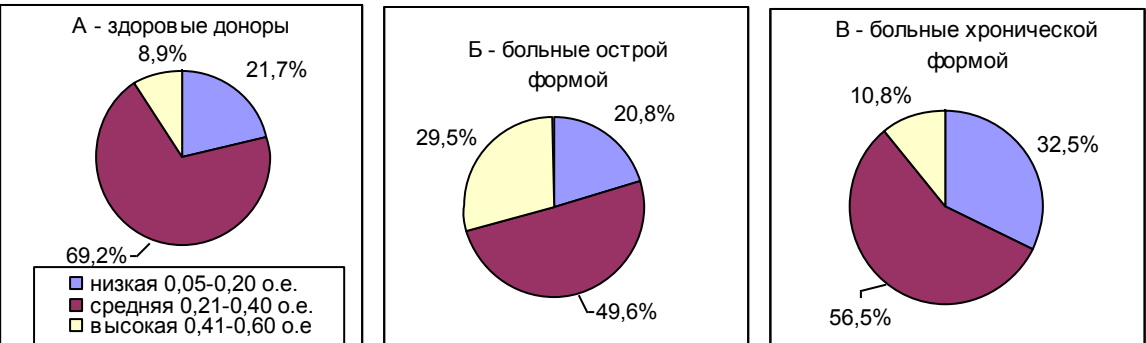
**CD11b<sup>+</sup>-клетки**



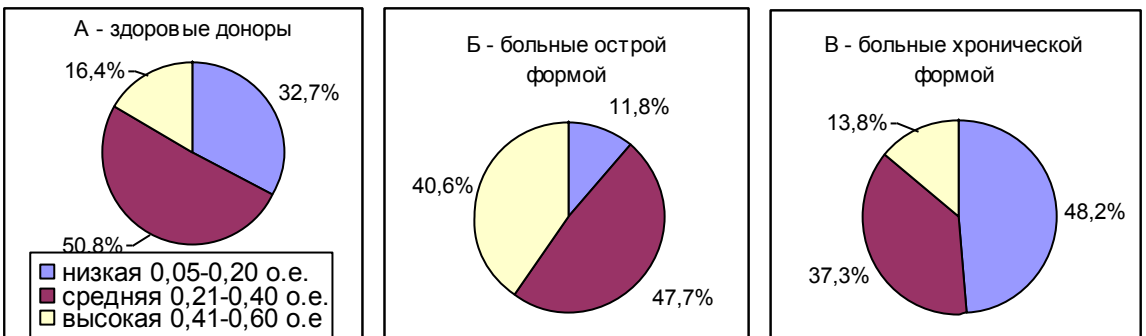
**CD16<sup>+</sup>-клетки**



**CD35<sup>+</sup>-клетки**



**CD14<sup>+</sup>-клетки**



**Рис. 2.** Распределение клеток по интенсивности флюоресценции среди CD11b<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>, CD35<sup>+</sup> и CD14<sup>+</sup>-клеток

## ВЫВОДЫ

1. ХГВС на фоне СД сопровождается повышением общего количества лейкоцитов, увеличения относительного и абсолютного числа палочкоядерных и сегментоядерных форм нейтрофилов, абсолютного числа моноцитов.
2. Отмечается низкая фагоцитарная активность клеток больных ХГВС, страдающих СД.
3. У больных ХВС на фоне СД наблюдается

повышение числа клеток, экспрессирующих CD14, CD16, CD11b, CD35, по сравнению с группой здоровых лиц.

4. У больных ХГВС, страдающих СД увеличено количество слабофлюоресцирующих клеток и практически отсутствуют клетки с высокой степенью флюоресценции.

Представляется важным выяснение характера этих изменений, что позволит предложить адекватную терапию больных ХГВС, страдающих СД.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Заболотный Д.И., Мельников О.Ф., Тимченко М.Д., и др. // Журн. вушних, носових і горлових хвороб. - 2003. - № 5. - С. 165.
2. Балаболкин М.И. // Проблемы эндокринологии. - 1997.- Т.43. - № 6. - С. 3-9.
3. Пастер Е.У., Овод В.В., Позур В.К., и др. «Иммунология: Практикум». -К.:Выща школа. - 1989. - 280 с.
4. Попов М.М., Циганенко А.Я., Мінухін В.В. Основи імунології: Підручник. -Харків:Основа. - 2005. - 276 с.
5. Штерх В., Эммрих И. Определение клеточных маркеров методом мембранной иммунофлюоресценции. Иммунологические методы. / Под ред. Г. Фримеля. -М.:Медицина. - 1987. 254 с.
6. Эккерт Р. Разделение клеток иммунной системы. Иммунологические методы / Под ред. Г. Фримеля. -М.:Медицина. - 1987. - 244 с.
7. Заболотный Д.И., Луценко В.І., Розкладка А.І. - Ринологія. - 2003. - № 2. - С. 26-29.
8. Nielsen S.L., Blak F.T., Storgaard V. et al // APMIS. - 1995. - № 103. - P. 460-468.

## ФУНКЦІОНАЛЬНА АКТИВНІСТЬ ФАГОЦИТАРНИХ КЛІТИН ХВОРИХ ВЕРХНЬОЩЕЛЕПНИМ СИНУСИТОМ, ЩО СТРАЖДАЮТЬ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ

*О.В. Огнівенко<sup>1</sup>, М.М. Попов<sup>1</sup>, О.О. Романова<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

<sup>2</sup>Інститут мікробіології і імунології імені І.І. Мечникова АМН України, м. Харків, Україна

## РЕЗЮМЕ

У роботі вивчена фагоцитарна активність нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів у хворих верхньощелепним синуситом, що страждають на цукровий діабет. У хворих хронічним верхньощелепним синуситом, що страждають на цукровий діабет, спостерігається гноблення фагоцитарної активності нейтрофільних гранулоцитів і моноцитів, порушення процесів захоплення та килінга бактерій, депресія оксидазної мікробіцидної системи й активності рецепторного апарата.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** імунітет, фагоцити, хронічний верхньощелепний синусит, цукровий діабет

## FUNCTIONAL ACTIVITY OF THE PHAGOCYTES AT PATIENTS WITH MAXILLARY SINUSITIS SUFFERING FROM DIABETES

*E.V. Ognivenko<sup>1</sup>, N.N. Popov<sup>1</sup>, E.A. Romanova<sup>2</sup>*

<sup>1</sup>V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

<sup>2</sup>I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the Academy of Medical Science of Ukraine, Kharkiv

## SUMMARY

Phagocyte activity of the neutrophilic granulocytes at patients with maxillary sinusitis suffering from diabetes have been investigated. The following phenomena are observed at patients with chronic purulent maxillary sinusitis suffering from insular diabetes: depression of phagocyte activity of neutrophilic granulocytes and monocytes; disturbance of the process of bacteria capture and killing; depression of oxidase microbicidal system and activity of the receptor system.

**KEY WORDS:** immunity, phagocytes, chronic maxillary sinusitis, insular diabetes

УДК: 615.015.8:579.862.1:616-078(048.8)

## **АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ЭНТЕРОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ СОДЕРЖИМОГО ТРОФИЧЕСКИХ ЯЗВ БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ**

*Е.Г. Перетятко*

Институт микробиологии и иммунологии имени И.И. Мечникова АМН Украины, Харьков

### **РЕЗЮМЕ**

В работе приведены результаты изучения адгезивных свойств микроорганизмов рода *Enterococcus*, выделенных из трофических язв больных сахарным диабетом, в сравнении с кишечными штаммами энтерококков. Установлено, что энтерококки характеризуются высокоадгезивными свойствами. Показано, что степень выраженности адгезивных способностей взятых в опыт микроорганизмов зависела от наличия гнойно-септического процесса.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** энтерококки, адгезивные свойства, трофические язвы

Известно, что одним из факторов реализации колонизационной резистентности кишечника является адгезия представителей индигенной микрофлоры [1]. Обладая мощным адгезивным потенциалом, представители нормофлоры, колонизируя эконизи естественного обитания, препятствуют адгезии патогенных микроорганизмов. Однако при дисбиотических нарушениях микробиоценозного гомеостаза происходит чаще всего увеличение численности представителей аэробной части микрофлоры и усиление агрессивного потенциала этих бактерий, что способствует преодолению ими барьера приэпителиального слоя кишечника и транслокацию во внутреннюю среду организма. В этом случае адгезивные свойства бактерий выступают в роли фактора патогенности. Наибольшее значение из аэробной части нормофлоры имеют *Escherichia coli* и микроорганизмы рода *Enterococcus*, которые все чаще являются этиологическим фактором возникновения гнойно-септических и нозокомиальных инфекций. Подтверждены данные о тропности энтерококков к клеткам эндокарда, что является основой для инвазии и развития инфекционного эндокардита. Описана способность энтерококков инфицировать мягкие ткани и брюшную полость [2].

Работа выполнена в рамках научной программы института микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины «Усовершенствование диагностических методов в микробиологии».

Анализ последних исследований и публикаций. В течение многих лет энтерококки рассматривали как клинически малозначимые микроорганизмы. Известно, что оценить патогенетическую значимость условно-патогенной микрофлоры, относящейся к представителям нормальной микрофлоры человека, но выделенной из клинического мате-

риала, представляет определенные трудности. В литературе последних лет появились публикации о пересмотре оценки патогенетической роли энтерококков, об изучении факторов патогенности и вирулентности. В качестве потенциальных факторов вирулентности рассматривают факторы агрегации, ферромоны, цитолизины, адгезины. Установлено, что количество выявляемых детерминант вирулентности выше у штаммов, выделенных из клинического материала [2-4].

В связи с вышеизложенным целью нашей работы было изучение адгезивных свойств энтерококков, выделенных из содержимого трофических язв больных сахарным диабетом.

### **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Для достижения поставленной цели было обследовано 75 больных с диагнозом: сахарный диабет, синдром диабетической стопы. Среди обследованных – 40 мужчин и 35 женщин, средний возраст которых составил 60±1,5 лет. Пациенты находились на стационарном лечении в отделении диабетической стопы городской клинической больницы № 2 г. Харькова.

Материал для исследования – содержимое трофических язв, отбирался до назначения антибиотикотерапии. У больных, из трофической язвы которых выделялся энтерококк, брали материал из содержимого толстого кишечника. Выделение чистой культуры энтерококков проводили общепринятыми методами [4]. Штаммы идентифицировали по комплексу морфологических, культуральных и физиолого-биохимических свойств (Bergey's, 1997). Для биохимической идентификации энтерококков использовали набор EN-COCCUStest (Lachema, Чехия).

Адгезивную способность энтерококков



изучали согласно методике В.И.Брилиса. Смесь формализированных эритроцитов человека 0(I) группы крови Rh+ и одномиллиардной суспензии микроорганизма инкубировали при 37° С в течении 30 минут, регулярно встряхивая смесь. После этого готовили мазок, высушивали, фиксировали и окрашивали по Романовского-Гимза. Изучение адгезии проводили под световым микроскопом, подсчет вели на 50 эритроцитах, учитывая не более 5 эритроцитов в одном поле зрения. При оценке адгезивных свойств использовали показатели СПА (средний показатель адгезии), К (коэффициент адгезии), ИАМ (индекс адгезивности микроорганизмов). Первая характеристика отображает среднее количество микробных клеток прикрепленных к одному эритроциту, вторая – количество эритроцитов из 100, принимавших участие в адгезии, третья – отношение среднего количества микробных клеток расположенных на одном эритроците к величине коэффициента адгезии в пересчете на 100. Микроорганизмы считают неадгезивными при ИАМ≤1,75; низкоадгезивными – от 1,76 до 2,5; среднеадгезивными – от 2,51 до 4,0 и высокоадгезивными – ≥4,0 [5].

Обработка полученных результатов проведена методами вариационной статистики при помощи компьютерных программ Microsoft Excel 2000 и пакета прикладных про-

грамм для обработки медико-биологической информации «Biostat-4» с определением основных статистических показателей ряда (M, m). Достоверность различий между показателями определяли с использованием критерия (t) Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе проведенных исследований было установлено, что у 31(41,3±5,7%) больного сахарным диабетом из трофических язв были выделены микроорганизмы рода *Enterococcus*. При этом среди выделенных энтерококков 24(77,4±7,5%) штамма принадлежали виду *E. faecalis*, 1(3,2±3,1%) – *E. faecium*, остальные 6(19,3±7,0%) – *E.spp*.

Для сравнения адгезивных свойств энтерококков, выделенных из трофических язв с энтерококками, изолированными из экологической ниши их естественного обитания, у 24 больных был взят материал из толстого кишечника. Энтерококки, выделенные из толстого кишечника, идентифицированы следующим образом: 10(41,6±10,06%) отнесены к виду *E. faecalis*, 9(37,5±9,8%) – *E. faecium*, 1(4,17±10,06%) – *E.durans*, остальные 4(16,6±7,6%) – *E.spp*.

Показатели адгезии энтерококков представлены в таблице.

Таблица

**Показатели адгезии энтерококков, выделенных у больных сахарным диабетом с синдромом диабетической стопы (M±m)**

Показатели адгезии	Энтерококки, выделенные:	
	из толстого кишечника (n=24)	из содержимого трофических язв (n=31)
СПА	5,04±0,46	7,84 ±0,66
К(%)	71,17±3,06	77,35±3,20
ИАМ	6,77±0,40	10,22**±0,75

\*- различия показателей статистически достоверны, (p<0,01).

\*\* - различия показателей статистически достоверны, (p<0,001).

Анализ проведенных исследований по изучению адгезивных способностей энтерококков, выделенных из толстого кишечника показал, что большинство штаммов обладали высокоадгезивными свойствами. Так, среднее значение ИАМ составило 6,77±0,40, при этом среднее количество участвующих в адгезивном процессе эритроцитов было 71,17±3,06 (табл.). Полученные нами данные совпадают с результатами аналогичных исследований других авторов [1, 4]. Однако в доступной нам литературе не описаны адгезивные свойства у представителей разных видов рода *Enterococcus*.

Нами было установлено, что из 24 взятых в опыт штаммов *E.spp*. – 22(91,6±5,6%) обладали высокоадгезивными свойствами. При этом 11(50,0±10,6%) штаммов относились к *E. faecalis*, 7(31,8±9,9%) – *E. faecium*, 1(4,5±4,4%) – *E. durans*, остальные 3(13,6±7,3%) –

*E.spp*. Также следует отметить, что 1(4,2±4,1%) штамм, относящийся к *E.spp*., характеризовался среднеадгезивными свойствами, 1(4,2±4,1%) – *E. faecium* – низкими адгезивными свойствами. Таким образом, можно предположить, что адгезивные свойства энтерококков не зависят от видовой принадлежности. Однако для подтверждения этого предположения следует продолжить исследования в данном направлении.

Известно, что процесс адгезии индигенной микрофлоры является одной из основных стадий формирования проэпителиального слоя биопленки кишечника, обеспечивая стабильное заселение макроорганизма нормальной микрофлорой, создающей экологический барьер для инфекционных агентов [7, 8]. При этом большое значение имеют адгезивные свойства микроорганизмов, относящихся к представителям нормофлоры [1].

Выявленная нами в ходе исследований способность энтерококков, выделенных из кита, что микроорганизмы, относящиеся к роду *Enterococcus*, являются одним из важных компонентов индигенной микрофлоры человека. Однако способность энтерококков к адгезии создает условия для последующей инвазии в ткани хозяина. Так, из естественных для них ниш обитания энтерококки через неповрежденный эпителий проникают в фагоциты регионарных лимфоузлов, где пролиферируют и затем гематогенно разносятся во внутренние органы [1, 2]. До настоящего времени остается спорным вопрос об этиологической роли энтерококков в возникновении трофических язв у больных сахарным диабетом и изучение адгезивных свойств на наш взгляд, будет способствовать пересмотру оценки клинической роли энтерококков. В доступной нам литературе мы не нашли публикаций по этому вопросу.

Анализируя данные, полученные при изучении адгезивных свойств энтерококков, изолированных из трофических язв, было установлено, что все штаммы обладали высокоадгезивными свойствами (табл.). Сравнительный анализ показал, что культуры, выделенные из содержимого трофических язв, обладали большей адгезивной активностью по сравнению с культурами, выделенными из толстого кишечника. Так, среднее значение показателя ИАМ у штаммов из трофических язв превышало аналогичный показатель штаммов, выделенных из кишечника в 1,5 раза ( $p < 0,001$ ). При этом среднее количество эритроцитов, участвующих в процессе адгезии достоверно не отличалось ( $p > 0,05$ ).

Таким образом, можно сделать вывод, что степень выраженности адгезивных свойств у изученных штаммов находится в прямой зависимости от наличия гнойно-воспалительного процесса.

В то же время следует отметить, что при попарном сравнении адгезивных свойств штаммов, выделенных из кишечника и трофической язвы у одного и того же больного, установлено, что в 15 (62,5±9,8%) случаях ИАМ штаммов, изолированных из язв, превышал этот же показатель у штаммов, выделенных из кишечника в 1,5 раза, а в 3 (12,5±6,7%) случаях – более чем в 3,5 раза ( $p < 0,01$ ).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Янковский Д.С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления. -К.:«Эксперт ЛТД». - 2005. - 361 с.
2. Бухарин О.В., Билимова С.И., Чертков К.Л. / ЖМЭИ. - 2002. - № 3. - С.100-106.
3. Колоджиева В.В. Эпидемиологические особенности гнойно – септических инфекций, вызванных энтерококками и стрептококками группы В у пациентов гинекологического стационара и женской консультации. -Санкт –Петербург. - 2006. - 23 с.
4. Eaton T.J., Gasson M.J. // Appl Envir Microbiol. - 2001. - № 67. - P. 1628-1635.

щечника, активно прикрепляться к поверхности эукариотических клеток, доказывает что может свидетельствовать о клинической значимости выделяемых из язв энтерококков. В 6(21,0±8,8%) случаях показатели ИАМ достоверно не изменились, что позволяет нам предположить контаминацию энтерококками трофических язв. Последние утверждения требуют дальнейшего изучения не только адгезивных свойств, но и других персистентных характеристик выделенных энтерококков.

## ВЫВОДЫ

1. Микроорганизмы рода *Enterococcus* характеризуются высокими адгезивными свойствами, которые не сопряжены с видовой принадлежностью, но зависят от наличия гнойно-воспалительного процесса.
2. Энтерококки, выделенные из трофических язв, обладают большей способностью к адгезивному процессу, чем энтерококки, выделенные из кишечника.
3. Более выраженная экспрессия адгезивных свойств энтерококков, выделенных из трофических язв, по сравнению с кишечными штаммами, свидетельствует в пользу утверждения некоторых ученых об отнесении персистенции энтерококков к факторам патогенности.

Перспективы дальнейших исследований. Данные о роли энтерококков в патологии человека крайне ограничены и иногда противоречивы как в целом при гнойно-септических инфекциях, так и при раневых инфекциях кожи и мягких тканей (пролежни и диабетические язвы), в частности. Нет единого мнения о клиническом значении энтерококков при раневых инфекциях кожи и мягких тканей (пролежни и диабетические язвы). Есть предположение свидетельствующее о том, что энтерококк оказывает провоспалительный эффект лишь на начальных стадиях развития раневой инфекции, а на дальнейшее течение процесса не влияет. Для решения вопроса патогенетической значимости энтерококков выделенных из трофических язв больных сахарным диабетом с синдромом диабетической стопы необходимо продолжить исследования по изучению и других факторов патогенности.

5. Методические рекомендации по выделению и идентификации энтерококков МЗ СССР № 2500-81 от 4.12.81г.—Иваново. - 1982. - 19 с.
6. Брилис В.И., Брилене Т.А., Ленцнер Х.П., и др. // Лабораторное дело. - 1986. - № 4. - С. 210-212.
7. Брилис В.И., Брилене Т.А., Левков Л.А. и др. // Антибиотики и химиотер. - 1986.- № 5.- С.353- 357.
8. Маянский А.Н., Воробьева О.Н., Малышева Э.Ф. и др. // Журн. Микробиол. - 2002. - № . - С.18-20.

## **АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ЕНТЕРОКОКІВ, ЯКІ ВИЛУЧЕНІ ЗІ ЗМІСТУ ТРОФІЧНИХ ВИРАЗОК ХВОРИХ НА ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ**

*О.Г. Перетятко*

Інститут мікробіології та імунології імені І.І. Мечникова АМН України, Харків

---

### **РЕЗЮМЕ**

В роботі наведені результати вивчення адгезивних властивостей мікроорганізмів роду *Enterococcus*, вилучених з трофічних виразок хворих на цукровий діабет, в порівнянні з кишковими штамами ентерококів. Встановлено, що ентерококи характеризуються високоадгезивними властивостями. Показано, що ступень вираженості адгезивних здібностей взятих в дослід мікроорганізмів залежала від наявності гнійно-септичного процесу.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** ентерококи, адгезивні властивості, трофічні виразки

## **THE ADHESIVE PROPERTY OF ENTEROCOCCUS WHICH WERE ISOLATED FROM TROPHIC ULCER CONTENTS OF PANCREATIC DIABETES PATIENTS**

*E.G. Peretyatko*

I.I. Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of AMS of Ukraine, Kharkov

---

### **SUMMARY**

Results of study of *Enterococcus* stem microorganisms which were isolated from trophic ulcers of pancreatic diabetes patients adhesive properties in comparison with intestinal strain of enterococcus are produced in the paper. It was established that enterococcus defined high-adhesive properties. It was achieved that range of evidence of adhesive abilities of microorganisms taken in the experiment depended on availability of purulent septic process.

**KEY WORDS:** enterococcus, adhesive properties, trophic ulcers

УДК: 616.21: 616-078

## **МИКРОФЛОРА НАДГОРТАННИКА БОЛЬНЫХ КАТАРАЛЬНОЙ И НЕКРОТИЧЕСКОЙ ФОРМАМИ ЭПИГЛОТТИТА**

*Н.Н. Попов, А.В. Савченко, И.П. Высеканцев*

Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

---

### **РЕЗЮМЕ**

Мікробіологічне обстеження 100 пацієнтів з острым епіглоттитом показало, що мікробна флора надгортанника представлена більшим количеством патогенних і условно-патогенних бактерій, относящихся к разным таксонам, а также грибами рода *Candida*. У больних некротической формой мікрофлора чаще представлена микобактериальними асоціаціями, чем у больних катаральной формой захворювання, а также асоціаціями состоящими из трех и более видов мікроорганізмів. У пацієнтів с некрозом надгортанника степень его обсемененности значительно выше, чем у больних с катаральным воспалением.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** острый епіглоттит, мікрофлора

Острые инфекционно-воспалительные процессы ЛОР-органов, в том числе острые епіглоттиты, в настоящее время сохраняют высокий удельный вес среди патологии человека. Ранее данная нозология считалась характерной для детского возраста. В последнее

время эпиглоттит все чаще встречается у взрослых. Частота заболеваемости эпиглоттитом у взрослых в США в год в среднем детского населения (0-4 года) и 3,2% на 100.000 в возрасте старше 4-х лет [1]. Статистических данных по Украине нет. Пик заболеваемости наблюдается в возрастной группе 20-40 лет (США). В Швеции пик заболеваемости приходится на 5 декаду жизни. В педиатрической популяции в США чаще встречается в возрасте 3-7 лет. Фактор сезонности, по данным доступной нам литературы, не определяется, а курение является фактором риска. Смертность у взрослых от данного заболевания составляет 1,2-7,1% [1]. В Японии смертность от эпиглоттита достигает 1,3% [2]. Ряд вопросов, касающихся патогенеза этой группы заболеваний, остается открытым. В частности, практически не изучена этиология острых эпиглоттитов. В литературе имеется лишь несколько разрозненных сообщений, посвященных этой проблеме. По данным ретроспективного анализа, выполненного в клинике Rhode Island, у больных эпиглоттитом с высокой частотой высеваются из крови *Haemophilus influenzae* [3]. В другой работе показано, что из 45 пациентов Toronto Hospital experience с диагнозом эпиглоттит, у 8,9% из крови высеивается *Haemophilus influenzae*, у 22% из гортани выделялась условно-патогенная микрофлора, которая встречается при других заболеваниях ЛОР-органов [4]. В исследованиях, проведенных в университетском госпитале г. Берна (Швейцария), установлено, что у детей возбудителем эпиглоттита чаще всего является *Haemophilus influenzae* типа В [5]. Изучение сывороток больных эпиглоттитами выявило антитела к капсульному антигену *Haemophilus influenzae* В, антигенам *S. pneumoniae* и стрептолизину О [6]. По данным проспективного исследования департамента оториноларингологии и хирургии головы и шеи госпиталя университета Катманду, Непал наиболее частым возбудителем острого эпиглоттита у пациентов был *Haemophilus influenzae* тип В, встречались также другие патогены – *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, другие стрептококки, *H. parainfluenzae* [7]. Musharrafteh и др. при поражении слизистой гортани и надгортанника в крови больных выявляли Ig М к Herpes simplex virus [8]. На Украине подобные исследования не проводились.

Учитывая вышеприведенное, целью настоящей работы явилось исследование микрофлоры слизистой надгортанника у взрослых пациентов с острым эпиглоттитом и чувствительности выделенных изолятов к антимикробным препаратам.

составляет 0,97-1,8 на 100.000, что в 2,5 раза чаще, чем у детей. В Швеции в 1987- 1989гг. частота заболеваемости 14,7% на 100.000

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находились 100 взрослых пациентов с острым эпиглоттитом. Средний возраст составлял 38 лет (16-60 лет). Катаральное воспаление наблюдалось у 65 пациентов – первая группа больных, абсцесс надгортанника – у 31 – вторая группа больных. Контрольную группу составили 30 здоровых лиц той же возрастной категории.

Микробиологическое исследование мазков со слизистой оболочки надгортанника проводилось по общепринятой технологии: посев на твердые и в жидкие питательные среды с последующим выделением изолятов и их микроскопической, биохимической и серологической идентификацией. Идентификацию изолятов проводили в соответствии с положениями приказа МЗ СССР №535 и согласно таксономическим тестам определения бактерий Берджи [9, 10, 11]. Технологии методов исследования описаны в работах [12, 13, 14].

Статистическую обработку данных проводили, используя пакет прикладных программ Statgraphics. Для выявления значимых различий сравниваемых показателей использовали *t* – критерий Стьюдента. Различия считали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Данные приведены в виде среднего арифметического значения *M* и среднеквадратичного отклонения  $\sigma$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение биоценоза гортаноглотки пациентов с острым эпиглоттитом показало, что при катаральной форме воспалительного процесса выделенные микроорганизмы представлены у 12,3% больных (8 человек) монофлорой, у 87,6% пациентов (57 человек) – бактериальными и микобактериальными ассоциациями (табл. 1). При абсцессе надгортанника микрофлора была исключительно представлена бактериальными и микобактериальными ассоциациями (табл. 2), и чаще включала 3 и более видов микроорганизмов. При катаральной форме заболевания микрофлора состоящая из 3 и более организмов встречалась у 23,0% (15) больных, при некрозе надгортанника – в 40,0% случаев (14 больных). Обращает внимание то, что у больных некрозом надгортанника грибы рода *Candida* присутствовали чаще, чем у больных катаральной формой. В 1 группе грибы высевались у 20,0% пациентов (13 человек), во второй – 34,2% (12 человек).

Результаты данного раздела исследования показывают, что микрофлора слизистой надгортанника у взрослых пациентов с ост-

рым эпиглоттитом представлена большим количеством патогенных и условнопатогенных бактерий, относящихся к разным таксонам, а также грибами рода *Candida*. 73% выде-

ленных изолятов обладали способностью к  $\beta$ - и  $\alpha$ -гемолизу.

Таблица 1

**Микрофлора слизистой надгортанника пациентов с катаральной формой острого эпиглоттита (n, %, M $\pm$ m)**

Микроорганизмы	Абсолютное количество больных, у которых высевалась микрофлора	Относительное количество больных, у которых высевалась микрофлора, %	Степень инфицирования слизистой оболочки надгортанника, КОЕ/мл
<b>МОНОФЛОРА</b>			
<i>S. pneumoniae</i>	2	3,0	$8 \times 10^6 / 1 \times 10^7$
<i>C. Albicans</i>		1,5	$6 \times 10^6$
<i>S. epidermidis</i>		1,5	$8 \times 10^6$
<i>E. faecalis</i>		1,5	$1 \times 10^7$
<i>S. haemolyticus</i>		1,5	$1 \times 10^7$
<i>M. catarrhalis</i>		1,5	$2 \times 10^7$
<i>S. aureus</i>		1,5	$3 \times 10^6$
<b>АССОЦИАЦИИ</b>			
<i>E. faecalis</i> + <i>S. pneumoniae</i>	3	4,5	$(2,6 \pm 1,1) \times 10^7 + (4,1 \pm 2,2) \times 10^6$
<i>E. faecalis</i> + <i>S. aureus</i>	3	4,5	$(3,2 \pm 1,3) \times 10^7 + (6,5 \pm 3,7) \times 10^6$
<i>E. faecalis</i> + <i>S. epidermidis</i>	3	4,5	$(1,4 \pm 0,8) \times 10^7 + (2,8 \pm 1,5) \times 10^6$
<i>E. faecalis</i> + <i>S. pyogenes</i>	3	4,5	$(8,7 \pm 4,5) \times 10^6 + (3,5 \pm 1,7) \times 10^7$
<i>E. faecalis</i> + <i>S. haemolyticus</i>	3	4,5	$(7,3 \pm 4,6) \times 10^6 + (4,4 \pm 2,3) \times 10^7$
<i>E. faecalis</i> + <i>C albicans</i>	3	4,5	$(6,5 \pm 4,1) \times 10^6 + (3,1 \pm 1,8) \times 10^6$
<i>S. pyogenes</i> + <i>M. catarrhalis</i>	3	4,5	$(3,3 \pm 1,8) \times 10^7 + (4,8 \pm 2,5) \times 10^6$
<i>S. pyogenes</i> + <i>S. haemolyticus</i>	3	4,5	$(1,7 \pm 0,7) \times 10^7 + (5,8 \pm 3,0) \times 10^6$
<i>S. pyogenes</i> + <i>C albicans</i>	4	6,0	$(2,3 \pm 1,4) \times 10^7 + (3,4 \pm 1,9) \times 10^6$
<i>S. epidermidis</i> + <i>S. pneumoniae</i>	3	4,5	$(3,4 \pm 2,0) \times 10^7 + (4,1 \pm 2,3) \times 10^6$
<i>S. epidermidis</i> + <i>S. pyogenes</i>	3	4,5	$(7,9 \pm 4,1) \times 10^6 + (1,5 \pm 1,0) \times 10^7$
<i>H. influenzae</i> + <i>S. epidermidis</i>	3	4,5	$(5,4 \pm 3,1) \times 10^7 + (3,2 \pm 2,0) \times 10^6$
<i>H. influenzae</i> + <i>B. subtilis</i>	3	4,5	$(4,7 \pm 2,9) \times 10^7 + (6,9 \pm 4,0) \times 10^5$
<i>S. aureus</i> + <i>C. albicans</i>	3	4,5	$(3,9 \pm 2,1) \times 10^7 + (3,2 \pm 2,0) \times 10^6$
<i>S. anginosus</i> + <i>S. haemolyticus</i> + <i>A. calcoaceticus</i>	2	3,0	$2 \times 10^7 + 3 \times 10^6 + 6 \times 10^6 / 4 \times 10^7 + 2 \times 10^7 + 4 \times 10^6$
<i>S. pyogenes</i> + <i>M. catarrhalis</i> + <i>N. cissa</i>	3	4,5	$(2,4 \pm 1,5) \times 10^7 + (3,2 \pm 1,9) \times 10^6 + (1,7 \pm 1,0) \times 10^7$
<i>K. pneumoiniae</i> + <i>S. haemolyticus</i> + <i>M. catarrhalis</i>	1	1,5	$3 \times 10^7 + 5 \times 10^7 + 1 \times 10^7$
<i>E. coli</i> + <i>E. aerogenes</i> + <i>S. haemolyticus</i> + <i>N. cissa</i>	3	4,5	$(2,8 \pm 1,8) \times 10^7 + (1,6 \pm 0,9) \times 10^7 + (2,7 \pm 1,6) \times 10^6 + (2,1 \pm 1,5) \times 10^6$
<i>S. viridans</i> + <i>B. subtilis</i> + <i>S. haemolyticus</i>	2	3,0	$2 \times 10^7 + 4 \times 10^7 + 6 \times 10^4 / 5 \times 10^7 + 3 \times 10^7 + 5 \times 10^4$
<i>S. aureus</i> + <i>S. pneumoniae</i> + <i>C albicans</i>	2	3,0	$4 \times 10^6 + 4 \times 10^7 + 3 \times 10^6 / 8 \times 10^7 + 3 \times 10^7 + 5 \times 10^4$
<i>S. agalactiae</i> + <i>C. haemolyticum</i> + <i>S. epidermidis</i> + <i>C tropicalis</i>	1	1,5	$5 \times 10^7 + 4 \times 10^7 + 8 \times 10^6 + 7 \times 10^6$

Таблица 2

**Характер микрофлоры слизистой надгортанника у пациентов некротической формой эпиглоттита (n, %, M $\pm$ m)**

Микроорганизмы	Абсолютное количество больных, у которых высевалась микрофлора	Относительное количество больных, у которых высевалась микрофлора, %	Степень инфицирования слизистой оболочки надгортанника, КОЕ/мл
1	2	3	4
<i>E. cloacae</i> + <i>K. pneumoniae</i> + <i>E. coli</i> + <i>S. viridans</i> + <i>C. albicans</i>	1	2,8	$2 \times 10^8 + 3 \times 10^8 + 1 \times 10^8 + 4 \times 10^6 + 6 \times 10^5$
<i>H. influenzae</i> + <i>S. viridans</i>	2	5,6	$3 \times 10^8 + 6 \times 10^8 / 5 \times 10^8 + 4 \times 10^8 \times 10^8$
<i>E. faecalis</i> + <i>S. haemolyticus</i>	2	5,6	$5 \times 10^8 + 8 \times 10^8 / 5 \times 10^8 + 4 \times 10^8$
<i>S. haemolyticus</i> + <i>S. agalactiae</i>	2	5,6	$3 \times 10^8 + 6 \times 10^8 / 6 \times 10^8 + 4 \times 10^8 + 1 \times 10^8$
<i>C albicans</i> + <i>S. aureus</i>	2	5,6	$8 \times 10^8 + 3 \times 10^8 / 9 \times 10^6 + 2 \times 10^8$

C albicans + S. haemolyticus	2	5,6	$2 \times 10^7 + 4 \times 10^8 / 3 \times 10^7 + 2 \times 10^8$
E. faecalis + S. pyogenes + C albicans		2,8	$3 \times 10^8 + 3 \times 10^8 + 8 \times 10^6$

Продовження таблиці 2

1	2	3	4
S. viridans + S. haemolyticus + E. coli + C. freundii		2,8	$2 \times 10^8 + 1 \times 10^8 + 2 \times 10^6 + 8 \times 10^6$
S. aureus + S. pneumoniae	2	5,6	$3 \times 10^6 + 6 \times 10^8 / 4 \times 10^8 + 2 \times 10^8$
E. coli + S. haemolyticus + E. aerogenes		2,8	$6 \times 10^8 + 3 \times 10^7 + 2 \times 10^8$
E. coli + B. subtilis + S. haemolyticus		2,8	$1 \times 10^8 + 2 \times 10^8 + 4 \times 10^8$
E. faecalis + S. pneumoniae	2	5,6	$4 \times 10^8 + 3 \times 10^8 / 1 \times 10^8 + 6 \times 10^8$
E. faecalis + S. aureus		5,6	$8 \times 10^7 + 6 \times 10^8 / 3 \times 10^7 + 7 \times 10^8$
E. faecalis + S. epidermidis		2,8	$9 \times 10^7 + 7 \times 10^8$
E. faecalis + C albicans + S. pneumoniae		2,8	$9 \times 10^7 + 8 \times 10^7 + 4 \times 10^8$
S. pyogenes + C albicans + S. pneumoniae		2,8	$6 \times 10^8 + 7 \times 10^7 + 3 \times 10^8$
S. epidermidis + S. pneumoniae	2	5,6	$5 \times 10^8 + 2 \times 10^8 / 2 \times 10^8 + 4 \times 10^8$
H. influenzae + S. epidermidis + C albicans		2,8	$2 \times 10^8 + 6 \times 10^8 + 8 \times 10^7$
H. influenzae + B. subtilis		2,8	$6 \times 10^8 + 3 \times 10^8$
S. anginosus + S. haemolyticus + A. calcoaceticus		2,8	$2 \times 10^8 + 5 \times 10^8 + 8 \times 10^7$
S. pyogenes + M. catarrhalis + N. cissa		2,8	$6 \times 10^8 + 2 \times 10^8 + 9 \times 10^7$
S. pyogenes + M. catarrhalis + C albicans		2,8	$3 \times 10^8 + 2 \times 10^8 + 6 \times 10^7$
S. pyogenes + S. haemolyticus + C albicans		2,8	$2 \times 10^8 + 2 \times 10^8 + 9 \times 10^7$
S. aureus + S. pneumonia + C albicans		2,8	$1 \times 10^8 + 3 \times 10^8 + 6 \times 10^7$
S. agalactiae + S. haemolyticus + S. epidermidis + C tropicalis		2,8	$1 \times 10^8 + 3 \times 10^8 + 1 \times 10^8 + 7 \times 10^7$

Таблиця 3

Чувствительность бактериальной флоры слизистой надгортанника к антибиотикам

Микро-организмы	Количество выделенных изолятов	Количество изолятов, чувствительных к антибиотикам												
		Пенициллины		Цефалоспорины					Амино-гликозиды	Фторхинолоны				
		Ампициллин	Амоксициллин	Цефазолин	Цефалексин	Цефуроксим	Цефтриаксон	Цефотаксим	Гентамицин	Пефлоксацин	Офлоксацин	Норфлоксацин	Ципрофлоксацин	Гатифлоксацин
S. aureus	16	8	16	12	12	12	16	16	12	16	16	8	16	16
S. epidermidis	20	0	2	0	1	3	3	3	3	3	3	1	3	3
S. pneumoniae	19	10	14	14	14	17	19	17	12	15	17	7	19	19
S. pyogenes	24	21	24	15	15	20	20	20	10	24	19	10	24	24
S. haemolyticus	26	11	22	И	12	18	26	22	11	26	26	15	26	26
S. anginosus	3	1	3	3	3	3	3	3	1	3	3	3	3	3
S. viridans	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	5	3	5	5
S. agalactiae	4	0	1	4	4	4	4	4	1	3	4	1	4	4
E. faecalis	28	14	21	14	15	15	17	18	11	24	25	15	28	28
E. aerogenes	3	0	1	2	2	3	3	3	3	3	3	2	3	3
E. coli	5	4	4	5	5	5	5	5	4	5	5	5	5	5
K. pneumoniae	2	0	1	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
M. catarrhalis	9	3	3	6	6	9	9	9	3	6	6	3	9	9
A. calcoaceticus	3	3	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
B. subtilis	6	5	5	5	5	6	6	6	5	6	6	6	6	6
N. cissa	4	1	1	3	4	4	4	4	3	3	4	4	4	4
H. influenzae	10	4	8	4	4	9	9	9	5	9	9	10	10	10



У больных некротической формой эпиглоттита обсемененность слизистой надгортанника была достоверно выше  $(7,3 \pm 2,3) \times 10^8$  КОЕ/мл), чем у больных катаральной формой заболевания  $(3,8 \pm 2,3) \times 10^7$  КОЕ/мл). В контрольной группе микробная обсемененность гортаноглотки была менее выраженной  $(3,2 \pm 0,9) \times 10^4$  КОЕ/мл). Качественный состав был представлен монофлорой, условно-патогенными стрептококками и стафилококками (*S. epidermidis*, *S. saprophyticus*, *S. aureus*, *S. pyogenes*, *S. agalactiae*).

Помимо видового состава микрофлоры слизистой надгортанника при остром эпиглоттите, мы определили чувствительность клинических изолятов к антибактериальным и антимикотическим препаратам. Наибольшую чувствительность бактериальная флора проявляла к нескольким группам антибактериальных препаратов, представленным ниже в табл. 3.

При этом чувствительность микроорганизмов могла отличаться в пределах одной группы (цефалоспорины 1, 2, 3 поколений).

Выраженную антимикотическую активность против грибов рода *Candida* проявляли синтетические противогрибковые препараты: флуконазол, клотримазол, кетоконазол, а также хлорхинальдол.

## ВЫВОДЫ

1. Микрофлора слизистой надгортанника при остром эпиглоттите у взрослых паци-

## ЛИТЕРАТУРА

1. Sack J.L., Brock C.D. // *Postgraduate Medicine*. - 2002. - Vol. 112. - № 1. - P. 65-71.
2. Nakamura H., Tanaka H., Matsuda A., et al // *J. Laryngol Otol.* - 2001. - Vol 115(1). - P. 34-40.
3. Hirsch P.J., Wodzinski S.F., Schiffman F.J. // *The New England Journal of Medicine*. - 1986. - Vol. 314. - № 18. - P. 1133-1139.
4. Solomon P., Weisbrod M., Irish J.C., et al // *J. Otolaryngol.* - 1998. - Vol. 27(6). - P. 332-336.
5. Schupbach J., Bachmann D., Hotz M.A. // *Schweiz. Med. Wochenschr.* - 2000. - Suppl. 125. - P. 35-37.
6. Trollfors B., Nylen O., Carenfelt C, Forge-Hansson M. et al. // *Scand. J. Infect. Dis.* - 1998. - Vol. 30 (1). - P. 35-37.
7. Thapa N., Shrivastav R.P., Amataya R.C.M., et al. // *J. of Nepal Medical Association*. - 2001. - Vol. 40. - P. 18-22.
8. Musharrafeeh U.M., Araj G.F., Fuleman N.S. // *J. Infect.* - 1999. - Vol. 39 (2). - P. 157-160.
9. Приказ МЗ СССР №535 от 22.04.1985 года «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений». - Москва. - 1985. - 38 с.
10. Определитель бактерий Берджи. В 2-х томах. Т.1. / Под ред. Дж.Хоулта, Н. Крига, П.Снита, Дж.Стоили, С.Уильямса. - М.: Мир. - 1997. - 35 с.
11. Определитель бактерий Берджи. В 2-х томах. Т.2. / Под ред. Дж.Хоулта, Н. Крига, П.Снита, Дж.Стоили, С.Уильямса. - М.: Мир. - 1997. - 368 с.
12. Дяченко В.Ф., Бірюкова С.Б., Старобінець З.Г. Лабораторна діагностика гнійно-запальних захворювань, обумовлених аспорогенними мікроорганізмами: методичні рекомендації. - Харків. - 2000. - 35 с.
13. Поздеев О.И. Медицинская микробиология / Под ред. акад. РАМН В.И. Покровского. - М.: ГЭОТАР-МЕД. - 2001. - 768 с.
14. Медицинская микробиология. Часть первая / Под ред. А.М. Королюка и В.Б. Сбойчакова. - СПб. - 2002. - 267 с.

## МІКРОФЛОРА НАДГОРТАННИКА ХВОРИХ КАТАРАЛЬНОЮ ТА НЕКРОТИЧНОЮ ФОРМАМИ ЕПІГЛОТТИТА



*М.М. Попов, А.В. Савченко, І.П. Висеканцев*  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

---

## **РЕЗЮМЕ**

Мікробіологічне обстеження 100 пацієнтів з гострим епіглотитом показало, що мікробна флора надгортанника представлена великою кількістю патогенних та умовно-патогенних бактерій, що відносяться до різних таксонів, а також грибами рода *Candida*. У хворих некротичною формою мікрофлора частіше представлена мікобактеріальними асоціаціями, ніж у хворих катаральною формою захворювання, а також асоціаціями, що состоять з трьох та більше видів мікроорганізмів. У пацієнтів з некрозом надгортанника ступінь його обсеменення значно вище, чим у хворих з катаральним запаленням.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** гострий епіглотит, мікрофлора

## **EPIGLOTTIS MICROFLORA OF PATIENT WITH ATTARRHAL AND NECROTIC EPIGLOTTITIS**

*N.N. Popov, A.V. Savchenko, L.P. Visekancev*  
V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

---

## **SUMMARY**

Microbiological research of 100 patients with acute epiglottitis has shown that epiglottis microbial flora represented by pathogenic and opportunistic bacteria which referred to different sippes as well as to *Candida* fungi. Microflora of patients with necrotic epiglottitis was represented by mycobacterium association more often than in patients with catarrhal epiglottitis. Also microflora of patients with necrotic epiglottitis was represented by association of microorganisms including three or more species. Rate of microorganisms species is incomparably higher in patients with necrotic epiglottitis than in patients with catarrhal epiglottitis.

**KEY WORDS:** acute epiglottitis, microflora

УДК: 618.19 – 006.6 – 055.2 – 085.357

## **РОЛЬ РЕЦЕПТОРОВ К ЭСТРОГЕНУ И ПРОГЕСТЕРОНУ ПРИ НАЗНАЧЕНИИ ГОРМОНАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ БОЛЬНЫМ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ В РАЗЛИЧНЫХ ВОЗРАСТНЫХ ГРУППАХ**

*Е.С. Проценко, Е.В. Полякова, Р.Н. Пономарчук*  
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина

---

## **РЕЗЮМЕ**

Изучена роль рецепторов к эстрогену и прогестерону при назначении гормональной терапии больным раком молочной железы в различных возрастных группах по материалам Института медицинской радиологии им. С.П. Григорьева АМНУ. Установлено, что наличие рецепторов к эстрогену и прогестерону отличается в зависимости от возраста больных. В предменопаузальном возрасте преобладают эстрогеновые рецепторы со слабо-позитивной реакцией, в постменопаузальном больше прогестероновых рецепторов, тогда как в старческом возрасте в 80% случаев рецепторы отсутствуют. Полученные данные необходимо учитывать при назначении гормональной терапии больным раком молочной железы.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** рак молочной железы, рецепторы к эстрогену и прогестерону, гормонотерапия

Проблема рака молочной железы (РМЖ) привлекает пристальное внимание. Это связано с продолжающимся возрастанием частоты возникновения РМЖ [3, 4]. РМЖ занимает первое место в структуре заболеваемости женского населения, в странах СНГ в 2003 г. его доля колебалась от 18-23% в России, Узбекистане, Беларуси, Казахстане и Молдове до 28-36% в Армении и Грузии от 28 до 36%. В России прирост абсолютного числа заболевших за период с 1993 по 2003

г. составил 28,4% [1]. По данным ВОЗ, раком молочной железы ежегодно заболевают около 750 тыс. женщин, и именно это заболевание является главной причиной смертности женщин в возрасте от 40 до 55 лет [5, 9]. Статистические данные показывают, что в Соединенных Штатах каждая 8-я женщина рискует заболеть РМЖ в течение всей своей жизни; в Европейском Союзе этому риску подвержена 1 женщина из 12, а в Японии – 1 из 80 [9].

В возникновении и развитии заболеваний молочных желез огромную роль играет состояние гипоталамо-гипофизарной системы [11]. Нарушение нейрогуморальной составляющей репродуктивного цикла ведет к активации пролиферативных процессов в гормональнозависимых органах, в том числе и в тканях молочных желез, которые являются мишенью для стероидных гормонов яичников, пролактина, плацентарных гормонов и опосредованно гормонов других эндокринных желез организма. Эстрогены в большей степени влияют на пролиферацию эпителия ацинусов, дольковых и междольковых протоков, тогда как андрогены в большей степени влияют на степень выраженности фиброза [5, 9]. Одним из характерных признаков злокачественных опухолей является их «умение» стимулировать свой рост самостоятельно. Они выделяют факторы роста, которые связываются с рецепторами (белковыми молекулами, расположенными в опухоли) после чего происходит стимуляция роста. Стимулирующими факторами могут быть и вещества, находящиеся в организме человека. Так, в случае рака молочной железы такими веществами могут выступать эстрогены – женские половые гормоны [6].

Значительный прогресс в лечении рака молочной железы внесли исследования по выявлению и количественному определению в опухолевых клетках стероидных рецепторов к эстрагену и прогестерону. Пациентки, опухоли которых содержали рецепторы к эстрогену и прогестерону, в 50-65% случаев оказались чувствительными к гормональной терапии. В то же время, если опухоль содержала один тип рецептора, чувствительность к гормональной терапии значительно снижалась. В случае если опухолевые клетки не содержали рецепторов, то эффективность гормонотерапии не превышала 10%. В настоящее время общепринято, что если более 10% опухолевых клеток содержат рецепторы к эстрогену или прогестерону, то опухоль следует считать гормоночувствительной [13].

В настоящее время гормональные препараты применяются на различных этапах комбинированного и комплексного методов лечения операбельных форм рака молочной железы, а также в случаях генерализации опухолевого процесса.

Следует признать, что первичная опухоль молочной железы состоит из биологически различных популяций клеток. Они различаются по многим параметрам, в частности по скорости роста, кариотипу, наличию или отсутствию гормональных рецепторов, продукции опухоль-ассоциированных белков,

иммуногенности, чувствительности к гормон- и химиотерапии [13].

Рецепторы к эстрогену и прогестерону представляют собой белковые молекулы, расположенные в злокачественных клетках. Эстрогены соединяются с ними и образуют комплексы, обладающие стимулирующим действием. Разрушение этого механизма лежит в основе гормонотерапии.

Определение рецепторов к эстрогену и прогестерону в опухоли молочной железы является на сегодняшний день стандартным мероприятием, позволяющим планировать объем лечения, определять в нем роль гормонотерапии, а также риск возникновения рецидива заболевания [2].

Около 75% больных раком молочной железы (РМЖ) имеют положительные рецепторы к эстрогену и/или прогестерону на поверхности клеток опухоли. Взаимодействие этих рецепторов с эстрогеном стимулирует пролиферацию и выживание клеток рака. Более ста лет назад было показано, что удаление яичников, являющихся основным источником эстрогенов у женщин в пременопаузе, оказывает противоопухолевый эффект у больных с распространенным РМЖ [13]. Остановка их функции (хирургическая, лучевая, гормональная или цитостатическая) приводит к снижению уровня эстрогенов крови с 1000-100 до 100-10 ммоль/л, т. е. в 10 раз. Остаточный уровень эстрогенов обеспечивается превращением андростендиона, вырабатываемого корой надпочечников, в эстрогены за счет реакции ароматизации, протекающей в жировой и некоторых других тканях. В постменопаузе главным путем образования эстрогенов является ароматизация андрогенов, продуцируемых надпочечниками. Таким образом, блокада яичников не обеспечивает полной остановки образования этих гормонов, и требуется дополнительное воздействие, чтобы прервать стимуляцию опухоли. Эффективной последующей антиэстрогенной стратегией явилась блокада рецепторов этих гормонов. С этой целью были синтезированы селективные модуляторы рецепторов к эстрогенам (SERM) тамоксифен и торимефен. Назначение тамоксифена в течение пяти лет у пациенток с рецептор-положительными опухолями в менопаузе позволило сократить частоту рецидивов и возникновения рака контралатеральной молочной железы на 50%, уменьшить смертность на 28% [11,13].

Цель настоящего исследования – определить роль рецепторов у эстрогену и прогестерону в ткани опухоли больных различных возрастных групп при назначении гормональной терапии после полиохимиотерапии.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Материалом для исследования служили результаты комплексного обследования 26 больных, находившихся на лечении в ИМР им. С.П. Григорьева АМНУ по поводу РМЖ, а также изучение данных их медицинской документации, включая ретроспективное изучение архивного материала. Возраст обследованных женщин колебался от 30 до 69 лет. В зависимости от возраста больные весь исследуемый материал был разделен на следующие исследуемые группы: О<sub>1</sub> – больные возрастом 31-40 лет (2 случая наблюдения); О<sub>2</sub> – больные возрастом 41-50 лет (4 случая наблюдения); О<sub>3</sub> – больные возрастом 51-60 лет (14 наблюдений); О<sub>4</sub> – больные возрастом 61-70 лет (6 наблюдений).

Объектом для гистологического исследования служил операционный материал в виде кусочков ткани опухоли молочной железы, лимфатических узлов, эндометрия. Для общей морфологической характеристики ткани исследуемый материал фиксировали в 10% растворе нейтрального забуференного формалина и заливали в парафин. Срезы толщиной 3-5 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. Для проведения гистохимических и иммуногистохимических исследований биоптаты фиксировали в 10% нейтральном формалине Лилли, приготовленном на фосфатном буфере. Производили демаскировку эпитопов в депарафинированных и обезвоженных срезах на водяной бане 95° в течение 40 минут в растворе буфера «DAKO Cytomation Target Retrieval Solution 10x concentration» с pH 6,0. Для визуализации рецепторов к эстрогену и прогестерону был использован тест-набор DAKO ER/PR System фирмы Dako, Дания.

Комплекс морфологических исследований проводился на микроскопе Olympus BX-41. Полученный, в результате проведенного исследования цифровой массив данных обработан с помощью стандартного пакета программ Statgraphics [7].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что группа О<sub>2</sub> (40-49 лет) наиболее многочисленна и составляет 54% от общего числа наблюдаемых случаев. Группа О<sub>4</sub> составила 8%, а группы О<sub>3</sub> и О<sub>1</sub>

по 15% и 23% соответственно. Также было отмечено, что рак молочной железы с правой стороны встречается в 84,6%, а рак молочной железы с левой стороны в 15,4%.

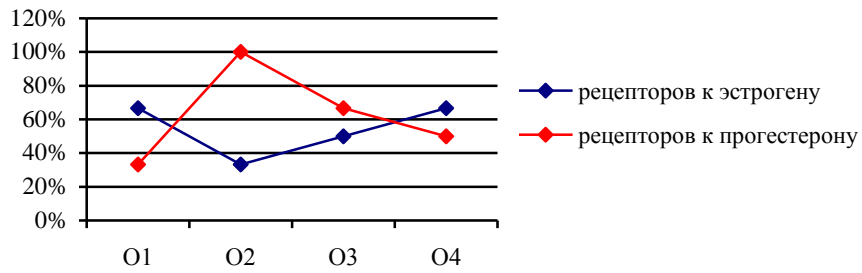
В литературе встречаются данные о наличии двух пиков заболеваемости РМЖ: между 45 и 50 годами и после 55 лет [4, 11], что имело место и в нашем наблюдении.

Многие опухоли, а особенно РМЖ, являются гормонозависимыми. Существуют данные о том, что зависимость опухоли от гормонов продиктована уровнем стероидных гормонов в крови больных. Как известно, тамоксифен является препаратом выбора №1 в качестве гормонотерапии РМЖ при положительных или неизвестных рецепторах к эстрогену и прогестерону [10, 13]. После анализа препаратов, обработанных тест-набором, были получены следующие данные.

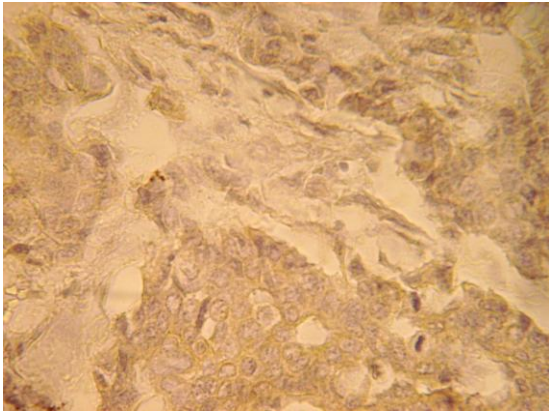
В группе О<sub>2</sub> (больные возрастом 40-49 лет) реакция на рецепторы к эстрогену и прогестерону позитивна как в молочной железе, так и в ткани эндометрия, и лимфатических узлов (рис. 1, 3, 6), причем реакция на наличие эстрогеновых рецепторов сильно позитивна (+++).

Этот факт можно объяснить с точки зрения теорий патогенетических групп развития РМЖ Дильмана В.М. и Семиглазова В.Ф. [4, 7]: с возрастом наблюдается выключение овариального цикла в метаболическом отношении, что сопровождается формированием повышенной чувствительности клеток к стероидным гормонам.

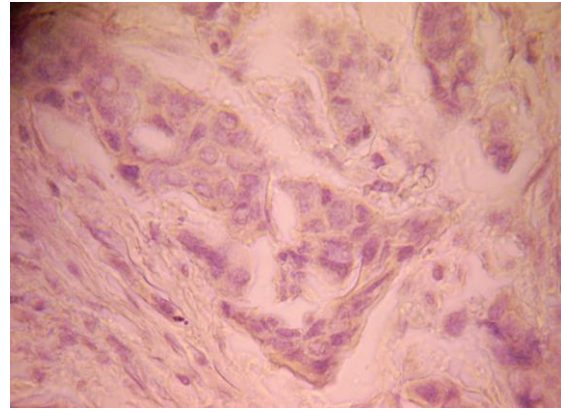
В то время как в группе О<sub>3</sub> (больные возрастом 50-59 лет) реакция на наличие рецепторов к эстрогену умеренно позитивна (++) в 50% наблюдаемых случаев (рис. 1, 5), а реакция на наличие рецепторов к прогестерону в данной группе умеренно положительна в 66,6% наблюдаемых случаев. В этой возрастной группе типичны признаки повышения гипоталамической активности. Повышение порога чувствительности гипоталамуса ведет к увеличению секреции кортизола и к нарушениям в других гомеостатах. По определению Дильмана В.М. – это менопаузальный или гипоталамический тип рака, Семиглазов В.Ф. называет его надпочечниковым вариантом течения рака молочной железы.



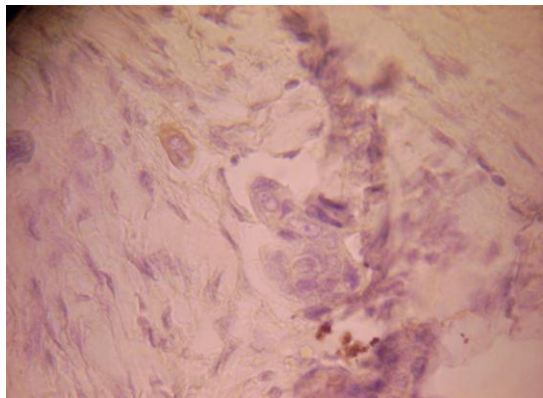
**Рис.1.** Частота наличия эстрогенов и прогестеронов в ткани молочной железы больных разного возраста



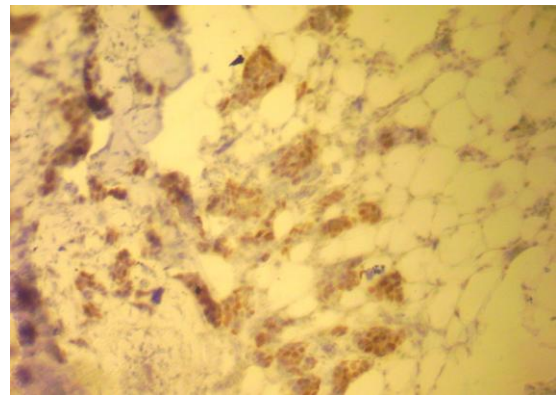
**Рис.2.** Er+++ в тканях молочной железы группы O1, DAKO ER/PR System, x 400



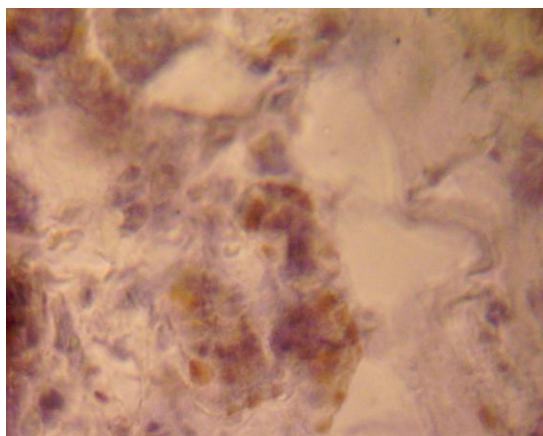
**Рис.3.** Pr+++ в тканях молочной железы группы O2, DAKO ER/PR System, x 400



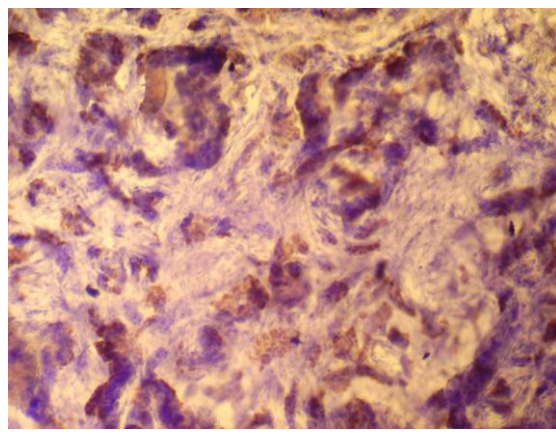
**Рис.4.** Pr+ в тканях молочной железы группы O4, DAKO ER/PR System, x 400



**Рис.5.** Er++ в тканях молочной железы группы O3, DAKO ER/PR System, x 200



**Рис.6.** Pr++ в тканях лимфатического узла группы O2, DAKO ER/PR System, x 400



**Рис.7.** Er+++ в ткани эндометрия группы O1, DAKO ER/PR System, x 400



Касательно группы O<sub>4</sub> (больные возрастом 60-69 лет) можно сказать, что здесь имеются некоторые отличия, от двух предыдущих: в 20 % случаях из этой группы наблюдается слабо положительная реакция на эстрогеновые и/или прогестероновые рецепторы (рис. 1, 4). В остальных 80% случаев наблюдается отрицательная реакция на эстрогеновые и прогестероновые рецепторы, при чем такая картина характерна не только для ткани молочной железы, но и для ткани лимфатического узла, и для ткани эндометрия.

Следовательно, после ПХТ в большинстве случаев сохраняются рецепторы к эстрогенам и прогестерону, особенно это касается исследуемых групп O<sub>2</sub> и O<sub>3</sub>, где наблюдаются положительные рецепторы к эстрогенам и к прогестерону. В группе O<sub>4</sub> в большинстве случаев наблюдается отсутствие рецепторов и к эстрогену, и к прогестерону в тканях молочной железы, лимфатических узлах и эндометрии. Этот факт следует учитывать при назначении гормональной терапии тамоксифеном в целях предотвращения возможной неэффективности данного вида терапии.

## ВЫВОДЫ

1. Наиболее часто обращаются за медицинской помощью по поводу РМЖ женщины в возрасте 40-49 лет.
2. Наличие рецепторов к эстрогену и прогестерону после ПХТ отличается в зависимости от возраста пациентки.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Аксель Е.М., Давыдов М.И. // Вестник РОНЦ им. Н.Н.Блохина РАМН. - М. - 2004. - С. 43-50.
2. Божок А.С., Семиглазов В.Ф., Семиглазов В.В., и др. // Соврем. онкол. - 2005. - Т.7.- № 1.- С. 58-63.
3. Вышинская Г.В., Михина З.П., Данилова В.С. // Соврем. онкол. - 2004. - № 6(4). - С. 158-62.
4. Дильман В.М. Эндокринологическая онкология. Рук. для врачей. Изд.2, перераб. и доп. -М.:Медкнига. - 1983. - 408 с.
5. Заридзе Д.Г. // Вопросы онкологии. - 2002. - Том 48. - № 4-5. - С. 489-495.
6. Онкогинекология /Под ред. З.Ш. Гилязутдиновой, М.К.Михайлова. -М.:МЕДпресс. - 2000. - 383 с.
7. Семиглазов В.Ф. // Практическая онкология. - 2000. - №2 (июнь). - С. 26-30.
8. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях. -М.: ГЭОТАР. - 2000. - 256 с.
9. Трапезников Н.Н., Аксель. Е. М. Статистика злокачественных заболеваний в России и странах СНГ (состояние онкологической помощи, заболеваемость, смертность). -М. - 2001. - С. 71-76.
10. Beck J.I., Boothroyd C., Proctor M., et al // Cochrane Database of Systematic Reviews - 2005. - Vol. 71. - № 4. - P. 71-76.
11. Cuzick J, Ambroisine L, Davidson N, et al // Lancet - 2007. - Vol. 369. - P. 1711-23.
12. Howell A., Cuzick J., Baum M. et al. // Lancet. - 2005. - Vol. 365. - P. 60-62.
13. Wilcken N., Hornbuckle J., Ghersi D. // Cochrane Database of Systematic Reviews. - 2003. - Vol. 83. - № 8. - P. 411-417.

## РОЛЬ РЕЦЕПТОРІВ ДО ЕСТРОГЕНУ ТА ПРОГЕСТЕРОНУ ПРИ ПРИЗНАЧЕННІ ГОРМОНАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ ХВОРИМ НА РАК МОЛОЧНОЇ ЗАЛОЗИ В РІЗНИХ ВІКОВИХ ГРУПАХ

*О.С. Проценко, О.В. Полякова, Р.М. Пономарчук*

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

рия. В данной возрастной группе онкопатология молочной железы протекает на фоне вторичного снижения гипоталамической активности [5, 7].

В тканях больных самой молодой группы, группы O<sub>1</sub> (больные возрастом 30-39 лет), наблюдалась позитивная реакция на наличие рецепторов к эстрогену и прогестерону: в 66,6% положительная реакция только на рецепторы к эстрогену (рис. 1, 2, 3), а в остальных 33,3% случаев наблюдалась отрицательная реакция на данные рецепторы.

3. В предменопаузальном возрасте характерно преобладание эстрогеновых рецепторов в опухолях и слабо позитивная реакция на них.
4. В постменопаузальном возрасте наблюдается преобладание прогестероновых рецепторов с умеренной реакцией на них.
5. В старческом возрасте наблюдается слабо положительная реакция на эстрогеновые рецепторы, а в 80% рецепторы в тканях отсутствуют.
6. Согласно полученным данным, тамоксифен целесообразно назначать всем больным, но в старческом возрасте следует назначать лишь при подтвержденном наличии рецепторов.

Перспективным является изучение рецепторов к эстрогену и прогестерону в опухолях молочной железы в зависимости от морфологической формы.



## **РЕЗЮМЕ**

Вивчена роль рецепторів до естрогену та прогестерону при призначенні гормональної терапії хворим на рак молочної залози в різних вікових групах за матеріалами Інституту медичної радіології ім. С.П. Григор'єва АМНУ. Встановлено, що присутність рецепторів до естрогену та прогестерону відрізняється в залежності від віку хворих. У пременопаузальному віці домінують естрогенові рецептори із слабо-позитивною реакцією, у постменопаузальному віці більше прогестеронових рецепторів, тоді як у похилому віці в 80% випадків рецептори відсутні. Отримані дані необхідно враховувати при призначенні гормональної терапії хворим на рак молочної залози.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** рак молочної залози, рецептори до естрогену та прогестерону, гормонотерапія

## **THE ROLE OF RECEPTORS TO ESTROGEN AND PROGESTERONE IN PRESCRIPTION OF HORMONAL THERAPY TO PATIENTS WITH BREAST CANCER IN DIFFERENT AGE GROUPS**

*O.S. Protchenko, O.V. Polyakova., R.N. Ponomarchuk*  
V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

---

### **SUMMARY**

The role of receptors to estrogen and progesterone in prescription of hormonal therapy to patients with breast cancer in different age groups is investigated on materials of Institute of medical radiology by named by S. P. Grigoriev AMSU. It is established, that presence of receptors to an estrogen and progesterone differs depending on age of patients. In premenopausal age estrogenic receptors with weak positive reaction prevail, in postmenopausal age quantity of progesterone receptors increases, whereas at senile age in 80 % of cases receptors are absent. Received data is necessary for taking into account in prescription of hormonal therapy to patients with breast cancer.

**KEY WORDS:** breast cancer, receptors to estrogen and progesterone, hormonal therapy

УДК: 616.891-053.6

## **ПРЕДИКТОРЫ НЕВРОТИЧЕСКИХ РАССТРОЙСТВ У ПОДРОСТКОВ**

*Т.Ю. Проскурина*  
Институт охраны здоровья детей и подростков АМН Украины, г.Харьков

---

### **РЕЗЮМЕ**

В работе представлен анализ предикторов различных форм невротических расстройств у подростков. Систематизированы специфические и неспецифические факторы психологической травматизации при неврастении, невротическом депрессивном и тревожно-фобическом расстройствах у подростков. Определены основные направления медико-социо-психологической помощи подросткам с невротическими расстройствами.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** подростки, предикторы, невротические расстройства, семья, соматические заболевания, медико-психологическая помощь, реабилитация

В современном мире проблема невротических расстройств становится весьма актуальной. По данным зарубежных и отечественных исследователей доминируют затяжные неврозы и невротическое развитие личности, развивающиеся на органическом отягощенном фоне [1, 2, 3].

Анализ результатов исследований, проведенных в данном направлении, показал, что основной причиной утяжеления невротических расстройств является их патоморфоз в связи с изменением спектра психотравмирующих факторов [4, 5].

Александровский Ю.А. [6] считает, что

при пограничных формах психических расстройств основу дезадаптации психической деятельности определяет ослабленная активность системы психической адаптации. Неспецифические универсальные невротические проявления могут как бы «включаться» и проявляться в результате влияния разных как экзогенных, так и эндогенных факторов. Важнейшим показателем психической дезадаптации является нехватка «степеней свободы» адекватного и целенаправленного реагирования человека в условиях психотравмирующей ситуации, приобретающей вследствие этого индивидуально-экстремальный

характер [6, 7]. Именно индивидуальные варианты постоянства гомеостатических реакций во многом определяют особенности функционирования биологических механизмов, формирующих темперамент человека, в том числе и патологические его варианты.

Социальная среда, опираясь на биологические особенности человека, формирует его сознание, определяет социально-психологическое своеобразие, создает неповторимые личностные особенности [8].

подростков с невротическими расстройствами и обосновывать терапевтическую и реабилитационную тактику возможно только при представлении о механизмах, обуславливающих как психическую составляющую, так и определяющих ее патологические проявления [10].

Работа является фрагментом НИР «Определить клиничко-психопатологические особенности невротических расстройств у детей в современном социуме» (ГР0104U004252).

Целью исследования явилось изучение особенностей психотравмирующих факторов и факторов предикции невротических расстройств у подростков.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Для реализации цели исследования нами использовался клиничко-психопатологический, анамнестический метод в сочетании с анкетой-опросником, направленной на детальный анализ факторов психической травматизации. Определялась частота психо-социальных факторов: отношения в семье, характер психотравмы, длительность течения психотравмы, тяжелые инкурабельные заболевания одного из родителей, наличие соматических заболеваний у подростков. Под наблюдением находилось 277 больных подростков в возрасте 12-17 лет с различными невротическими расстройствами, которые проходили лечение в отделении детской психиатрии в клинике ИОЗДП АМН Украины.

Статистическая обработка полученных результатов произведена на персональном компьютере IBM PC. Использована программа Statgraphics plus 2.1 для Windows.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Структура невротических расстройств у подростков в ранговом соотношении представлена неврастенией (50,6%), депрессивным невротическим (27,2%) и тревожно-фобическим (13,6%) расстройствами.

Гендерный анализ основных нозологических форм невротических расстройств позволил установить доминирование депрессивного (84,1±5,5%), тревожно-фобического

В пубертатном возрасте адаптационный барьер, как функционально-динамическое образование, имеет свои особенности, формируя возможные варианты индивидуального реагирования. Защитные реакции подросткового периода постулируют единство физиологических и патологических явлений и структурную сложность психопатологических феноменов, обусловленную динамическим процессом онтогенеза [9].

Адекватно оценивать состояние больных (68,2±9,9%) расстройств и неврастении (64,6±5,5%) у мальчиков-подростков, по сравнению с этими же расстройствами у девочек-подростков – (15,9±5,5%), (31,8±9,9%) и (35,4±5,1%), соответственно.

Анализ содержательной стороны психотравм позволил выделить их общие и специфические признаки. Установлено, что для большинства подростков с невротическими расстройствами характерным было сочетание факторов психической травматизации.

Дисгармоничные взаимоотношения в семье с проявлением деструктивности в родительских и родительско-подростковых отношениях отмечались у половины исследуемых подростков, независимо от типа невротического расстройства. Наиболее характерными психотравмами для подростков с неврастенией явились ломка жизненного стереотипа и комплекс неполноценности – (24,4±4,7%) и (24,4±4,7%), соответственно. Конфликт в зоне нарушения группирования со сверстниками у подростков с неврастенией встречался в (15,85±4,0%). Характер психотравм, наиболее значимых при формировании депрессивного невротического расстройства у подростков, смещается на доминирование конфликта внутриличностного характера – комплекса неполноценности, который был зарегистрирован почти у половины больных с депрессивным неврозом – 47,72±7,5%, что достоверно чаще ( $p < 0,05$ ), чем у больных подростков с неврастенией – 24,4±4,7%. Как у подростков с депрессивным неврозом, так и у подростков с неврастенией без достоверной разницы отмечались конфликты в зоне нарушения группирования со сверстниками – 15,85±4,0% и 13,63±5,2%, соответственно. Дисгармоничные взаимоотношения в семье с одинаковой частотой фиксировались у подростков как с неврастенией – 50,4±3,8 %, так и с депрессивным неврозом – 53,2±3,7 %.

Важно отметить, что в числе психологических факторов травматизации у подростков с неврастенией и депрессивным невротическим расстройством без достоверной разницы (4,87±2,4%) и (9,08±4,3%), соответственно) выделены сексуальные психотрав-



мы – изнасилование, групповое изнасилование. В формировании неврастения, депрессивного невротического расстройства у подростков были такие психотравмирующие факторы, как тяжелые инкурабельные заболевания одного из родителей (онкологические заболевания, психические заболевания одного из родителей, последствия гемморического инсульта с ограничением жизнедеятельности) –  $6,1 \pm 2,6\%$  и  $4,45 \pm 3,1\%$ , соответственно.

Конфликт на фоне развода родителей в  $4,45 \pm 3,1\%$ , соответственно.

Наиболее значимыми в формировании тревожно-фобического невротического расстройства у подростков были такие психотравмирующие факторы, как дисгармоничные взаимоотношения в семье –  $59,1 \pm 10,5\%$ ; нарушение группирования со сверстниками (в виде социальной изоляции из-за неприятия в среду сверстников – «изгой», надругательства со стороны подростков) –  $22,7 \pm 8,9\%$ ; ломка жизненного стереотипа –  $18,2 \pm 8,2\%$ ; острая психотравма в виде потери (смерти) одного из родителей –  $13,6 \pm 7,3\%$ .

Изучая длительность воздействия ведущего психотравмирующего фактора мы отметили, что у подростков с неврастением чаще встречались пролонгированные фрустрирующие факторы. У больных с депрессивным невротическим расстройством длительность воздействия психотравмирующих факторов была различной (острая, затяжная, хроническая), а при тревожно-фобическом невротическом расстройстве – преимущественно острая.

Изучение взаимосвязи факторов психической травматизации с ведущей психологической (астенической, депрессивной) симптоматикой показало, что психотравмы в интерперсональной зоне конфликта, хронический тип течения конфликта чаще сопровождались формированием неврастения у подростков. Психотравмы в сексуальной сфере, нарушения в сфере социальной активности коррелировали с депрессией, синдромом нервной анорексии, дисморфофобии, эпиптоидным типом акцентуации характера и формировали преимущественный тип неблагоприятного течения депрессивного невротического расстройства.

Исследованиями установлена положительная корреляционная связь витального фокуса зоны действия конфликта с эмоциональной лабильностью, тревогой и висцеро-вегетативными пароксизмами, циклоидным типом акцентуации характера, умеренной выраженностью церебрально-органической недостаточности. Выше описанные нарушения чаще приводили к развитию у подрост-

группе больных с неврастением и депрессивным невротическим расстройством встречался лишь у незначительного количества исследуемых подростков –  $4,87 \pm 2,4\%$  и  $6,81 \pm 3,8\%$ , соответственно.

У подростков с тревожно-фобическими расстройствами достоверно чаще ( $p > 0,01$ ), чем у подростков с неврастением, регистрировался конфликт в зоне тяжелых заболеваний у одного из родителей –  $31,81 \pm 9,9\%$  и

ков тревожно-фобического невротического расстройства.

Немаловажную роль в развитии и хронизации невротических расстройств у подростков имели и ряд соматических заболеваний.

Клинико-динамические наблюдения данной группы исследуемых установили, что альгические расстройства – цефалгии смешанного или вертеброгенного генеза, миалгии, артралгии – способствуют ипохондризации личности и формированию затяжных и хронических форм неврастения у подростков. Немаловажную роль имеет и нарастание признаков астенической юношеской несостоятельности на фоне СДСТ у подростков, что также способствует формированию и фиксации устойчивого астено-ипохондрического синдрома. Последний участвует в патопластике состояний психической и социальной дезадаптации подростков. Так, различные проявления системной дисплазии соединительной ткани (СДСТ) у подростков с неврастением имели ( $87,8 \pm 3,6\%$ ) больных.

Исследованиями установлена роль СДСТ и различных ее проявлений в формировании психопатологии у подростков и с тревожно-фобическими расстройствами. В патопластике невротических и вегетативных расстройств системная дисплазия соединительной ткани зарегистрирована в ( $27,21 \pm 9,5\%$ ) случаев.

У больных подростков с депрессивным невротическим расстройством ( $43,18 \pm 7,5\%$ ) достоверно чаще ( $p < 0,002$ ), чем у больных с неврастением ( $17,07 \pm 4,2\%$ ) и тревожно-фобическими невротическими расстройствами ( $4,54 \pm 4,5\%$ ) зарегистрирован диффузный токсический зоб. Аутоиммунный тиреоидит достоверно чаще ( $p < 0,002$ ) был зарегистрирован у больных с неврастением –  $24,39 \pm 4,7\%$ , по сравнению с подростками с депрессивным неврозом –  $6,81 \pm 3,8\%$ . Предиктором панически-тревожных атак с фобиями у больных подростков с тревожно-фобическим невротическим расстройством явился гипоталамический синдром –  $27,21 \pm 4,7\%$ .

Следовательно, у подростков с невротической болезнью выявлен ряд специфичес-

ких особностей, которые необходимо учитывать при формировании клинко-социотерапевтических реабилитационных программ.

Так, для невращенности значимо наличие в регистре психопатологии депрессивной симптоматики, интраперсональной зоны конфликта, хронического типа течения конфликта, наличие умеренной церебрально-органической недостаточности, коморбидности с патологией соединительной ткани в виде системной дисплазии. Существенным мальная интенсивность показателя тревоги, витальный фокус зоны действия конфликта, отягощенность анамнеза одного из родителей психосоматическими заболеваниями, циклоидный тип акцентуации характера, наличие умеренной степени выраженности церебрально-органической недостаточности.

Таким образом, у подростков с невротическими расстройствами выделены неспецифические и специфические факторы психологической травматизации, наиболее значимые в формировании отдельных форм невротической болезни, и имеющие другую констелляцию, по сравнению со взрослыми больными [3-5], что существенно при организации программ реабилитации подросткового контингента.

## ВЫВОДЫ

1. Выделен ряд факторов, которые формируют повышенную восприимчивость подростка к эмоциональным стрессам,

## ЛИТЕРАТУРА

1. Александровский Ю.А., Табачников С.И. // Арх. психіатрії. - 2003. - Т. 9. - № 2 (23). - С. 4-6.
2. Юрьева Л.Н. // Мед. исследования. - 2001. - Т. 1. - Вып. 1. - С. 32-33.
3. Марута Н.О. Мороз В.В. // Укр. вісн. психоневрології. - 2001. - Т. 9. - Вып. 1 (26). - С. 44-49.
4. Денисенко Д.М. // Укр. вісн. психоневрології. - 1999. - Т. 7. - Вып. 3 (21). - С. 73-77.
5. Марута Н.А. Эмоциональные нарушения при невротических расстройствах. - Харьков: АРСИС. - 2000. - 160 с.
6. Александровский Ю.А. Психиатрия и психофармакотерапия. - М.: ГЕОТАР-медцина. - 2003. - 427 с.
7. Ахмедов Т.И. // Междунар. мед. журн. - 2005. - № 1. - С. 23-31.
8. Weller C. I., Weller R.I. // J Affect disorder. - 1998. - Vol. 34 (Suppl. 1). - P. 9-13.
9. Pine D.S., Cohen E., Brook J. // Am J Psychiatry. - 1999. - Vol. 156. - P. 133-135.

## ПРЕДИКТОРИ НЕВРОТИЧНИХ РОЗЛАДІВ У ПІДЛІТКІВ

*Т.Ю. Проскуріна*

Інститут охорони здоров'я дітей та підлітків АМН України, м.Харків

## РЕЗЮМЕ

В роботі представлено аналіз факторів предикції форм невротичних розладів у підлітків. Систематизовано специфічні та неспецифічні фактори психологічної травматизації при невращенії, невротичному депресивному та тривожно-фобічному розладах у підлітків. Визначено основні напрямки медико-соціо-психологічної допомоги підліткам з невротичними розладами.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** підлітки, предиктори, невротичні розлади, сім'я, соматичні захворювання, медико-психологічна допомога, реабілітація

для невротического депрессивного расстройства у подростков является развитие затяжного синдрома нервной анорексии и дисморфофобии, наличие конфликта в сексуальной сфере, патологический тип семейной социогаммы, эпилептоидный тип акцентуации характера, нарушение в сфере социальной активности, коморбидность с патологией эндокринной системы в виде зоба; при тревожно-фобическом расстройстве — макси-

затрудняют психологическую защиту, способствуют возникновению невротических расстройств. Это происходит в том случае, если у подростка имеется биологическая и социально-психологическая предрасположенность.

2. Дифференцированный подход к оценке конфликтной ситуации (пускового механизма срыва невротического адаптационного барьера) обеспечивает выявление наиболее уязвимых звеньев при выборе стратегии медико-психологического сопровождения подростка с конкретной нозологической формой невротического расстройства.

Перспективным исследованием в данном направлении является совершенствование медико-психологической реабилитации подростков с невротическими расстройствами, улучшение качества жизни подрастающего поколения.

## PREDICTORS OF NEUROTIC DISORDERS IN ADOLESCENTS

*T.Yu. Proskurina*

Institute of Children and Adolescents Health Care of the AMS of Ukraine, Kharkiv

### SUMMARY

The paper presents an analysis of prognostic factors as regards neurotic disorders in adolescents. There have been systematized certain specific and unspecific factors of psychological traumatizing in neurasthenia and in neurotic depressive and anxiety-phobic disturbances in adolescents. Principal trends of medical-socio-psychological support for the adolescents with neurotic disorders have been established.

**KEY WORDS:** adolescents, predictors, neurotic disorders, family, somatic diseases, medical-socio-psychological support, rehabilitation

УДК: 618.17.173-145.007

## СОСТОЯНИЕ Т-КЛЕТОЧНОГО ИММУНИТЕТА У ЖЕНЩИН В ПЕРИМЕНОПАУЗАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

*И.Н. Щербина*

Харьковский государственный медицинский университет, Украина

### РЕЗЮМЕ

Изучено состояние клеточного иммунитета у женщин в перименопаузальном периоде с патологическими проявлениями перименопаузы и физиологическим ее течением.

Полученные данные указывают на угнетение иммунного ответа при перименопаузальном синдроме. Изменение иммунологических показателей коррелирует со степенью клинических проявлений перименопаузального синдрома.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** перименопаузальный период, клеточный иммунитет

Во второй половине 20 и начале 21 столетия отчетливо проявилась тенденция к увеличению продолжительности жизни населения. Исходя из концепции ВОЗ, которая гласит, что для полноценной жизни необходимо хорошее самочувствие. Поскольку климактерический период – это лишь ступень жизни между молодостью и старостью, то познание его биологии представляется чрезвычайно важным, так как именно в преддверии старости нужна четкая, обоснованная программа лечения и профилактики болезней. В настоящее время изучение состояния здоровья женщин в перименопаузальном периоде представляет общемедицинскую проблему, так как находится на стыке нескольких клинических дисциплин (гинекология, эндокринология, невропатология, иммунология и др.) [5].

Благодаря значительному прогрессу в развитии клинической иммунологии в медицине открылись возможности с новых позиций подойти к решению сложной медико-социальной проблемы. Изучение состояния иммунного ответа при различных проявлениях перименопаузального синдрома позволяет раскрыть некоторые малоизученные стороны их патогенеза.

Данные литературы о состоянии иммунитета у женщин в перименопаузальном периоде немногочисленны и противоречивы [2, 4]. Данных о популяционном составе, субпопуляционных лимфоцитов и их функцио-

нальной активности при перименопаузальном синдроме в доступной литературе мы не встретили.

Цель нашей работы – изучение состояния Т-клеточного иммунитета у женщин в перименопаузальном периоде.

Работа выполнена на кафедре акушерства и гинекологии № 1 Харьковского государственного медицинского университета в рамках комплексной научно-исследовательской программы «Разработка методов диагностики, лечения и профилактики заболеваемости и смертности, нарушение репродуктивной функции», № госрегистрации 01980002623.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Под нашим наблюдением находилось 34 женщины в перименопаузальном периоде с патологическими проявлениями перименопаузы. Контрольную группу составили 30 женщин с физиологическим течением перименопаузы. Возраст пациенток – 45-60 лет.

При наличии симптомов перименопаузального синдрома, с целью определения клинической формы последнего и тяжести его течения, использован метод расчета менопаузального индекса, предложенный Купперман в модификации Е.В. Уваровой. Каждый из отдельных симптомов оценивался в зависимости от степени выраженности в баллах от 0 до 3-х. Выделение симптомо-комплексов оценивали по группам. Значение

нейровегетативного симптомокомплекса до 10 баллов соответствовало отсутствию клинических проявлений, 10-20 баллов – слабая степень, 21-30 – средняя и свыше 30 – тяжелая форма синдрома.

Обменно-эндокринные и психоэмоциональные нарушения оценивались: в пределах 1-7 баллов – слабая степень, 8-14 – средняя, свыше 14 – тяжелая.

Программа иммунологических исследований включала изучение Т-системы иммунитета. Кровь для исследования брали из локтевой вены. Выделение мононуклеарных (ФГА) [6], уровню их бласттрансформирующей способности в СКЛ [3].

Статическую обработку выполняли на ЭВМ с применением пакета прикладных программ для медико-биологических исследований (STATGRAFICS). Оценивали среднее (M), ошибку среднего (m).

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При изучении клеточного иммунитета женщин в перименопаузальном периоде выявлены различия в содержании в периферической крови Т-общих лимфоцитов, уровня их бласттрансформирующей способности в

клеток осуществляли на градиенте фиколиверографина. Количество общей популяции Т-лимфоцитов с ее субпопуляцией Т-хелперов, Т-супрессоров определяли с помощью функции непрямой поверхностной иммунофлюоресценции с использованием моноклональных антител (МАТ) к фенотипическим маркерам (CD3, CD4, CD8), серии ИКО НПО «Медбиоспектр» [4]. О функциональной активности Т-лимфоцитов судили по уровню бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) под влиянием фитогемаглютина

СКЛ (табл.).

При анализе иммунного статуса женщин с перименопаузальным синдромом легкой степени тяжести Т-система иммунитета характеризовалась снижением в периферической крови доли Т-общих лимфоцитов, повышением содержания Т-лимфоцитов хелперов, при неизменном содержании CD8<sup>+</sup>-клеток. Соотношение CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>-клеток повышено в основном за счет повышения Т-хелперов при несколько повышенном или нормальном содержании доли Т-цитотоксических клеток (p<0,05).

Таблица

Показатели клеточного иммунитета у женщин в перименопаузальном периоде (M±m)

Показатели	Контроль ная группа n = 30	Женщины с перименопаузальным синдромом, n = 34		
		легкое течение	средней степени тяжести	тяжелое течение
Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	5,7±0,2	5,8±0,3	5,7±0,3	5,8±0,2
Лимфоциты, %	28,0±1,1	28,2±1,1	28,5±1,1	28,6±1,1
Лимфоциты, 10 <sup>9</sup> /л	1,6±0,1	1,6±0,1	1,6±0,1	1,6±0,1
Т-общие лимфоциты (CD3 <sup>+</sup> ), %	60,5±1,6	54,1±1,8*	55,0±1,8*	53,2±1,8*
Т-х-лимфоциты (CD4 <sup>+</sup> ), %	39,8±1,8	41,8±1,6*	42,0±1,6*	32,0±1,8*
CD8 лимфоциты, %	19,8±1,1	19,7±1,4	20,0±1,1	21,2±1,4
Индекс CD4/CD8 <sup>+</sup> клетки	2,0±0,09	2,12±0,10*	2,1±0,11*	32,0±21,2*
Индекс CD4 <sup>+</sup> /CD3 <sup>+</sup> клетки	0,64±0,03	0,77±0,03	0,62±0,03	0,59±0,04
Индекс CD8 <sup>+</sup> /CD3 <sup>+</sup> клетки	0,32±0,02	0,36±0,02	0,36±0,02	0,42±0,02
Индекс РБТЛ с ФГА	29,8±1,5	22,4±1,1*	22,6±1,3*	20,5±1,1*
Индекс СКЛ	12,2±0,7	9,9±0,6*	9,1±0,6*	8,4±0,4*
0-лимфоциты, %	18,1±0,9	16,0±0,8	15,8±0,9	15,1±0,6*

\* - p<0,05 достоверность различий по отношению к контролю

Помимо количественных изменений Т-популяции лимфоцитов выявлены изменения их функциональной активности, что проявилось в снижении их способности к бласттрансформации под воздействием ФГА и снижением индекса СКЛ.

Как видно из представленных данных, функциональная активность лимфоцитов значительно снижена у женщин с перименопаузальным синдромом тяжелой степени (p<0,05).

Нулевые лимфоциты не имеют свойств Т и В клеток, однако, благодаря наличию к ним гликопротеидных рецепторов для – Fc фрагмента антитела, они способны присоединять молекулу антитела и оказывать цитотоксическое действие на клетки-мишени [1]. Как

показали наши исследования, количество нулевых лимфоцитов было значительно снижено у женщин с перименопаузальным синдромом средней и тяжелой степени тяжести с составило 15,8±0,9 и 15,1±0,6 соответст

венно (p<0,05).

## ВЫВОДЫ

1. Число измененных показателей Т-системы иммунитета и величина изменений отдельных показателей коррелирует с особенностями течения климактерического периода, а также степенью клинических проявлений перименопаузального синдрома.
2. Полученные данные указывают на угне-

тение иммунного ответа и могут свидетельствовать о нарушении иммунных механизмов поддержания тканевого гомеостаза.

3. Полученные данные могут помочь клиницисту проводить дифференцирован-

ную иммунокорректирующую терапию.

Перспективой дальнейших исследований является изучение возможностей иммунокорректирующей терапии перименопаузальных расстройств.

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Драннік Г.Н. Клінічна імунологія та алергологія: Навч. пос. -Одеса:Астропринт. - 1999. - 604 с.
2. Крыжановская И.О., Кравцова Т.Я., Лебеденко Е.Ю., и др. // Вестник РААГ. - 1999.- № 1.- С.59-63.
3. Лефковитс И., Пернис Б. Методы исследований в иммунологии. -М:Мир. - 1981. - 485 с.
4. Лысенко О.Н., Стрижова Н.В., Холодова Ж.Л. // Бюл. эксп. биол. и мед. - 2003.- №1(135).-С.90-94.
5. Руководство по климаксу: Руководство для врачей / Под ред. В.И.Кулакова, В.П.Сметник. М.:Медицинское информационное агентство. - 2001. - 685 с.
6. Шютт Х. // Иммунологические методы. -М.:Медицина. - 1987. - С. 294-302.

## **СТАН Т-КЛІТИННОГО ІМУНІТЕТУ У ЖІНОК В ПЕРИМЕНОПАУЗАЛЬНОМУ ПЕРІОДІ**

*І.М.Щербіна*

*Харківський державний медичний університет, Україна*

---

#### **РЕЗЮМЕ**

Вивчено стан клітинного імунітету у жінок в перименопаузальному періоді з патологічними проявами перименопаузи і фізіологічною її течією. Одержані дані вказують на пригнічення імунної відповіді при перименопаузальному синдромі. Зміна імунологічних показників корелює із ступенем клінічних проявів перименопаузального синдрому.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** перименопаузальний період, клітинний імунітет

## **STATE OF T-CELLULAR IMMUNITY AT WOMEN IN A PERIMENOPAUSAL PERIOD**

*I.N. Sherbina*

*Kharkov medical university, Ukraine*

---

#### **SUMMARY**

The state of cellular immunity at women in a perimenopausal period with the pathological displays of perimenopausal syndrome and physiological its flow is studied.

Finding is specified on oppression of immune answer at a perimenopausal syndrome. The change of immunological index correlates with the degree of clinical displays of perimenopausal syndrome.

**KEY WORDS:** perimenopausal period, cellular immunity

УДК: 616.12-07:615.035

## **СОВРЕМЕННАЯ ТЕРАПИЯ ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ: ЗНАЧЕНИЕ АНТАГОНИСТОВ АЛЬДОСТЕРОНА**

*Н.И. Яблучанский*

*Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, Украина*

---

#### **РЕЗЮМЕ**

Рассмотрено место антагонистов альдостерона в современной терапии хронической сердечной недостаточности. Показано, что антагонисты альдостерона дополняют влияния ингибиторов ангиотензин превращающего фермента на ренин-альдостерон-ангиотензиновую систему, чем способствуют достижению более значимых стойких позитивных результатов в лечении пациентов с сердечной недостаточностью.

**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** сердечная недостаточность, патогенез, клиника, лечение

Хроническая сердечная недостаточность (СН) является одним из наиболее важных

синдромов в кардиологической клинике. Она закономерно осложняет ишемическую болезнь сердца, артериальную гипертензию, миокардиты, пороки сердца, кардиомиопатии, другие состояния.

И хотя современная терапия СН, основанная на схемах использования ингибиторов ангиотензин превращающего фермента (ИАПФ), бета-блокаторов, дигоксина и диуретиков, улучшила качество и продолжительность жизни пациентов, пятилетний период выживаемости преодолевает не более половины из них.

Все это ставит задачи дальнейшего развития организма, что проявляется симптомами гипоперфузии или застоя.

Определение это далеко не полное. Функциональная неспособность ЛЖ, лежащая в основе СН, обуславливает серьезные нарушения в других органах и системах, прежде всего, регуляции. На определенных стадиях СН уже именно они, а не сама функциональная неспособность ЛЖ, играют «первую скрипку» в ее развитии. За примерами далеко ходить не надо – перечисленные во введении группы лекарственных препаратов оказывают свое терапевтическое действие при СН, прежде всего, через оптимизацию регуляции. Даже, казалось, выпадающий из системы дигоксин, сегодня используется в дозах, которые обладают системным регуляторным, но не местным инотропным действием.

В механизмах развития СН исключительно важное место занимает АН. Он является составным компонентом ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), закономерно активирующейся при СН вследствие гипоперфузии почек. Чем больше гипоперфузия, тем сильнее активируется РААС. Чем сильнее активируется РААС, тем больше нарушается регуляция в целом, и тем больше страдает насосная функция сердца. Порочный круг не просто замыкается, но раскручивается.

Конечными продуктами активации РААС являются ангиотензин I (АТ) и АН. Ангиотензин активирует симпатическое звено нервной системы, стимулирует освобождение нейrogормонов, АН, других биологически важных структур. В результате развивается дистресс с вазоконстрикцией, возрастающими артериальным давлением и частотой сердечных сокращений (ЧСС), увеличением частоты и появлением жизнеопасных аритмий. АН синтезируется не только в коре надпочечников, но и в других тканях – миокарде, сосудах, веществе мозга,

Здесь же находятся и рецепторы к АН. С АН связывают задержку натрия и воды, а

тия терапевтических стратегий, одна из которых связана с дополнением сложившихся схем антагонистами минералокортикоида альдостерона (АН).

Своей работой я поставил цель определить значение антагонистов АН в терапии СН.

#### **Альдостерон и сердечная недостаточность**

СН определяют как клинический синдром, характеризующийся функциональной неспособностью левого желудочка (ЛЖ) обеспечивать адекватную перфузию в соответствии с метаболическими запросами ортакже индукцию синтеза протеинов, регулирующих выделительную функцию почек, в том числе, что касается секреции калия. Повышение уровня АН, как за счет активации синтеза, так и замедления элиминации, в системе упомянутых факторов разворачивает механизмы СН. Двойственный механизм этого повышения объясняет, почему подавление активности РААС только ИАПФ не приводит к восстановлению нормального уровня АН в плазме крови. Компенсаторной реакцией сердца на ухудшение условий кровообращению (повышение преднагрузки, рост ЧСС, другие) является ремоделирование миокарда, с которым, однако, СН только отягощается.

Гемодинамическими влияниями эффекты АН не ограничиваются. Полученные в последние годы данные показывают, что он важный «игрок» в воспалении, с которым связывают фиброз миокарда, артериальных сосудов и других тканей, как структурную основу СН. АН активирует на местном уровне провоспалительные молекулы, такие, как циклооксигеназу-2, макрофагальный хемоаттрактантный протеин-1, фактор некроза опухоли-альфа. Он рекрутирует из депо синусов костного мозга колониеобразующие клетки, активирует многие формы лейкоцитов крови и тканей. Эти клетки формируют весь пролиферативный пул воспаления, в отягощенных условиях выступающий важным фактором фиброзного замещения подвергающихся дистрофии и деструкции миокарда и кровеносных сосудов. Следует заметить, что фиброз – еще один важный фактор жизнеопасных аритмий при СН.

АН также прямо влияет на функции эндотелия и оказывает действие на многие структуры мозга, такие как паутинная оболочка, гипоталамические паравентрикулярные ядра, ядра автономной нервной системы, др.

Если с активацией АТ индуцируются синтез и освобождение АН на системном и местном уровнях, АН, со своей стороны, активирует стресс опосредованные реакции

АТ. В итоге АТ и АН выступают как самоподдерживающаяся система, роковая для СН.

Выводы об исключительной роли АН вместе с АТ в СН подтверждаются многочисленными экспериментальными исследованиями, получившими клиническое подтверждение, в соответствии с которыми в комбинации ИАПФ и антагонисты АН не просто приводят к ее редукции, но являются базой и восстановительных изменений соединительнотканного континуума сердца и всей системы кровообращения.

#### **Антагонисты альдостерона**

Антагонисты АН в недалеком прошлом относились к калийсберегающим диуретизованием активных метаболитов 7-альфа-тиоспиро-лактона, канренона или канреноата, 7-альфа-тиометилспиролактона или 6-бета-окси-7-альфа-тиометил-спиролактона. Максимальные концентрации последних достигаются через 2-3 ч. Первые три метаболита обладают антиминералокортикоидной активностью, составляющей 26, 68 и 33% от исходного вещества. Связывание с белками плазмы крови спиронолактона и канренона составляет от 90 до 98%. Элиминация исходного вещества составляет до 2 ч, канренона – около 20 ч, 7-альфа-тиометил-спиролактона – 3 ч, 6-бета-окси-7-альфа-тиометил-спиролактона – 10 ч. Метаболиты экскретируются с мочой и желчью.

Спиронолактон помимо действия на альдостероновые подавляет также андрогенные, глюкокортикоидные и прогестероновые рецепторы. Поэтому при его длительном использовании существует высокая вероятность рисков разных осложнений. Одно из наиболее частых (до 10% случаев) – гинекомастия у мужчин, боль в грудных железах и дисменоррее у женщин. Другие частые осложнения – снижение либидо, импотенция. Это ограничивает возможности включения спиронолактона в схемы систематической терапии СН.

Эплеренон (эпоксимексренон) является 9-альфа, 11-альфа эпокси-дериватом спиронолактона. При приеме внутрь он хорошо абсорбируется с биодоступностью около 67% и достигением максимума концентрации в крови в первые 1,5 часа. Эплеренон разрушается печенью, период полувыведения составляет 4-6 часов, активных метаболитов не имеет. Почками выводится менее 5% эплеренона.

Частота побочных эффектов эплеренона не превышает частоту для плацебо. Такие побочные эффекты, как гинекомастия у мужчин и вагинальные кровотечения у женщин, и др. при приеме эплеренона встречаются

кам и использовались в коррекции гипокалиемии, вызываемой петлевыми и тиазидными диуретиками. Время вносит свои коррективы, и сегодня они рассматриваются как самостоятельная группа препаратов.

Известны два антагониста АН – неселективный спиронолактон и селективный эплеренон.

Спиронолактон после приема внутрь быстро всасывается с достижением максимума концентрации в крови в первые 2 часа. При прохождении через печень он подвергается биотрансформации, метаболизируясь с обра-

менее, чем в 1% случаев. Передозировка эплеренона не описана.

Антагонисты АН допускают совместное применение с ИАПФ, сартанами, статинами, бета-блокаторами, амиодароном, метопрололом без коррекции дозировок. Не рекомендуется комбинирование с ИАПФ и сартанами только у пациентов с нарушениями функции почек из-за одинакового влияния на экскрецию калия. Не выявлены межлекарственные взаимодействия с варфарином, дигоксином, оральными контрацептивами.

Антагонисты АН не назначаются при уровне калия крови выше 5,5 мэкв/л, креатинина крови – 2,0 мг/дл у мужчин и 1,8 мг/дл у женщин, или его клиренсе ниже 50 мл/мин, а также сахарном диабете 2 типа с микроальбуминурией. Не назначаются они также с калийсберегающими диуретиками и друг с другом.

Антагонисты АН являются блокаторами альдостероновых рецепторов, обнаруживающихся, как отмечалось, в самых разных тканях. Кроме конкурентного взаимодействия с этими рецепторами, они также тормозят активность альдостеронсинтетазы, чем уменьшают синтез АН. Через благоприятное влияние на воспаление антагонисты АН препятствуют развитию фиброза миокарда и меди артерий, а их положительное влияние на системную гемодинамику имеет следствием предотвращение ремоделирования и обратное развитие гипертрофии миокарда.

Изложенное определяет основные показания для использования антагонистов АН как препаратов комплексной терапии пациентов с СН III-IV функциональных классов (ФК) СН по Нью-Йоркской классификации сердца при недостаточной эффективности стандартной терапии.

При сердечной декомпенсации антагонисты АН могут использоваться в высоких дозах – 150-300 мг/сут. однократно или, в крайнем случае, в два приема в первой половине

дня, не более 4-6 недель с переходом на поддерживающую дозу 25-50 мг/сут. В комбинации с ИАПФ при систематической терапии СН антагонисты АН используются в дозе 25-50 мг/сут. В этих дозировках эплеренон назначается у перенесших острый инфаркт миокарда (ОИМ) с левожелудочковой недостаточностью в стадии компенсации при фракции изгнания (ФИ) ЛЖ менее 40%.

#### **Клиническое использование антагонистов альдостерона**

С началом использования при СН ИАПФ, задерживающих в организме калий и предотвращающих развитие гипокалиемии при назначении петлевых и тиазидных диуретиков эти критерии, фактически использование антагонистов АН распространено на СН всех ФК.

Первое рандомизированное плацебо-контролируемое исследование (RALES – Randomized Aldacton Evaluation Study), посвященное изучению влияния дополнения стандартной терапии СН III-IV ФК с ФИ ЛЖ менее 35% низкими дозами спиронолактона на смертность пациентов, в котором 822 из них дополнительно получали спиронолактон (25 мг/сут.) и 841 – плацебо, было досрочно приостановлено в 1998 г. из-за значительно более низкой смертности в группе спиронолактона. Срок наблюдения за пациентами составил 2 года. Общая смертность от всех причин в этой группе оказалась на 27%, и от сердечных причин – на 31% ниже группы плацебо. При этом общее число госпитализаций оказалось ниже на 17% и связанное с декомпенсацией СН – на 36%. Общее число случаев смерти и госпитализаций уменьшилось на 22%. Все данные с высокой степенью достоверности. Несмотря на применение минимальных доз спиронолактона, довольно часто встречались побочные эффекты, связанные с неселективной стимуляцией спиронолактоном стероидных рецепторов. Частота гинекомастии или мастодинии в группе спиронолактона составила 10% против 1% в группе плацебо.

Возможность использования эплеренона в лечении СН II-IV ФК была показана Pitt В и Roniker В. уже год спустя в исследовании, в котором он сравнивался со спиронолактоном. Всего в исследование был включен 321 больной. Эплеренон назначался в дозах 25-100 мг/сут. Пациенты из группы контроля получали спиронолактон 25 мг/сут или плацебо. По влиянию на ФК СН спиронолактон и эплеренон не различались. У мужчин, получавших спиронолактон, увеличение уровня тестостерона встречалось чаще, чем в группе эплеренона.

В 2003 г. были опубликованы результаты

урети-ков, необходимость в антагонистах АН как бы отпала.

Вскоре, однако, было понято, что ИАПФ блокируют только одну сторону активации РААС, и для достижения полноценного результата в терапии СН требуется их дополнение антагонистами АН.

Так были заложены основы возвращения антагонистов АН в практику лечения СН. Сегодня в соответствии с рекомендациями европейского общества кардиологов антагонисты АН предлагается назначать при СН III-IV ФК, а также стабильной СН у перенесших ОИМ с указанными в предыдущем параграфе критериями. Если принять во внимание международное многоцентровое плацебо-контролируемое исследование EPHEUS (Eplerenone Post-Acute Myocardial Infarction Heart Failure Efficacy and Survival Study), в котором изучалось влияние дополнения стандартной терапии СН эплеренонем на прогноз пациентов, перенесших ОИМ. В исследование, в котором принимали участие 674 центра из 37 стран мира, было включено 6632 (3319 – группа эплеренона, 3313 – группа плацебо) пациентов с ОИМ и признаками СН с ФИ ЛЖ менее 40%. Пациенты включались в исследование на 3-14 день от момента развития ОИМ при условии клинической стабилизации. Исследование было остановлено в 2002 г., когда общее число смертей достигло расчетной величины в 1012 случая. В группе эплеренона отмечалось достоверное снижение общей смертности (14,4% против 16,7%), смертности и частоты госпитализаций от сердечно-сосудистых причин (26,7% против 30%). В первые 30 дней после ОИМ общая смертность снизилась на 31% и частота внезапной сердечной смерти на 37%. Частота гинекомастии и импотенции у мужчин, а также появления болей в молочных железах у женщин в сравниваемых группах эплеренона и плацебо достоверно не отличалась.

#### **Акценты**

Антагонисты АН дополняют влияния ИАПФ на РААС, чем способствуют достижению более значимых стойких позитивных результатов в лечении пациентов с СН. Терапевтическое значение спиронолактона доказано для пациентов с тяжелой СН и эплеренона – со стабильной СН и снижением ФИ ЛЖ более 40% спустя 3-13 суток от начала ОИМ. Побочные эффекты эплеренона значительно ниже побочных эффектов спиронолактона и находятся на уровне установленных для плацебо.

Дополнение стандартной терапии СН антагонистами АН положительно сказывается на структурном состоянии и гемодинамике



системи кровообращення з закономірними зниженням загальної смертності, частоти внаслідок серцевої смерті, частоти і тривалості госпіталізацій.

Сьогодні є всі основи розглядати блокаду АН як природну скла-

дчастину оптимальної терапії пацієнтів з СН, і тому в найближчому майбутньому слід очікувати розширення показань для використання антагоністів АН, зокрема еплеренону, в систематичній терапії СН.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Blacher J., Amah G., Girerd X., et al. // Am J Hypertens. - 1997. - № 10. - P. 1326-1334.
2. Blasi E.R., Rocha R., Rudolph A.E., et al. // Kidney Int - 2003. - № 63. - P. 1791-1800.
3. Booth E., Johnson J.P., Stockand J.D. // Adv Physiol Educ. - 2002. - № 26. - P. 8-20.
4. Brown N.J., Kim K.S., Chen Y.Q., et al. // J Clin Endocrinol Metab. - 2000. - № 85. - P. 336-344.
5. Degasparo M., Joss U., Ramjouw, et al. // J Pharmacol Exp Ther. - 1987. - № 240. - P. 650-656.
6. Delyani J., Myles K., Funder J., et al. // Am J Hypertens. - 1998. - № 11 - P. 94A.
7. Duprez D., De Buyzere M., Rietzschel E.R., et al. // Curr Hypertens Rep. - 2000. - № 2. - P. 327-334.
8. Guidelines for the diagnosis and treatment of Chronic Heart Failure: full text (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of CHF of the European Society of Cardiology. // Eur Heart J - 2005. doi: 10.1093/eurheartj/ehi205. - P. 1-45.
9. Krum H., Liew D. // Expert Rev Cardiovasc Ther. - 2004. May. - № 2(3). - P. 315-320.
10. McFaiden R., Barr C., Struthers A. // Cardiovasc Research. - 1997. - № 35. - P. 30-34.
11. McMachon E. // N Engl J Med. - 2003. - № 348. - P. 1309-1321.
12. Pitt B., Roniker B. // J Am Coll Cardiol. - 1999. - № 33. - P. 188A-189A.
13. Pitt B. et al. // N Engl J Med. - 1999. - № 341. - P. 709-717.
14. Pitt B. et al. // N Engl J Med. - 2003. - № 348. - P. 1309-1321.
15. Rajagopalan S., Duquaine D., King S., et al. // Circulation. - 2002. - № 105. - P. 2212-2226.
16. Randomized ALdactone Evaluation Study. Eur Heart J - 1995. - 16(suppl N). - P.107-110. N Eng J Med 1999;341:709-717 Seckl JR and Walker BR. Minireview: 11beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 1-a tissue-specific amplifier of glucocorticoid action. // Endocrinology. - 2001. - № 142. - P. 1371-1376.
17. Schunkert H., Hense H.W., Danser J., et al. // Br Heart J. - 1997. - № 77. - P. 24-31.
18. Spertus A., Tooley Phar J., Jones P., et al. // Am Heart J. - 2002. - № 143. - P. 636-642.
19. Struthers A.D. // J Renin Angiotensin Aldosterone Syst. - 2004. Sep. - № 5. - Suppl 1. - P. S23-27.
20. Struthers A.D. // Heart. - 2006. Dec. - № 92(12). - P. 1728-1731.
21. Weber K.T. // Curr Heart Fail Rep. - 2004. Jul. - № 1(2). - P. 51-56.

## СУЧАСНА ТЕРАПІЯ ХРОНІЧНОЇ СЕРЦЕВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ: ЗНАЧЕННЯ АНТАГОНІСТІВ АЛЬДОСТЕРОНУ

*М.І. Яблунський*

Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна, Україна

### РЕЗЮМЕ

Розглянуто місце антагоністів альдостерону в сучасній терапії хронічної серцевої недостатності. Показано, що антагоністи альдостерону доповнюють впливи інгібіторів ангіотензин перетворюючого ферменту на ренін-альдостерон-ангіотензинову систему, чим сприяють досягненню більш значущих стійких позитивних результатів в лікуванні пацієнтів з серцевою недостатністю.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** серцева недостатність, патогенез, клініка, лікування

## MODERN THERAPY OF CHRONIC HEART FAILURE: IMPORTANCE OF ALDOSTERONE ANTAGONISTS

*N.I. Yabluchanskiy*

V.N. Karazin Kharkov National University, Ukraine

### SUMMARY

The place of aldosterone antagonists in modern therapy of chronic heart failure is considered. It is shown, that the aldosterone antagonists expand influences of angiotensin converting enzyme inhibitors on the renin-aldosterone-angiotensin system, what promotes achievement of more significant steady positive results in medical treatment of patients with heart failure.

**KEY WORDS:** heart failure, pathogenesis, clinical manifestation, medical treatment

Збірник наукових праць

# Вісник

Харківського національного університету  
імені В.Н. Каразіна

№ 774/2007

**МЕДИЦИНА**

Випуск 14

Комп'ютерна верстка *Панова О.А.*  
Технічний редактор *Лисенко Н.В.*

Підг. до друку 18.12.2006 р. Формат 60x84/8  
Папір офсетний. Друк різнографічний.  
Ум. друк. арк. 11,7. Обл.-вид. арк. 14,6.  
Наклад 100 прим. Ціна договірна

---

61077, м. Харків, пл. Свободи, 4  
Харківський національний університет імені В.Н. Каразіна  
Видавничий центр

---

Надруковано у міні типографії «Талант-рейдінг»  
61057, м. Харків, вул. Гіршмана 17