Министерство здравоохранения Российской Федерации

Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова

«Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева»

Материалы Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых специалистов с международным участием

4 - 6 февраля 2016 года
Рязань

Евгений Алексеевич Строев

биохимик, доктор медицинских наук,
заслуженный деятельность науки РФ,
академик Российской академии наук

Министерство здравоохранения Российской Федерации

Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Рязанский государственный медицинский университет
имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

БИОХИМИЧЕСКИЕ НАУЧНЫЕ ЧТЕНИЯ ПАМЯТИ АКАДЕМИКА РАН Е.А. СТРОЕВА

МАТЕРИАЛЫ
ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ СТУДЕНТОВ И МОЛОДЫХ СПЕЦИАЛИСТОВ С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

Рязань, 2016

УДК 577.1+616-008.9](071)
ББК 28.072+28.707.2
Б 638

Редакционная коллегия:
Матвеева И.В., кандидат медицинских наук, доцент;
Звягина В.И., кандидат биологических наук, доцент;
Фомина М.А., кандидат медицинских наук, доцент;
Давыдов В.В., доктор медицинских наук, профессор

Б638 Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева: материалы Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых специалистов с международным участием / редкол.: И.В. Матвеева, В.И. Звягина, М.А. Фомина, В.В. Давыдов; ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. − Рязань: РИО РязГМУ, 2016. – 184 с.

ISBN 978-5-8423-0145-4

Сборник научных трудов составлен по материалам Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых специалистов с международным участием «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева». Представлены обзорные статьи и материалы экспериментальных исследований студентов, молодых специалистов и сотрудников медицинских ВУЗов, научно-исследовательских учреждений, а также работников практического здравоохранения. Основные разделы посвящены лизосомальным и митохондриальным механизмам адаптивных биохимических процессов, изучению биохимических аспектов патогенеза заболеваний в клинических и экспериментальных исследованиях, биохимическим маркерам оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции в диагностике заболеваний и оценке эффективности терапии.

Сборник предназначен для научных работников, преподавателей медицинских ВУЗов и колледжей, практических врачей.

УДК 577.1+616-008.9](071)
ББК 28.072+28.707.2

ISBN 978-5-8423-0145-4 © ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, 2016

АКАДЕМИК РАН Е.А. СТРОЕВ – ВЫДАЮЩИЙСЯ НАУЧНЫЙ ДЕЯТЕЛЬ, ОРГАНИЗАТОР, ПЕДАГОГ

И.В. Матвеева, Е.А. Рязанова
ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань,
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО

Академик РАН Строев Евгений Алексеевич (1942-1999) – крупный ученый-биохимик, широко известный в нашей стране и за рубежом своими исследованиями в области регуляции клеточного метаболизма, доктор медицинских наук, профессор, заслуженный деятель науки Российской Федерации, талантливый организатор и педагог, выдающийся общественный деятель.

Строев Евгений Алексеевич начал активно заниматься научными исследованиями еще в студенческие годы, имел публикации, выступал с докладами на научных конференциях в Рязани, Вильнюсе, Ленинграде и других городах. Один из докладов на Всероссийской конференции медицинских вузов был отмечен II премией Минздрава РСФСР.После окончания в 1965 году с отличием лечебного факультета Рязанского медицинского института имени акад. И.П. Павлова проходил обучение в очной аспирантуре кафедры фармакологии. В 1968 году защитил кандидатскую диссертацию на тему: «Роль гормонов щитовидной железы и инсулина в обмене пировиноградной и лимонной кислот» и продолжил научные исследования в отделе биохимии Института экспериментальной медицины в Ленинграде, лабораториях Москвы и Рязани. Защита докторской диссертации на тему: «Молекулярные аспекты действия тиреоидных гормонов и инсулина на нормальную и опухолевую ткани и клеточные механизмы взаимодействия гормонов» состоялась досрочно в 1972 году, и Е.А. Строев становится самым молодым в стране доктором медицинских наук.

С 1973 года Е.А. Строев – заведующий кафедрой биохимии, которая со временем под его руководством была реорганизована в кафедру биологической и биоорганической химии с курсом клинической лабораторной диагностики. В 1976 году ему присвоено ученое звание профессора по кафедре биологической химии. В этот период он активно занимается организацией научных исследований и учебно-методической работой по совершенствованию и профилизации преподавания биохимии на разных факультетах. Е. А. Строев – соавтор 2-х типовых учебных программ по биохимии (1976, 1984 гг.), утвержденных МЗ СССР для фармацевтических институтов и факультетов медицинских вузов, участвует в организации I Всесоюзной конференции по преподаванию химических дисциплин, I Всесоюзного семинара по преподаванию биохимии и многих др. Возглавляемая им кафедра становится базовой по биохимии при Государственном управлении учебных заведений МЗ СССР, на которой организуются циклы усовершенствования для преподавателей других вузов.

Профессору Е.А. Строеву принадлежит идея трехэтапного преподавания биохимии, патобиохимии и клинической биохимии в медицинском

вузе, которая и была им практически и с успехом реализована. Его педагогическое кредо: «Учить думать и понимать». Е.А. Строев – автор замечательного учебника и практикума по биологической химии, которые получили высокую оценку преподавателей и студентов медицинских и фармацевтических вузов и остаются востребованными до сих пор.

С 1987 года Е.А. Строев – ректор Рязанского медицинского института имени акад. И.П. Павлова, который в сложнейших социально-экономических условиях обеспечил не только стабильность, но и возможность развития института, его преобразование в университет, имеющий высокий научный потенциал и современную научно-методическую базу. Медицинский вуз, осуществляющий обучение студентов на трех традиционных факультетах: лечебном, медико-профилактическом, фармацевтическом, превратился в многопрофильный университет. Последовательно открываются 7 новых факультетов: стоматологический (1991 г.), факультет по обучению иностранных студентов (1992 г.), юридический (1995 г.), менеджмента (1995 г.), филологический (1995 г.), экологический (1995 г.), валеологический (1996 г.), которые развиваются при активном содействии и особом внимании ректора.

В 1992 году по инициативе академика Е.А. Строева в университете были открыты и успешно функционировали Специализированные (позднее Диссертационные) Советы по специальностям «биологическая химия», «фармацевтическая химия и фармакогнозия», «нормальная физиология», «физиология человека и животных», «гистология, цитология, эмбриология», «гигиена», «социальная гигиена и организация здравоохранения», «хирургия», «внутренние болезни», принимавшие к защите диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата медицинских и биологических наук.

На кафедре биохимии под руководством Е.А. Строева в течение 26 лет проводились фундаментальные и прикладные научные исследования, в том числе комплексные с сотрудниками других кафедр, вузов, научных и других учреждений. Многие преподаватели нашего университета, практические врачи и провизоры – кандидаты и доктора наук, доценты и профессора, заведующие кафедрами, отделениями, клиниками считают себя учениками Евгения Алексеевича Строева, который как научный руководитель отличался глубокой продуманностью, оригинальностью, многообразием идей и их решений. Он умел вдохновлять и поддерживать своих учеников на каждом этапе непростого пути в науке. Под его руководством были успешно выполнены 15 докторских и 55 кандидатских диссертаций. Он является автором более 30 запатентованных изобретений, им опубликовано 15 монографий и более 350 печатных работ.

На всем протяжении научного пути академика Е.А. Строева прежде всего интересовали молекулярные механизмы регуляции химических реакций, протекающих в организме в норме и при патологии. Среди изученных регуляторов метаболизма основное место занимают гормоны (инсулин, иодтиронины, тиреотропин, кортикотропин, глюкокортикоиды, жен-

ские и мужские половые гормоны) и витамины (тиамин, рибофлавин, пантотеновая кислота). Большие успехи были достигнуты при изучении клеточных механизмов взаимодействия гормонов в различных комбинациях, витаминов и гормонов на разных этапах передачи регуляторного сигнала, а именно, на уровне рецепторного аппарата клетки, сигнальных систем вторичных посредников, ферментных систем и метаболитов митохондрий, лизосом, цитоплазмы и микросом.

Многочисленные научные исследования, выполненные под руководством академика Е.А. Строева, характеризуются решением поставленных задач на высоком методическом уровне, включающем знание и использование последних достижений современной биохимии, а также разработку новых экспериментальных моделей и методов биохимического анализа. Объектами исследования становились не только общепринятые органы-мишени для тех или иных гормонов, но органы и ткани, которые традиционно считаются малочувствительными для соответствующих гормонов. Такой подход позволил впервые выявить многие, иногда неожиданные, особенности течения и регуляции обменных процессов.

Одним из наиболее ярких научных направлений академика Е.А.Строева, которое он начал разрабатывать еще во время подготовки докторской диссертации и продолжал в дальнейшем, является изучение механизма действия инсулина на молекулярном уровне. Концепция горизонтального взаимодействия гормонов, получившая международное признание, была выдвинута и доказана Е.А. Строевым, в первую очередь, на примере инсулина, когда им в собственных экспериментах и в последующих работах его учеников было показано взаимодействие инсулина с иодтиронинами, андрогенами, гидрокортизоном, окситоцином на разных этапах передачи гормонального сигнала в клетки различных органов и тканей. Позднее было установлено совместное участие иодтиронинов и эстрогенов, иодтиронинов и андрогенов, гормонов и катехоламинов, гормонов и карнитина в реализации регуляторных эффектов на уровне вторичных посредников, лизосомальных гидролаз и кальпаинов.

Существенное место среди научных интересов академика Е.А. Строева занимает изучение биологических функций карнитина, многие аспекты регуляторного действия которого были не исследованы или носили противоречивый характер. Полученные результаты значительно расширили представления о карнитине, который теперь рассматривается многими исследователями в качестве внутри- и внеклеточного регулятора различных обменных процессов.

Значительная часть научных исследований академика Е.А. Строева была посвящена молекулярно-биологическим аспектам опухолевого роста при изменении гормонального баланса организма.

Важнейшим этапом при изучении регуляторов клеточной активности стало исследование структуры, специфичности, функциональной и физиологической роли лизосомальной системы клетки. В работах Е.А. Строева и

его учеников впервые показано значение лизосомального механизма в реализации действия инсулина, иодтиронинов, карнитина на метаболизм миокарда, печени, половых желез, в регуляторном эффекте тестостерона и эстрогенов на андрогенчувствительные ткани, в регуляции тиреотропином гормоногенеза в щитовидной железе.

Логическим продолжением предыдущих исследований, и в то же время новым и перспективным научным направлением стало изучение вопросов регуляции кальпаин-кальпастатиновой системы, которая активно изучалась в научных учреждениях многих стран мира. Однако, в то время основные достижения в этой области были связаны с установлением структуры, физико-химических и энзиматических свойств кальпаинов. Под руководством академика Е.А. Строева были выполнены первые в нашей стране исследования, которые позволили установить некоторые особенности регуляции этой уникальной протеолитической системы клетки: показана тиреотропин-зависимая активация кальпаинов щитовидной железы, их роль в гормоногенезе иодтиронинов и при повреждении кардиомицитов, установлено регулирующее влияние иодтиронинов и инсулина на кальпаины миокарда и печени. Выявлено участие кальпаинов в регуляции функциональной подвижности тиреоцитов (адгезия, миграция, межклеточные взаимодействия) внормальной и опухолевой тканях щитовидной железы под влиянием тиреотропина и других сигнальных молекул. С 1996 по 2002 гг. исследования возможных механизмов регуляции кальпаин-кальпастатиновой системы выполнялись в рамках гранта, поддержанного Российским фондом фундаментальных исследований (конкурсные проекты «Кальпаин-каль-пастатиновая система в щитовидной железе: свойства и функции», «Кальпаин-кальпастатиновая система и внутриклеточная передача сигнала»).

Результаты, полученные в рамках созданной академиком Е.А. Строевым научной школы, способствовали формированию современных представлений о механизме действия гормонов и витаминов, имели фундаментальное значение для понимания природы болезней регуляции и повышения эффективности их диагностики и лечения, а также позволили разработать практические рекомендации по восстановлению и химической коррекции обменных нарушений, что является особенно важным для клинической практики.

Прекрасная память, высокая эрудиция, дар научного предвидения позволили Е.А.Строеву быть неиссякаемым источником блестящих научных идей, которые до сих пор сохраняют свою актуальность, безусловную перспективность и жизнеспособность.

Признанием высокого авторитета Е.А. Строева как ученого стало в 1991 году присвоение ему почетного звания «Заслуженный деятель науки Российской Федерации» и избрание членом-корреспондентом Российской академии естественных наук, а в следующем, 1992 году – академиком Российской академии наук.

По инициативе и активном участии академика Е.А. Строева проводились первые цитогенетические и цитоморфологические исследования детского населения в радиоактивно-загрязненных(в связи с аварией на Чернобыльской АЭС) и экологически чистых районах Рязанской области в рамках научно-технических программ «Хромоскан» и «Хромоскан-2» (1993-1997 гг.). Полученные результаты продемонстрировали актуальность и необходимость дальнейших планомерных и систематических медико-экологических исследований детского и взрослого населения Рязанской области. В результате в 1998 году была разработана и предложена региональная научная программа «Нарушения функциональной активности щитовидной железы у детей в условиях влияния экологических факторов и возможные пути ее коррекции» («ЭКОЩИТ»).

С 1994 по 1996 гг. Рязанский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова под руководством ректора участвовал в федеральном межвузовском научном проекте «Здоровье студентов».

Академик Е.А. Строев был основателем и главным редактором журнала «Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова», входил в состав редакционной коллегии журнала «Вопросы медицинской, биологической и фармацевтической химии», а также являлся членом научных Советов по биохимии АН СССР, АМН СССР, Минздрава СССР и РСФСР, Центрального совета Всесоюзного биохимического общества АН СССР.

Как народный депутат Верховного Совета РСФСР (1990-1993 гг.), депутат Совета Федерации Федерального Собрания РФ (1994-1996 гг.), председатель Комитета Совета Федерации по науке, культуре, образованию, здравоохранению и экологии академик Е.А. Строев участвовал в подготовке и принятии целого ряда законов, имеющих важное значение для развития науки, сохранения высших учебных заведений, здоровья граждан нашей страны.

За научные достижения, мудрость и гибкость в политике руководства вузом, сохранение и развитие интеллектуального и кадрового потенциала университета в экстремальных условиях экономики переходного периода академик Е.А. Строев награжден орденом «Знак Почета» (1995 г.), Сертификатом, Хрустальным рыцарем и золотым нагрудным знаком международной награды «Эртсмейкер» (1997 г.)

Образ Евгения Алексеевича навсегда останется в памяти его учеников и коллег как воплощение самых достойных качеств человека и ученого, главным делом жизни которого было беззаветное служение интересам страны, науки и медицинского образования.

РАЗДЕЛ 1
ЛИЗОСОМАЛЬНЫЕ И МИТОХОНДРИАЛЬНЫЕ МЕХАНИЗМЫ АДАПТИВНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ЛИЗОСОМАЛЬНОГО ЦИСТЕИНОВОГО ПРОТЕОЛИЗА СЕЛЕЗЕНКИ В УСЛОВИЯХ МОДЕЛИРОВАНИЯ ДЕФИЦИТА СИНТЕЗА ОКСИДА АЗОТА РАЗНОЙ ВЫРАЖЕННОСТИ

Ю.В. Абаленихина, М.А. Фомина, И.В. Матвеева
ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань,
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО

Резюме. Изучено влияние N-нитро-L-аргинин метилового эфира на активность катепсинов L и H селезенки крыс и состояние лизосомальной мембраны. Полученные результаты демонстрируют нарастанием коэффициента лабильности кислой фосфатазы и увеличение общей активности катепсинов L и H селезенки: при дозе ингибитора 25 мг/кг за счет несеедиментируемой активности, а при дозе 200 мг/кг – седиментируемой активности.

Ключевые слова: катепсины Lи H, оксид азота, селезенка.

Актуальность. В настоящее время лизосомальные цистеиновые протеиназы обнаруженыво многих тканях животных и растений, а также у микроорганизмов. Они функционируют в первую очередь как эндопептидазы, но некоторые из них обладают экзопептидазной активностью. Одним из самых крупных и интересных считается семейство папаиноподобных протеолитических ферментов, локализующихся, главным образом, в лизосомах, имеющих оптимальную кислую среду для максимальной активности катепсинов. Среди лизосомальных цистеиновых протеиназ выделено 11 представителей (B, C, F, H, K, L, O, S, V, W, X), которые обладают различной протеолитической активностью, регулируя физиологические или патологические процессы [9].

За последние годы значительно расширились и изменились представления о цистеиновых лизосомных протеиназах и их биологических функциях в норме и при патологии. Если раньше полагали, что основная функция лизосомных протеиназ – внутриклеточная деградация белков и регуляция их кругооборота, то в последние годы доказана их регуляторная функция и участие во многих физиологических и патологических процессах.

Исследования последних лет выявили у лизосомальных цистеиновых протеиназ специфические функции, в том числе формирование иммунного ответа [8], участие в дозревании белковых молекул [6], поддержании воспалительных процессов и регуляции апоптоза [1,2,6].

Материалы и методы. Работа выполнена на 24 конвенциональных половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 280-320 граммов, количество особей в каждой группе – 8.

Для моделирования дефицита синтеза оксида азота осуществляли внутрибрюшинное введение неселективного ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME) в дозе 25мг/кг [4] и 200 мг/кг [10] в виде физиологического раствора через переднюю брюшную стенку одноразовым пластиковым шприцем с тонкой короткой иглой.

Немедленно после выведения животного из эксперимента из ткани селезенки получали чистую цитоплазматическую (неседиментируемую) и лизосомальную (цитоплазматическую) фракции, путём двойного ультрацентрифугирования. Активность кислых гидролаз в седиментируемой и неседиментируемой фракциях определяли раздельно и обозначали, как СА и НСА соответственно. Общую активность (ОА) рассчитывали, как сумму СА и НСА.

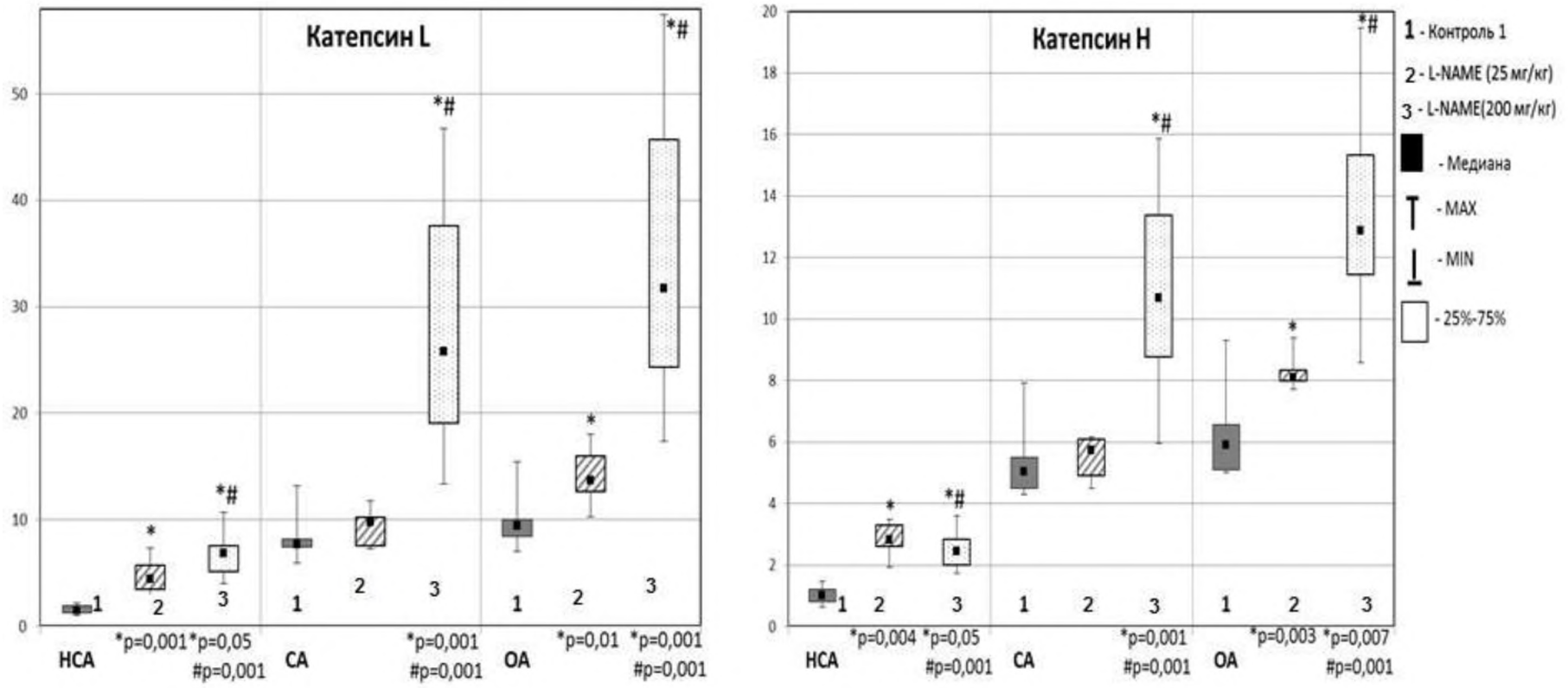
Активность катепсинов L и H изучалась спектрофлуориметрическим методом поBarrett&Kirschke [5].

Активность кислой фосфатазы определяли в седиментируемой и неседиментируемой фракциях гомогената унифицированным методом по «конечной точке», используя коммерческий набор «Витал Диагностикс СПб» (Санкт-Петербург).

Проверку нормальности распределения данных осуществляли с помощью критерия Шапиро-Уилка (W-критерий). Для вариационных рядов с отсутствием согласия данных с нормальным распределением вычисляли характеристики: медиану (Me), минимальное (min) и максимальное (max) значение, результаты представляли в формате Me [min; max]. Для оценки статистической значимости различий независимых выборок использовали ранговый критерий Манна-Уитни (U-тест).Для проверки равенства медиан нескольких выборок использовали критерий Краскела -Уоллиса.

Результаты и их обсуждение. В условиях *invivo*-моделирования дефицита синтеза оксида азота общая активность катепсинов L и H селезенки статистически значимо повышаетсяотносительно контроля при дозе ингибитора в дозе 25 мг/кг за счет неседиментируемой активности, а при дозе 200 мг/кг еще и седиментируемой активности (рисунок 1).

В условиях ингибирования синтеза NO общая активность лизосомальных цистеиновых протеиназ (катепсинов L и H) возрастает. Исследование *invivo*показывают, что данное нарастание происходит преимущественно за счет внелизосомальной фракции. Представленный факт указывает на то, что одним из эффектов L-NAME являетсяувеличение выхода лизосомальных протеиназ в цитоплазму. Данный феномен может происходить по двум причинам: благодаря секреции сквозь лизосомальную мембрану или её повреждению. Внутриклеточное высвобождение лизосомальных ферментов вследствие лабилизации мембраны отражает повреждения лизосом [3]. Почти все ферменты лизосомального матрикса и большинство ферментов, встроенных в мембрану лизосом, относятся к группе кислых



*Примечание:** – статистически значимые отличия относительно группы контроля;

-статистически значимые отличия относительно группы L-NAME (25 мг/кг)

Рисунок 1. Активность катепсинов L и H (нмоль/схг белка) селезенки в условиях *invivo*-моделирования дефицита синтеза оксида азота

гидролаз. К наиболее изученным ферментам относится типичный маркерный фермент лизосом – кислая фосфатаза, большая часть активности которой связана с лизосомами. Для оценки причины нарастания активности катепсинов в цитоплазме был произведен анализ коэффициента доли внелизосомальной фракции в общей активности кислой фосфатазы как показатель повреждения лизосомальной мембраны.

Для контрольной группы коэффициент лабильности кислой фосфатазы составил 4,5[3,2; 5,7], при использовании L-NAMEв дозе 25 мг/кг 4,7[4,0;6,9], при 200 мг/кг 14,8[10,3;16,7], p=0,02.

Таким образом, под влиянием L-NAME увеличение общей активности катепсинов L и H селезенки сопровождается нарастанием доли внелизосомальной фракции в общей активности кислой фосфатазы. Полученные результаты дают основание утверждать, что в условиях дефицита синтеза оксида азота происходит повреждение лизосомальной мембраны, возможно, вследствие атаки активными формами и окисления структурных белков мембраны. Дестабилизация лизосомальной мембраны проявляется в виде ее разрывов и сопровождается выходом ферментов в цитозоль [3], что может являться одной из причин нарастания активности катепсинов в цитоплазматической фракции.

Список литературы

1. Абаленихина Ю.В. Влияние модуляторов синтеза оксида азота на активность и аутопроцессинг катепсина в иммуно-компетентных органов крыс в усло-виях in vitro / Ю.В. Абаленихина, М.А. Фомина // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2014. – №1. – С. 53-60.
2. Гордеева А.В. Апоптоз одноклеточных организмов: механизмы и эволюция / А.В. Гордеева, Ю.А. Лабас, Р.А. Звягильская // Биохимия. – 2004. – Т. 69, вып. 10. – С. 1301-1313.
3. Пупышев А.Б. Пермеабилизация лизосомальных мембран как апоптогенный фактор / А.Б. Пупышев // Цитология. – 2011. – Т. 53, №4. – С. 313-324.
4. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота / М.В. Покровский [и др.] // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2008. – Т. 71, №2. – С. 29-31.
5. Barrett A.J. Cathepsin B, cathepsin H, cathepsin L / A.J. Barrett, H. Kirschke // Methods in Enzymol. – 1981. – Vol. 80. – P. 535-561.
6. Caspase-8 is activated by cathepsin D initiatingneutrophil apoptosis during the resolution of inflammation / S. Conus [et al.] // J Exp Med. – 2008. – Vol. 205, №3. – P. 685-698.
7. Conus Sébastien. Cathepsins and their involvement in immune responses / Sébastien Conus, Hans-Uwe Simon // Swiss Medical Weekly. – 2010. – P. 1-12.
8. Lysosomal cathepsins: structure, role in antigen processing and presentation, and cancer / V. Turk [et al.] // Adv Enzyme Regul. – 2002. – Vol. 42. – P. 285-303.

9. Rawlings N.D. MEROPS: the peptidase database / N.D. Rawlings, F.R. Morton, A.J. Barrett // Nucleic Acids Res. – 2006. – Vol. 34. – P. D270-D272.
10. Wang Zun-Yi. Role of nitric oxide (NO) in ocular inflammation / Zun-Yi Wang,'Rolf Ha'kanson // British Journal of Pharmacology.- 1995.- Vol.116.- P.2447-2450.

ФИЗИОЛОГИЧЕСКАЯ РОЛЬ КАТЕПСИНА D

И.В. Матвеева, Ю.А. Марсянова
ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань,
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО

Резюме. Катепсину D принадлежит важная роль в распаде белка в клетках и развитии ряда патологических состояний. Изучение активности фермента позволяет говорить о течении заболевания.

Ключевые слова: катепсин D, апоптоз, стресс, биохимические маркеры.

Катепсин D – лизосомальная карбоксильная эндопептидаза, присутствующая в лизосомах клеток от простейших организмов до высших животных, обнаруженная во всех исследованных тканях и клетках крови, за исключением эритроцитов. Локализован в ряде органелл (цитоплазма, лизосомы и фагосомы), а также секретируется в экстрацеллюлярном матриксе. Впервые этот фермент был выделен из селезенки быка. Катепсин D относится к группе «аспартильных» протеиназ, так как в активном центре группы кислых протеиназ, аналогичных по своему действию пепсину, принимают участие карбоксильные группы остатков аспарагиновой кислоты [1].

В физиологических условиях главная роль катепсина D – разрушение структурных и функциональных белков и пептидов: метаболическая деградация внутриклеточных белков, активация и распад полипептидных гормонов и ростовых факторов, активация предшественников ферментов, их активаторов и ингибиторов, антигенов. Он инициирует белковый гидролиз больших, плотноупакованных субстратов, с образованием пептидов, которые расщепляются другими катепсинами, облегчая для них доступ к внутренним пептидным связям. Вклад лизосомального протеолиза в общий катаболизм белка в клетке составляет около 70 % [2, 14].

Основным эффектом считается апоптотическая активность, в основе которого лежит протеолиз. Катепсин D усиливает апоптоз с помощью активации 6-гидроксидопамина, активации процессов ПОЛ [3]. При патологии усиливается перекисное окисление липидов клеточных мембран на фоне снижения антиоксидантной активности, что может явиться основной причиной повреждения структуры мембран, в том числе и лизосомальных [3,4]. Эти процессы ведут к выходу кислых гидролаз в цитоплазму. При

выходе из лизосом и цитозоля катепсин D активирует лигандзависимый рецептор олигомеризации, разрушает митохондрии и цитоплазматический ретикулум, что и приводит к гибели клетки. Инициирует этот процесс продукты перекисного окисления липидов. В результате наблюдается усиление процессов аутолиза и, как следствие, дезорганизация практически всех сторон метаболизма [4]. Поэтому катепсин D является маркером состояния лизосомальных структур в клетке.

Такая реакция может быть компенсаторным механизмом на повышенную интенсивность окислительных повреждений белков, чувствительных к стрессу [2]. Выраженность этих процессов зависит от стадии стресса. Стадия тревоги сопровождается повышением относительной свободной активности катепсина D, что свидетельствует об увеличении проницаемости мембран лизосом и развитии лизосомальной дисфункции. В стадию устойчивости относительная свободная активность катепсина D практически возвращается к исходной величине, т.е. этот период характеризуется стабилизацией лизосомальных мембран и тенденцией к нормализации функции лизосом. В стадию истощения наблюдается значительное увеличение относительной свободной активности катепсина D, следовательно проницаемость мембран лизосом вновь возрастает, причем наиболее существенно, что приводит к наибольшему повреждению функции этих органелл [5].

При вирусных инфекциях фагоцитоз и дальнейшая деградация микроорганизмов происходит в фаголизосомах макрофагов с помощью специализированных ферментных систем, наиболее значимым из которых является катепсин D, осуществляющий внутриклеточное расщепление белковых структур вирусов [6].

Обнаружено, что катепсин Dспособен проявлять митогенные свойства, не связанные с его протеолитической активностью [7]. По результатам, полученные в ходе исследования протеолитической активность тканей рыб под влиянием хлорида кадмия, доказано участие катепсина D и нейтральных протеаз в развитии ответной реакции организма на действие тяжелых металлов [8].

Так же велико его значение для таких физиологических процессов, как пролиферация клеток, регуляция клеточного роста, развитие атеросклероза. Одним из важных эффектов катепсина D в организме человека является регуляция функции мозга и выработки ангиостатина, участие в развитии нервных болезней, процессов метастазирования раковых клеток. Его дефицит вызывает значительные неврологические повреждения [9].

Велико значение катепсина D для репродуктивной системы, так как он участвует в процессах плацентации, в развитии различных гиперпластических процессов в эндометрии, в развитии рака эндометрия, в развитии гестоза. Снижение активности катепсина D в самом эндометрии при эндометриозе служит критерием для раннего выявления этого заболевания[10]. Апоптоз, увеличиваясь по мере прогрессирования неосложненной беременности, играет роль в нормальном развитии и старении плаценты. К

концу физиологической беременности отмечается повышение уровня свободно-радикальных процессов на фоне увеличения активности антиоксидантной системы. Об этом свидетельствует повышение активности катепсина D у женщин с нормально протекающей беременностью. Изменение активности катепсина D при гестозе, начиная с ранних сроков беременности, является одним из патогенетических звеньев его развития. А повышение активности катепсина D в первом триместре беременности у женщин можно использовать в качестве прогностического критерия развития гестоза, что позволит провести комплекс профилактических мероприятий в более ранние сроки. [11].

Наряду с некоторыми другими катепсинами, катепсин D считается основным среди протеиназ, связанных со злокачественным ростом. Катепсин Dявляется ферментом, который может активироватьпроцессы пролиферации и инвазии опухолевыхклеток. Увеличение активности катепсинов показано для многих типов опухолей человека, таких как рак молочной железы, легких, мозга, желудочно-кишечного тракта и предстательной железы, меланомы[12]. Высокий уровень экспрессии этого фермента предложен как надежный диагностический маркер для плохого прогноза течения заболевания, а изучение прогностической значимости определения катепсина D выявило его важность дляопределения сроков безрецидивной выживаемости. [13].

Выводы. Функции катепсина Dне ограничиваются деградацией внутриклеточных белков. Он играет важную роль в функционировании организма и в развитии различной патологии нервной, сердечно-сосудистой, репродуктивной и других систем. Важным эффектом этого фермента является регуляция апоптоза. Основываясь на данных фактах, возрастает интерес к изучению катепсина D, как к биохимическому маркеру некоторых заболеваний.

Список литературы

1. Матвеева И.В. Катепсин D: свойства и функции / И.В. Матвеева // Актуальные вопросы медицинской биохимии: сборник научных трудов по материалам Всероссийской научно-практической конференции «Биохимические научные чтения памяти академика РАН Е.А. Строева». – Рязань, 2012.
2. Изменение активности катепсинов B, L и D в печени у крыс Wistar и преждевременно стареющих крыс OXYS разного возраста / А.А. Венедиктова [и др.] // Бюллетень СО РАМН. – 2007. – №3. – С. 127-132.
3. Активность катепсина D в плаценте при гестозе легкой степени тяжести / Т.А. Удонова [и др.] // Известия ПГУ им. В.Г. Белинского. – 2008. – №10. – С. 219-222.
4. Катепсин D – его физиологическая роль и использование в медицине (обзор литературы) / А.М. Герасимов [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – С. 3-5.

5. Городецкая И.В. Механизмы ограничения йодсодержащими тиреоидными гормонами лизосомальной дисфункции при стрессе / И.В. Городецкая, Е.А. Гусакова // Журнал ГрГМУ. – 2014. – №2 (46). – С. 37-41.
6. Морфофункциональные особенности легочных макрофагов у мышей оппозитных линий СВА и С57BL/6G / О. В. Потапова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2010. – №10. – С. 34-39.
7. Fusek M. Dual role of cathepsin D: ligand and protease / M. Fusek, V. Vetvicka // Biomed. Papers. – 2005. –Vol. 149, №1. – P. 43-50.
8. Протеолитическая активность тканей карпа и воблы под влиянием хлорида кадмия / С.И. Курбанова [и др.] // Юг России: экология, развитие. – 2013. – №1. – С. 62-66.
9. Активність каспази-3 та катепсину D при різних підтипах ішемічного інсульту / Н.Р. Сохор [и др.] // SR. – 2015. – №4 (11). – С. 18-24.
10. Эндометриоз послеоперационного рубца (клиническое наблюдение). [Текст] / С.Н. Трушин, К.В. Белякова // «Наука молодых» (Eruditio Juvenium). – 2013. – №2. – С. 65-67.
11. Роль катепсина D в патогенезе гестоза [Текст] / Н.Ю. Борзова [и др.] // ВНМТ. – 2009. – №3. – С. 54-56.
12. Гидролитическая активность ткани опухоли молочной железы и ее перифокальной зоны при различных вариантах течения рака / Е.М. Франциянц [и др.] // Сибирский онкологический журнал. – 2008. – №S2. – С. 88-89.
13. Потеряева О.Н. Участие цистеиновых протеиназ и их ингибиторов в развитии злокачественных опухолей (обзор литературы) / О.Н. Потеряева // Медицина и образование в Сибири. – 2009. – №1. – С. 4.
14. Медведев Д.В. Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс / Д.В. Медведев, В.И. Звягина, М.А. Фомина // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2014. – №4. – С. 42-46.

АУТОКАТАЛИТИЧЕСКИЙ ПРОЦЕССИНГ ЛИЗОСОМАЛЬНЫХ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ МИОКАРДА КРЫС

А.И. Арапова, М.А. Фомина
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань

Резюме: Изучено влияние L-аргинина, L-NAME, L-карнитина, а так же их сочетаний на аутокаталитическую активность лизосомальныхцистеиновыхпротеиназ тканей миокарда крыс. Установлено, что воздействие L-аргинина в дозе 500 мг/кг не изменяет показатели коэффициентов ауто-

каталитического действия катепсинов B, L, H; L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает нарастание степени аутокаталитического процессинга катепсина H, увеличение дозы ингибитора до 200 мг/кг приводит к усилению указанного эффекта. Под действием карнитина в дозе 300 мг/кг происходит угнетениеаутопроцессинга, степень изменения меньше, чем для L-аргинина.

Ключевые слова: L-аргинин, L-NAME, L-карнитин, лизосомальныецистеиновыепротеиназы, катепсины B, L, H, аутокаталитический процессинг.

Актуальность. В настоящее время изучамыекатепсины разделены на подгруппы: катепсин-L-подобные протеиназы (L, H) и катепсин-B-подобные протеиназы [5]. Зрелые области ферментов обеих подгрупп имеют высокое сходство, тогда как прообластикатепсин-L-подобных протеиназ содержат ~ 100 остатков и значительно длиннее, чем пропептиды-катепсин-B-подобных протеиназ (~ 60 остатков) [5]. Однако, у катепсина Вдоступ к субстрат-связывающему участку ограничен дополнительными структурами – «прегражданющими» петлями, а у катепсина H – пептидными участками в аминопептидазах [5]. Из всего выше обозначенного следует сделать вывод, что изменение каждого исследуемого катепсина протекает по индивидуальному сценарию.

Регуляция лизосомныхцистеиновыхпротеиназ (ЛЦП) осуществляется различными путями, в том числе и с помощью изменения активности самого фермента. ЛЦП синтезируются в виде препробелков; активация зимогена может происходить двумя путями:1) с помощью участия других органелл клетки invivo и участия протеиназinvitro, 2) в результате автокаталитического процессинга. Аутокаталитическая активация, свойственная эндопептидазам, которыми являются изучаемые протеиназы, представляет собой бимолекулярный процесс, в котором одна из молекул катепсина активирует другую по типу цепной реакции.

Довольно активно сейчас изучается аутокаталитический процессингЛЦП в кислой среде, в которой профермент, возможно, претерпевает конформационные изменения,при этом связь пропептида с активным центром ослабляется при сохранённой вторичной структуре. Другим механизмом данного процесса может быть расширение места активного центра за счет изменения pH, что было предложено для катепсина B, и/или небольшими локальными структурными изменениями в пропептиде, что имеет место у катепсина L [4,8].

Цель исследования: изучение влияние L-аргинина, L-NAME, L-карнитина, а так же их сочетаний на аутокаталитическую активность лизосомальныхцистеиновыхпротеиназ тканей миокарда крыс.

Материалы и методы. Работа выполнена на 80 конвенциональных половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 280-320 граммов. В работе руководствовались «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и приказом МЗ РФ №267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Экспериментальная группа № 1: осуществляли путем внутрижелудочного введения раствора L-аргинина («Sigma», США) на 0,9 % растворе NaCl в дозе 500 мг/кг [7] через стеклянный градуированный шприц с внутрижелудочным зондом. Объем вводимого раствора зависел от массы, и не превышал 1 мл. Препарат вводили 1 раз в сутки до утреннего кормления ежедневно в течение 10 дней. Выведение из эксперимента осуществляли на 11-е сутки.

Экспериментальная группа № 2: осуществляли внутрибрюшинное введение неселективного ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME, «Sigma», США) в дозе 25мг/кг [7] в виде водного раствора через переднюю брюшную стенку одноразовым пластиковым шприцем с тонкой короткой иглой. Объем вводимого препарата зависел от массы животного: 0,5 мл на 200 граммов массы. Препарат вводился 1 раз в сутки в утренние часы ежедневно в течение 7 дней. Выведение из эксперимента осуществлялся на 8-е сутки.

Экспериментальная группа № 3: осуществляли внутрибрюшинное введение неселективного ингибитора NO-синтазы N-нитро-L-аргининметилового эфира (L-NAME, «Sigma», США) в дозе 200 мг/кг [10] в виде водного раствора через переднюю брюшную стенку одноразовым пластиковым шприцем с тонкой короткой иглой. Объем вводимого препарата зависел от массы животного: 0,5 мл на 200 граммов животной массы. Препарат вводился 1 раз в сутки в утренние часы ежедневно в течение 7 дней. Выведение из эксперимента осуществлялся на 8-е сутки.

Экспериментальная группа № 4: осуществляли внутрибрюшинное введение L-NAME в указанных дозах с 3-и по 10-е сутки на фоне перорального введения L-аргинина. Животных выводили из эксперимента на 11-е сутки.

Экспериментальная группа № 5: осуществляли введение карнитина хлорид (производство ФГУ "РКНПК" Минздрава России) вводили в дозе 300 мг/кг внутрибрюшинно. Препарат вводили 1 раз в сутки до утреннего кормления ежедневно в течение 21 дня. Выведение из эксперимента осуществляли на 22-е сутки.

Экспериментальная группа № 6: осуществляли введение карнитина хлорида (производство ФГУ "РКНПК" Минздрава России) вводили в дозе 300 мг/кг внутрибрюшинно в течение 21 дня, одновременно осуществляя внутрибрюшинное введение L-NAME в указанных дозах с 14-е по 21-е сутки. Животных выводили из эксперимента на 22-е сутки.

Экспериментальная группа № 7: осуществляли внутрибрюшинное введение карнитина хлорида (производство ФГУ "РКНПК" Минздрава России) в дозе 300 мг/кг в течение 21 дня; одновременно осуществляли внутрижелудочное введение раствора L-аргинина («Sigma», США) на 0,9 % растворе NaCl в дозе 500 мг/кг [6] через стеклянный градуированный шприц с внутрижелудочным зондом с 11-е по 21-е сутки. Животных выводили из эксперимента на 22-е сутки.

Контрольные группы формировались для каждой серии эксперимента из животных, сопоставимых по возрасту, массе и условиям содержания с экспериментальными особями. Животным контрольной группы осуществляли введение физиологического раствора, при этом вариант введения, объемы раствора и продолжительность воздействия совпадают с таковыми для экспериментальной группы.

Активность катепсинов B, L, H (КВ, KL и КН) цистеиновыхпротеиназ в седиментируемой (СА) и неседиментируемой (НСА) фракциях гомогената миокарда изучалась спектрофлуориметрическим методом [9].

Коэффициент аутокаталитического действия катепсинов ($К_{аса}$) рассчитывался как отношение значения активности фермента после прекаталитической инкубации в отсутствии субстрата к параллельно определяемому значению активности без преинкубации[3].

Статистический анализ проведен с использованием программы «Statistica 10.0». Вычисляли медиану (Me), минимальное (min) и максимальное (max) значение (Me [min; max]), для оценки статистической значимости использовали критерий Манна-Уитни (U-тест).

Результаты и их обсуждение.С целью оценки степени аутокаталитической активации проведен сравнительный анализ коэффициента аутокаталитического действия катепсиновB, L, H миокарда крыс (таблица 1).

В группе животных с введением L-аргинина, значения $К_{аса}$ статистически значимо не изменяются.

Введение L-NAME 25 мг/кг стимулирует аутопроцессингисследуемых катепсинов; измененияМогут свидетельствовать о том, что в условиях моделирования дефицита синтеза оксида азота организм испытывает функциональную потребность в активных протеиназах. Полученные данные согласуются с результатами, полученными ранее для ткани тимуса [1], селезёнки [1] и аорты [2] крысы.

Увеличение дозы L-NAME до 200 мг/кг в случае с КН приводит к увеличению степени аутокаталитического процессинга, что свидетельствует об увеличении потребности в протеиназах.

В условиях сочетанного применения L-NAME 25 мг/кг на фоне L-аргинина дляКН в СА-фракции и КВ в обеих фракциях обнаруживается статистически значимое повышениеКаса относительно группы введения аргинина, что свидетельствуют о корригирующем действии субстрата синтеза NO, однако статистические значимые изменениякасадляКН и КВ относительно животных с введением L-NAME 25 мг/кг, позволяют говорить о незначительном влиянии на данный процесс неселективного ингибитора NO-синтазы. Возможно, дальнейшее увеличения дозы L-аргинина полностью нейтрализует действие ингибитора.

Эффект карнитина на аутокаталитический процессинг ЛЦП может быть описан какугнетение аутокаталитической активации; степень изменений оказалась ниже, чем под влиянием аргинина, что может свидетельствовать о существовании большей части протеиназ в неактивном состоя-

Таблица 1

Коэффициенты аутокаталитического действия катепсинов B, L и H ткани сердечной мышцы крыс, Me [min; max]

Показатель	Контроль	L – аргинин	Контроль	L – NAME, 25	L – NAME, 200	Контроль	L – NAME + L – аргинин	Контроль	Карнитин	L – аргинин + L – карнитин	L – NAME + L – карнитин
НСАКВ	0,20 [0,01; 0,34]	0,26 [0,24; 0,69]	1,10 [0,48; 1,56]	0,99 [0,73; 1,36]*▲	0,80 [0,63; 1,50]	0,84 [0,01; 1,36]	2,05 [1,48; 2,80]*▲ ●	1,02 [0,01; 1,39]	1,12 [0,92; 1,44]▲ ▼	0,99 [0,33; 1,16]▼	1,15 [0,60; 1,39]▲ ▼
СА КВ	2,84 [0,11; 7,65]	0,31 [0,24; 0,46]	0,88 [0,31; 1,82]	1,04 [0,71; 1,41]▲	1,22 [0,62; 1,77	1,04 [0,11; 7,65]	0,77 [0,56; 1,18]▲●	1,28 [0,11; 7,68]	0,29 [0,18; 1,03]*● ▼	0,22 [0,15; 0,85]*●	0,28 [0,21; 1,05]*●
НСА KL	1,16 [0,98; 3,95]	1,22 [0,84; 1,57]	0,94 [0,69; 1,37]	1,26 [0,84; 1,57]	0,85 [0,66; 1,15	1,19 [0,84; 3,95]	1,28 [1,01; 1,55]	1,19 [0,77; 3,95]	0,50 [0,38; 0,75]*▲ ●▼	0,97 [0,85; 1,22]*▼ ■	1,25 [1,12; 1,41]■
СА KL	1,15 [0,26; 2,17]	1,08 [0,31; 1,40]	0,89 [0,60; 1,06]	1,08 [1,05; 1,35]*	0,90 [0,53; 3,11	1,08 [0,26; 2,17]	1,17 [0,95; 1,52]	1,09 [0,26; 2,73]	0,48 [0,37; 0,77]*● ▼	1,00 [0,93; 1,25]■	1,28 [1,12; 1,44]■
НСА КН	1,01 [0,42; 1,48]	1,00 [0,78; 1,26]	0,54 [0,35; 0,66]	0,60 [0,29; 0,83]*	2,22 [1,50; 4,73]●	0,78 [0,29; 1,48]	1,43 [1,07; 1,90]*●	0,88 [0,29; 1,48]	0,70 [0,52; 0,81]▲ ▼	2,58 [2,34; 3,61]*● ▼■	3,03 [2,49; 4,54]*▲ ●▼■
СА КН	0,95 [0,39; 2,25]	0,86 [0,66; 1,09]	0,47 [0,38; 0,56]	0,51 [0,31; 0,84]*	3,19 [0,94; 5,09]●	0,69 [0,31; 2,25]	1,49 [1,17; 2,11]*▲ ●	0,85 [0,31; 2,25]	0,92 [0,81; 1,02]▼	4,35 [3,16; 7,57]*● ▼■	3,00 [2,60; 3,52]*▲ ●▼■

Примечание: *- статистически значимые отличия от группы контроля ($p<0,05$); ▲ – статистически значимые отличия от группы аргинина ($p<0,05$); ● – статистически значимые отличия от группы L – NAME ($p<0,05$); ▼ – статистически значимые отличия от группы аргинина + L – NAME ($p<0,05$); ■ – статистически значимые отличия от группы L – карнитина ($p<0,05$)

нии. Значения Каса при сочетании карнитина с аргинином и L-NAME 25 мг/кг демонстрируютповышение показателей (в большей степени для КН), что может объясняться переводомбольшей доли зимогеновактивное состояние.Возможно,под влиянием аргинина на фоне карнитина происходит не аутокатализ, а расщепление уже активных форм.

Выводы

1. Аргинин в дозе 500 мг/кг не вызывает статистически значимых изменений показателей аутокаталитического процессинга ЛЦП в ткани миокарда крыс.

2. Применение ингибитора синтеза оксида азота L-NAME в дозе 25 мг/кг вызывает нарастание степени аутокаталитического процессинга катепсина Н в ткани сердца; увеличение дозы ингибитора до 200 мг/кг приводит к усилению указанного эффекта.

3. Под действием карнитина наблюдается угнетение аутопроцессинга ЛЦП, степень изменений ниже, чем в группе L-аргинина. Сочетанное применение карнитина с регуляторами синтеза оксида азота приводит к увеличению степени аутокатализа.

Список литературы

1. Абаленихина Ю.В. Влияние модуляторов синтеза оксида азота на активность и аутопроцессингкатепсина в иммунокомпетентных органов крыс в условиях invitro/ Ю.В. Абаленихина, М.А. Фомина // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2014. – №1. – С. 53-59.
2. Арапова А.И. Аутокаталитические эффекты лизосомальныхцистеиновыхпротеиназ гладкой мышцы аорты крыс/ А.И. Арапова, М.А. Фомина// Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2015. – № 4. – С. 27-32.
3. Борискина М.А. Изменение активности лизосомальныхцистеиновыхпротеиназ у больных хроническими лейкозами в динамике заболевания: дис. … канд. мед. наук / М.А. Борискина. – Рязань, 1996. – 150 с.
4. Изучение механизма аутокаталитической активации прокатепсина Н invitro [Электронный ресурс] / О.С. Васильева [и др.] // Исследовано в России: Российский электронный журнал. – 2002. – Т. 5. – С. 1092-1102. – Режим доступа: http://zhurnal.ape.relarn.ru/ (15.08.2014)
5. Дилакян Э.А. Лизосомныецистеиновыепротеиназы при неопластической трансформации / Э.А. Дилакян, И.В. Цветкова // Биомедицинская химия. – 2005. – Т. 51, № 5. – С. 485-500.
6. Дорохина Л.В. Прооксидантно-антиоксидантное равновесие у крыс при гипотермии в условиях коррекции L-аргинин-NO системы / Л.В. Дорохина, В.В. Зинчук // Весці НАН РБ. Сер. біял. нав. – 2000. – №4. – С. 87-90.
7. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота / М.В. Покровский [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 2. – С. 29-31.
8. Чикин В.Г. Активность лизосомальных ферментов при неосложненном послеродовом периоде и эндометрите / В.Г. Чикин, А.А. Ерохина, В.В. Пчелинцев // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2014. – №2. – С. 32-36.
9. Barrett A.J. Cathepsin B, Cathepsin H, cathepsin L / A.J. Barrett, H. Kirschke// Methods in Enzymol. – 1981. – Vol. 80. – P. 535-561.

10. Wang Zun-Yi. Role of nitric oxide (NO) in ocular inflammation/ Zun-Yi Wang, Rolf Hakanson // British Journal of Pharmacology. – 1995. – Vol. 116. – P. 2447-2450.

ВЛИЯНИЕ L-NAME НА ОКИСЛИТЕЛЬНУЮ МОДИФИКАЦИЮ БЕЛКОВ ПЕЧЕНИ И ПОЧЕК КРЫС

С.А. Теплов, Ю.В. Абаленихина, М.А. Фомина
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО

Резюме. Изучено влияние L-NAME в дозе 200 мг/кг на окислительную модификацию белков печени и почек крыс. Установлено, что при использовании N-нитро-L-аргининметилового эфира в дозе 200 мг/кг уровень карбонильных производных белков печени крыс уменьшается по сравнению с контролем. Проанализировав спектрпоглощения продуктов окислительной модификации белков почки крыс, мы получили схожую тенденцию: снижение уровня карбонильных производных по сравнению с контролем. Данные изменения, возможно, являются следствием уменьшения синтеза оксида азота. Также отмечается увеличение резервно-адаптационного потенциала для печени, однако, для почек данный показатель оказался полностью противоположен по отношению к печени, что можно связать с различной функциональной деятельностью данных органов.

Ключевые слова: окислительная модификация белка, N-нитро-L-аргининметиловый эфир, оксид азота.

Актуальность. Белки признаны главными мишенями для активных форм кислорода (АФК) и азота (АФА) из-за своей высокой чувствительности к свободным радикалам и распространенности в биологических материалах, кроме того, белки ответственны за большинство функциональных процессов клетки, вследствие чего изучение их окислительного повреждения имеет как научную, так и практическую значимость.

Результатом окисления белков является образование карбонильных производных, которые формируются за счет окисления нескольких аминокислотных остатков, а также взаимодействия с продуктами перекисного окисления липидов и редуцирующими сахарами, вследствие чего количественно больше и легче обнаруживаются, чем любые другие модификации в результате повреждения свободными радикалами [3,6].

В свою очередь оксид азота, с одной стороны, способен замедлять Fe2+- индуцируемое перекисное окисление липидов, проявляя антиоксидантные свойства, а с другой стороны, при взаимодействии NO с анион-радикалом (O2 –) образуется высокоактивное соединение пероксинитрит (ONOO–), оказывающее повреждающее действие. Угнетение синтеза оксида азота, возможно, способно оказывать как прооксидантный, так и ан-

тиоксидантный эффект. Одним из антагонистов синтеза оксида азота является N-нитро- L-аргининметиловый эфир (L-NAME), представляющий собой неселективный ингибитор индуцибельной NO-синтазы[1].

Цель: изучить окислительную модификацию белков печени и почек крыс в условиях моделирования дефицита синтеза оксида азота (II).

Материалы и методы. Исследование проводили на 16 конвенциональных половозрелых крысах-самцах линии Wistar массой 280–320 граммов, которые были разделены на контрольную и экспериментальную группы. Экспериментальной группе (n = 8) ежедневно, в течение 7 дней внутрибрюшинно вводили L-NAME дозе 200 мг/кг [5]. Контрольной группе животных (n = 8) в те же сроки осуществляли внутрибрюшинное введение физиологического раствора. Содержание животных в виварии соответствовало «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник» от 06.04.1993. Все манипуляции с животными, в том числе и выведение из эксперимента осуществляли в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приказ Минздрава СССР № 755 от 12.08.1977 г.). Немедленно после выведения животного из эксперимента из тканипечени и почек получали чистую цитоплазматическую (неседиментируемую) фракцию, путём двойного ультрацентрифугирования, в которой и определяли окислительную модификацию белков. Окислительную модификацию белков оценивали по методу R.L. Levine в модификации Е.Е. Дубининой, после осаждения нуклеиновых кислот 10 %-м раствором стрептомицина сульфата [2]. Карбонильные производные окисленных белков регистрировали на спектрофотометре при следующих длинах волн: 254, 270, 280, 356 нм (альдегид-динитрофенилгидразоны нейтрального характера – АДНФГн), 363 и 370 нм (кетон-динитрофенилгидразоны нейтрального ха-рактера – КДНФГн), 428 и 430 нм (альдегид-динитрофенилгидразоны основного характера – АДНФГо) и 434, 524, 530, 535 нм (кетон-динитрофенилгидра-зоны основного характера КДНФГо). Перечисленные длины волн выбраны в соответствии с диапазонами, в которых регистрируются динитрофенилгидразоны. Из данных литературы известно, что для АДНФГн. спектр поглощения зарегистрирован в диапазоне 230–558 нм, АДНФГо – в диапазоне 258–264 и 428– 520 нм, для КДНФГн спектр поглощения 363–367 нм, КДНФГо – 430 – 434 и 524–535 нм[4]. По полученным значениям экстинкций строили спектр окислительной модификации белков и подсчитывали площадь под кривой, выраженной в условных единицах на грамм белка (у.е./г белка).

Для оценки достоверности различий независимых выборок использовали ранговый критерий Манна–Уитни (U-тест).

Результаты и их обсуждение. Из данных, приведённых на рисунке №1, следует, что под действием L-NAME в дозе 200 мг/кг уровень карбонильных производных уменьшается по сравнению с контролем. Важно отметить, что статистически значимое уменьшениединитрофенилгидразонов

отмечено в диапазонах 230 и 356нм, что составит площадь АДНФГн; 363 и 370 нм – площадь КДНФГн; 428 и 430 нм – площадь АДНФГо; 434 и 520 нм – площадь КДНФГо. Из этого следует, что снижениеобразование карбонильных производных белков, под действием L-NAME в дозе 200 мг/кг, является, следствием снижения синтеза оксида азота (II).

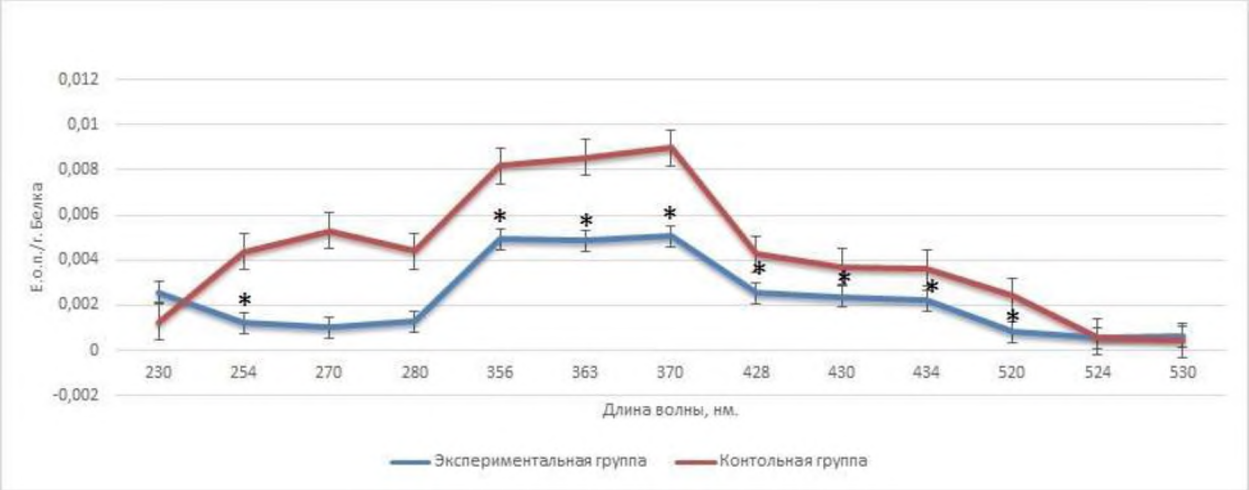


Рисунок 1. Спектр поглощения продуктов окислительной модификации белков печени крыс(*- статистически значимые различия от контрольной группы (p≤0,05))

Проанализировав спектр окислительной модификации белков почки крыс, мы получили аналогичную тенденцию: снижение уровня карбонильных производных по сравнению с контролем. Важно отметить, что статистически значимое уменьшение динитрофенилгидразонов отмечено на длинах волн 356 нм – что составит площадь АДНФГн; 363 и 370 нм – площадь КДНФГн; 428 – площадь АДНФГо; 434 – площадь КДНФГо. Это продемонстрированно на рисунке №2.

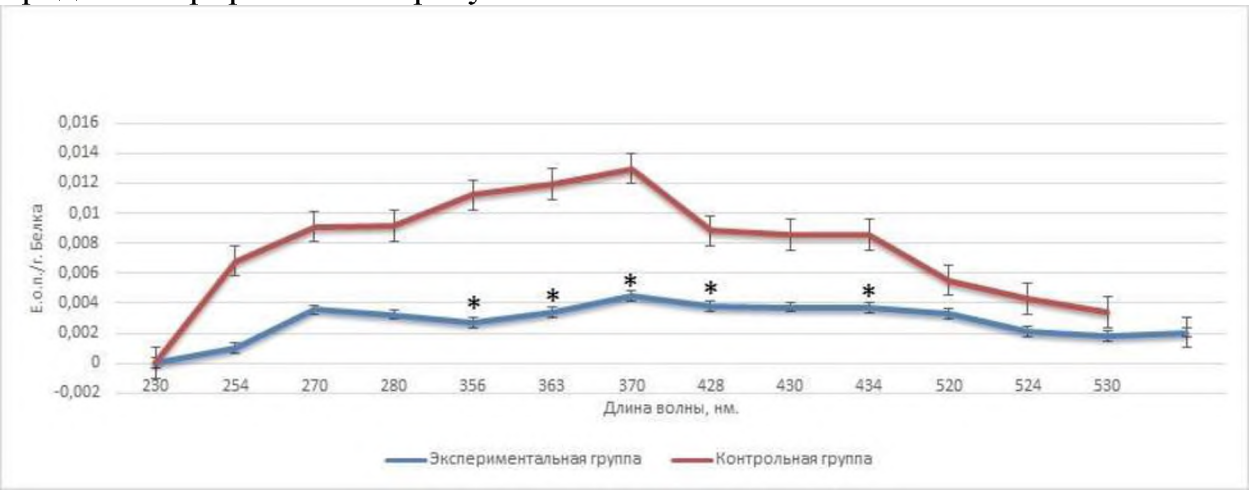


Рисунок 2. Спектрпоглощения продуктов окислительной модификации белков почек крыс (*- статистически значимые различия от контрольной группы (p≤0,05)).

Нами был сделан анализ площадей под кривой спектра поглощения ДНФГ-дериватов карбонильных производных белков контрольной и экспериментальной групп, данные предоставлены в таблице №1. Данные для печени и почек оказались противоположны по отношению друг к другу, это можно связать с различной функциональной деятельностью данных органов.

Таблица 1

Значение площадей под кривой спектра поглощения ДНФГ-дериватов карбонильных производных белков контрольной и экспериментальной групп

	Печень	Почки
Контрольная группа	19,900[16,168;21,055]	58,549[49,278;66,386]
Экспериментальная группа	63,604[28,617;85,080]*	29,542[22,569;57,036]*

*- *статистически значимые различия* ($p \leq 0,05$).

Выводы

1. Под действиемN-нитро-L-аргининметилового эфира наблюдается снижение уровня карбонильных производных белков печени и почки крыс.
2. В условиях экспериментальной модели дефицита синтеза оксида азотарезервно-адаптационный потенциал белков печени увеличивается, а почки – снижается.

Список литературы

1. Абаленихина Ю.В. Окислительная модификация белков и изменение активности катепсина L селезенки крыс в условиях моделирования дефицита синтеза оксида азота / Ю.В. Абаленихина, М.А. Фомина, С.А. Исаков // Российской медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2013. – №1. – С. 44-48.
2. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения / Е.Е. Дубинина [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24-26.
3. Лущак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В.И. Лущак // Биохимия. – 2007. – Т. 72, вып. 8. – С. 995-1017.
4. Фомина М.А. Способ комплексной оценки содержания продуктов окислительной модификации белков в тканях и биологических жидкостях: методические рекомендации / М.А. Фомина, Ю.В. Абаленихина; ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава. – Рязань: РИО РязГМУ, 2014. – 60 с.
5. Wang Zun-Yi. Role of nitric oxide (NO) in ocular inflammation / Zun-Yi Wang // British Journal of Pharmacology. – 1995. – Vol. 116. – P. 2447-2450.
6. Абаленихина Ю.В. Влияние модуляторов синтеза оксида азота на активность и аутопроцессинг катепсина в иммуно-компетентных органов крыс в усло-виях in vitro / Ю.В. Абаленихина, М.А. Фомина // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2014. – №1. – С. 53-60.

ИЗМЕНЕНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В МИТОХОНДРИЯХ ЭПИДИДИМИСА КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ СНИЖЕНИИ СИНТЕЗА NO (II)

В.И. Звягина, Э.С. Бельских, Д.В. Медведев
ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань,
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО

Резюме. В проведенном исследовании установлено, что при экспериментальном дефиците синтеза NO (II), достигаемого путем введения неселективного ингибитора NO-синтазL-N^G-нитроаргинина метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг, в митохондриях тканей головки и хвоста эпидидимиса статистически значимо ($p<0,05$) снижалась активность СДГ на 55% и 68%соответственно, ЛДГ на 78% и 92%, СОД на 16% и 43%, количество метаболитов NOсокращалось на 18% и 30%, содержание лактата увеличивалось на 43% и 35%, при этом в хвосте эпидидимиса на 25% уменьшалась доля связанного карнитина.

Ключевые слова: L-карнитин, NO, митохондриальная дисфункция, эпидидимис, L-NAME.

Актуальность. Известно, что ткани эпидидимиса вносят важный вклад в реализацию репродуктивной функции[14,9], а так же имеют специфичную для него высокую концентрацию L-карнитина, снижающуюся при состояниях, связанных с бесплодием у мужчин. Ввиду этого представляется целесообразным создание экспериментальных моделей сосудистых патологий на животных для исследования функционального состояния митохондрий даннойткани. Среди причин, способствующих развитию митохондриальной дисфункции, особую роль отводят как раз сосудистым заболеваниям, неотъемлемым атрибутом которых является снижение продукции оксида азота (II) (NO) и развитие эндотелиальной дисфункции [8,10,12,14].

В связи с этим целью настоящего исследования стало изучениеизменений биохимических показателей: содержания метаболитов оксида азота (II), лактата, эндогенного карнитина и активности митохондриальных оксидоредуктаз ткани эпидидимиса в условиях дефицита синтеза оксида азота.

Материалы и методы. Исследование проводилось на 16 крысах-самцах линии Wistar, массой 230-270 г. Крысы были разделены на 2 группы, каждая из которых включала по 8 животных. Первой группе ежедневно в течение 7 дней 1 раз в сутки внутрибрюшинно вводился L-N^G-нитроаргинина метиловый эфир (L-NAME) (производство «Sigma») – неселективный ингибитор NO-синтазы в дозе 25 мг/кг. Вторая группа служила контролем. Животным этой группы назначался 0,9% раствор NaClв соответствие со схемой введения экспериментальных групп. Выбор доз осуществлялся на основе литературных данных [6].

Из ткани придатка яичка с помощью гомогенизатора PotterS получали гомогенат и выделяли из него митохондрии методом дифференциального центрифугирования [7]. Осадок, содержащий митохондрии, ресуспен-

дировали в субстрате выделения и далее использовали для определения активности митохондриальных ферментов: лактатдегидрогеназы, сукцинатдегидрогеназы, митохондриальнойMn-зависимой супероксиддисмутазы, а также для измерения концентрации метаболитов NO, лактата и карнитина. Общее содержание белка по методу Лоури, лактата и ЛДГ в пробах измеряли с помощью стандартизированных диагностикумов Dia SyS Diagnostic Systems. Активность сукцинатдегидрогеназы (СДГ) определяли с помощью метода, основанного на определении восстановленного гексацианоферрата [7]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) исследовали при помощи метода, основанного на торможении реакции аутоокислениякверцитина [3]. Определение метаболитов NO проводили с помощью метода в модификации В.А. Метельской на ИФ-анализаторе StatFax 3200 [5]. Концентрацию карнитина в митохондриях головки и хвоста эпидидимиса крыс определяли по методу Wan L. и Hubbard R.W., основанному на образовании свободного KoASH, реагирующего неэнзиматически с 5,5-дитиобис-2-нитробензоатом (DTNB) с образованием окрашенного 5-тио-2-нитробензоата, интенсивность которого измеряли спектрофотометрически при λ = 410 нм [15]. Динамику концентрации карнитина исследовали, измеряя количество общего и свободного карнитина, вычисляя количество связанного карнитина по разнице между ними и определяя соотношение «связанный карнитин/общий карнитин».

Для выявления различий между независимыми группами использовали U-критерий Манна-Уитни с использованием программы StatPlus 2009. Уровень отличий рассматривался как статистически значимый при вероятности ошибки (p) < 0,05.

Результаты и их обсуждение. Исходя из полученных результатов, следовало, что L-NAME в дозе 25 мг/кг достоверно приводил к снижению концентрации метаболитов NO и вместе с тем достоверно повышал содержание лактата в митохондриях тканей эпидидимиса по сравнению с показателями животных контрольной группы. Под действием L-NAME в тканях придатка отмечалось снижение активности всех трех измеряемых оксидоредуктаз (табл. 1).

Как следует из таблицы 1, более выраженное снижение активности оксидоредуктаз отмечалось в митохондриях тканей хвоста: активности ЛДГ, СДГ, СОД снижались соответственно на 78%, 55%, 16% ($p<0,05$) и в митохондриях головки и на 92%, 68%, 43% ($p<0,05$) в митохондриях хвоста придатка.

Митохондриальная ЛДГ – это составная часть митохондриального-лактат-окисляющего комплекса, обеспечивающего дегидрирование лактата и одновременно транспорт образующегося пирувата в митохондрию [4]. В тканях придатка яичка обнаруживался прирост концентрации внутримитохондриальноголактата (на 43% в головке и на 35% в ткани хвоста эпидидимиса, $p<0,05$), что на фоне снижения активности измеряемой ЛДГ в митохондриях указывало на уменьшение потребления лактата митохондрия-

Таблица 1

Изменение показателей в тканях эпидидимиса в условиях моделирования L-NAME-индуцированного дефицита синтеза NO (II)
(Результаты представлены в виде медиана[квартиль 1; квартиль3])

	Головка эпидидимиса		Хвост эпидидимиса	
Исследуемые показатели/группы	NaCL 0,9% в/б	L-NAME 25 мг/кг в/б	NaCL 0,9%в/б	L-NAME 25 мг/кг в/б
Общий белок митохондриальной фракции, мг/мл	1[0,8;1,5]	2[1,9;2,3]*	1,7[1,5;2,0]	1,9[1,5;2,0]
Концентрация метаболитов NO (мкмоль /мг белка в пробе)	176[163;191]	144[131;148]*	165[153;183]	115[97;140]*
Концентрация лактата (мкмоль/мг белка	14[13;16]	20[17;22]*	17[14;21]	23[22;26]*
Активность ЛДГ (Ед/мг белка)	9[9;13]	2[2;3]*	12[11;20]	1[1;3]*
Активность СДГ (нмольсукцината/мин на г белка)	31[29;31]	14[11;15]*	38[29;52]	12[8;19]*
Активность СОД (оптическая плотность, у.е./мг белка)	6[6;7]	5[4;5]*	14[13;14]	8[7;10]*
Карнитин общий, мкмоль/мг белка ткани	83[67;95]	85[67;102]	50[43;52]	6[5;6]*
Карнитин свободный, мкмоль/мг белка ткани	60[46;70]	69[54;82]	29[25;31]	5[5;5]*
Карнитин связанный, мкмоль/мг белка ткани	23[20;26]	20[17;21]	19[18;21]	1[1;1]*
Соотношение карнитин свободный/ карнитин общий	0,29[0,28;0,3]	0,21[0,2;0,24]	0,42[0,38;0,43]	0,17[0,15;0,18]*

Примечание: NO – оксид азота (II), ЛДГ – митохондриальная лактат-дегидрогеназа, СДГ – сукцинатдегидрогенза, СОД – митохондриальная супероксиддисмутаза; достоверные результаты ($p<0,05$) группы L-NAME 25 мг/кг относительно контрольной группы отмечены*, достоверные результаты группы карнитина хлорид 300 мг/кг +L-NAME 25 мг/кг относительно группы L-NAME 25 мг/кг отмечены**

ми в качестве источника энергии. По данным ряда исследователей перемещение лактата в митохондрии и окисление его там является предпочтительным и определяет скорость выделения лактата из клетки [4]. В связи с этим допустимо предположение, что снижение процессов митохондриального окисления лактата при увеличении его внутримитохондриальной

концентрации в сравнении с показателями контрольной группы указывало на изменение метаболизма митохондрий тканей эпидимиса под действием L-NAME. Данные изменения характерны при активизации процессов анаэробного гликолиза, когда образуется избыточное количество лактата, который не может быть утилизирован митохондриями клетки.

Снижение активности СДГ в показателях животных опытной группы так же указывало на изменения метаболизма, характерного для анаэробного гликолиза, типичного для гипоксических состояний, когда снижается активность пируватдегидрогеназного комплекса, повышается соотношение NADH/NAD+ и уменьшается активность ферментов цикла трикарбоновых кислот.

Выраженность изменений концентрации карнитина и активности СОД в условиях воздействия L-NAME в головке и хвосте придатка различались, что позволяет говорить о различной способности митохондрий тканей эпидидимиса адаптировать свой метаболизм. Это проявлялось как более значительным снижением концентрации метаболитов NO и снижением активности СОД, так и более выраженными изменениями содержания карнитина в митохондриях тканей хвоста эпидидимиса (общее его количество достоверно снижалось на 88%, а соотношение связанный/свободный карнитин достоверно уменьшалось с 0,42 до 0,17, $p<0,05$).

Изменение концентрации эндогенного карнитина, возможно, свидетельствовало об адаптивном сдвиге в митохондриях ткани хвоста придатка, направленном на поддержание уровня процессов синтеза АТФ. Исходя из результатов, представленных в таблице 1, следовало, что в условиях анаэробного гликолиза в ткани хвоста изменения показателей карнитина, вероятно, указывали на ограничение возможностей митохондрий к β-окислению жирных кислот и выведение избытка токсичных ацильныхинтермедиатов из клетки в виде ацил-карнитинов [9,16]. В тоже время достоверное снижение концентрации общего карнитина в митохондриях ткани хвоста служило маркером развития репродуктивных нарушений [9].

СОД является частью антиоксидантной защиты митохондрии, снижение её активности могло быть обусловлено уменьшением продукции АФК на комплексах I, II и III [13]. По данным ряда исследователей уменьшение образование АФК, а, следовательно, и активности СОД, может наблюдаться в случае накопления АДФ [2,13]. Таким образом, если рассматривать активность СОД как косвенный показатель интенсивности клеточного дыхания, то можно сделать вывод о более выраженном увеличении концентрации АДФ и соответствующем снижении содержания АТФ в митохондриях тканей хвоста эпидидимиса по сравнению с головкой под действием L-NAME [2].

Таким образом, моделирование L-NAME индуцированной системной эндотелиальной дисфункции, вероятно, было связано с развитием гипоксических изменений в тканях придатка яичка и, исходя из полученных

данных, способствовало формированию условий, предрасполагающих к развитию митохондриальной дисфункции тканей хвоста эпидидимиса.

Выводы

1. При L-NAME индуцированном снижении концентрации метаболитов NO в митохондриях тканей эпидидимиса происходит статистически значимое уменьшение активности митохондриальныхоксидоредуктази накопление лактата, что указывает на развитие вторичной митохондриальной дисфункции.

2. Уменьшение концентрации метаболитов NO способно вызывать нарушение репродуктивной функции, на что указывает статистически значимое снижение содержание общего карнитина в митохондриях ткани хвоста придатка.

3. Изменения в условиях L-NAME индуцированного дефицита NO в митохондриях более выражены в тканях хвоста эпидидимиса, что, возможно, указывает на их меньший адаптивный потенциал по сравнению с митохондриями тканей головки при состояниях, связанных с развитием митохондриальной дисфункции.

Список литературы

1. Граник В.Г. Оксид азота (NO). Новый путь к поиску лекарств: монография / В.Г. Граник, Н.Б. Григорьев. – М.: Вузовская книга, 2004. – 360 с.
2. Гривенникова В.Г. Генерация активных форм кислорода митохондриями / В.Г. Гривенникова, А.Д. Виноградов // Успехи биологической химии. – 2013. – № 53. – С. 245-296.
3. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения активности супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцитина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалева // Вопросы мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88-91.
4. Мещерякова О.В. Митохондриальныйлактат-окисляющий комплекс и его значение для поддержания энергетического гомеостаза клеток / О.В. Мещерякова, М.В. Чурова, Н.Н. Немова // Современные проблемы физиологии и биохимии водных организмов: сборник научных статей. – Петрозаводск: Карельский научный центр РАН, 2010. – С. 163-172. – Т. 1: Экологическая физиология и биохимия водных организмов.
5. Метельская В.А. Скрининг-метод определения уровня метаболитов оксида азота в сыворотке / В.А. Метельская, Н.Г. Гуманова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2005. – № 6. – С. 15-18.
6. Эндотелиопротекторные эффекты L-аргинина при моделировании дефицита окиси азота / М.В. Покровский [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 2. – С. 29-31.
7. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 327 с.

8. Урясьев О.М. Роль оксида азота в регуляции дыхательной системы / О.М. Урясьев, А.И. Рогачикова // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2014. – №2. – С. 133-140.
9. Agarwal A. Carnitines and male infertility / A. Agarwal // Reproductive Bio Medicine Online. – 2004. – Vol. 8, № 4. – P. 376-384.
10. Marcovina Santica M. Translating the basic knowledge of mitochondrial functions to metabolic therapy: role of L-carnitine / Santica M. Marcovina, Cesare Sirtori, Andrea Peracino // The journal of laboratory and clinical medicine. – 2012. – P. 73-84.
11. Mailloux Ryan J. Teaching the fundamentals of electron transfer reactions in mitochondria and the production and detection of reactive oxygen species / Ryan J. Mailloux // Redox Biology. – 2015. – Vol. 4. – P. 381-398.
12. Altered carnitine homeostasis is associated with decreased mitochondrial function and altered nitric oxide signaling in lambs with pulmonary hypertension / S. Sharma [et al.] // Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol. – 2008. – Vol. 294. – P. 46-56.
13. Dröse Stefan. Differential effects of complex II on mitochondrial ROS production and their relation to cardioprotective pre- and postconditioning / Stefan Dröse // Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Bioenergetics. – 2013. – Vol. 1827, № 5. – P. 578-587.
14. Visioli F.Antioxidants to enhance fertility: role of eNOS and potential benefits / F.Visioli, T.M. Hagen // Pharmacol Res. – 2011. – Vol. 64, № 5. – P. 431-437.
15. Wan L. Rapid assay for free carnitine measurement in plasma / L. Wan, R.W. Hubbard // Clin Chem. – 1995. – Vol. 41, № 6. – P. 159.
16. Miyata Yugo. Metabolic flexibility and carnitine flux: The role of carnitineacyltransferase in glucose homeostasis / Yugo Miyata, Iichiro Shimomura // J Diabetes Investig. – 2013. – Vol. 4, № 3. – P. 247-249.

АКТИВНОСТЬ ЦИСТЕИНОВЫХ ПРОТЕИНАЗ И ИХ ЭНДОГЕННЫХ ИНГИБИТОРОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

О.А. Ходос
УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Республика Беларусь, г. Витебск, кафедра органической химии

Реферат. В работе показано влияние хронической алкогольной интоксикации на активность цистеиновых протеаз и их эндогенных ингибиторов в ткани головного мозга. Установлено, что при хронической алкогольной интоксикации длительностью 16 недель происходит снижение активности цистеиновых протеиназ в ткани головного мозга на 38,69 % (p=0,029), тогда как через 24 часа после отмены этанола наблюдается увеличение их активности на 78,06 % (p=0,001). Активность эндогенных ин-

гибиторов цистеиновых протеиназ в ткани головного мозга крыс при хронической алкогольной интоксикации и отмене этанола не отличалась от контроля (p=0,356; p=0,538).

Ключевые слова: этанол, цистеиновые протеиназы, ингибиторы, головной мозг.

Актуальность. Злоупотребление алкоголем является одним из ведущих рисков для здоровья человечества, поэтому выяснение механизмов действия этанола на организм и патогенеза алкогольной зависимости остается актуальной медико-биологической проблемой[1, 2, 3]. Одной из главных мишеней повреждающего действия алкоголя в организме является центральная нервная система[4, 5], в поддержании стабильности функционирования которой важную роль играют цистеиновые протеиназы, осуществляющие деградацию и регуляцию кругооборота белков цитоскелета [6, 7].Цистеиновые протеиназы также принимают участие в гидролизе гистонов и протамина ткани головного мозга [8], расщепляют основный белок миелина с образованием множества фрагментов [9]**.** Бесконтрольная активация протеолитических ферментов может выступать ключевым фактором в развитии алкогольного поражения головного мозга [10. 11, 12]. Однако особенности изменения активности цистеиновых протеаз при алкогольной интоксикации изучены недостаточно.

Цель: исследовать активность цистеиновых протеаз и их эндогенных ингибиторов в ткани головного мозга крыс при хронической интоксикации этанолом.

Материалы и методы. Эксперименты выполнены на самцах крыс линии «Wistar». Хроническая алкогольная интоксикация достигалась путем предоставления животным опытных групп 30% раствора этанола в качестве единственного источника питья в течение 16 недель [13]. Крысы контрольной группы в качестве источника питья получали водопроводную воду. Животных выводили из эксперимента после потребления раствора этанола в состоянии алкогольного опьянения и через 24 часа после отмены доступа животных к раствору этилового спирта [14, 15].

Активность протеолитических ферментов и их эндогенных ингибиторов в экстракте ткани головного мозга крыс определяли спектрофотометрически по интенсивности расщепления высокостабильного в растворе, низкомолекулярного хромогенного субстрата N-α-бензоил-D,L-аргинин-паранитроанилида (БАПНА). Активность протеиназ была пропорциональна количеству образующегося в результате расщепления субстрата паранитроанилина, окрашенного в желтый цвет и имеющего максимум поглощения светового потока при спектрофотометрии в диапазоне 383 – 410 нм. В основу методики определения активности эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ был положен метод LenneyJ.F. [16]. Измерения оптической плотности контрольных и опытных проб осуществляли против дистиллированной воды на спектрофотометре СФ-46. При расчете активности протеолитических ферментов и их эндогенных ингибиторов учитывали разведение ис-

ходного материала. Статистическую обработку полученных результатов проводили с помощью пакета прикладных компьютерных программ. Данные представляли в виде медианы и доверительного интервала.

Результаты и их обсуждение. Выявлено, что активность цистеиновых протеиназ в контрольной группе животных составляла 8,89 нмоль/ч·мг белка (доверительный интервал 3,33 – 13,82 нмоль/ч·мг белка). При хронической алкогольной интоксикации активность цистеиновых протеиназ соответствовала 5,45 нмоль/ч·мг белка (доверительный интервал 4,09 – 7,81 нмоль/ч·мг белка), а в период отмены этанола – 15,83 нмоль/ч·мг белка (доверительный интервал 10,26 – 22,96 нмоль/ч·мг белка). Обнаружено снижение активности цистеиновых протеиназ в экстрактах ткани головного мозга крыс на 38,69 % при хронической алкогольной интоксикации в течение 16 недель ($p=0,029$) и увеличение их активности по сравнению с контрольной группой на 78,06 % при отмене алкоголя ($p=0,001$).

Активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ в контрольной группе составила 8,98 нмоль/ч·мг белка (доверительный интервал 4,64 – 12,48 нмоль/ч·мг белка). При хронической алкогольной интоксикации активность ингибиторов цистеиновых протеиназ соответствовала 14,90 нмоль/ч·мг белка (доверительный интервал 3,33 – 19,15 нмоль/ч·мг белка), в период формирования синдрома отмены этанола – 10,76 нмоль/ч·мг белка (доверительный интервал 5,99 – 15,14 нмоль/ч·мг белка). Различия активности эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ не были статистически значимыми по сравнению с контрольной группой экспериментальных животных как при хронической интоксикации этиловым спиртом ($p=0,356$), так и в период отмены алкоголя ($p=0,538$).

Таким образом, активность цистеиновых протеиназ при хронической интоксикации этанолом длительностью 16 недель снижалась на 38,69 %, а при отмене алкоголя значительно возрастала, тогда как изменение активности их эндогенных ингибиторов не являлось статистически значимым. Снижение активности цистеиновых протеиназ при хронической алкогольной интоксикации может быть связано с известной способностью этанола повышать уровень pH внутри лизосом [17]. Смещение лизосомального pH в щелочную область, вероятно, способствует снижению активности кислых цистеиновых протеиназ при интоксикации этанолом.Повышение активности цистеиновых протеиназ после отмены этанола и нарушение протеиназо-ингибиторного баланса способно привести к выраженным деструктивным процессам, что в свою очередь может явиться одной из причин алкогольного поражения головного мозга.

Выводы

1. При хронической алкогольной интоксикации длительностью 16 недель активность цистеиновых протеиназ в ткани головного мозга снижается на 38,69 % ($p=0,029$), через 24 часа после отмены этанола активность цистеиновых протеиназ увеличивается на 78,06 % ($p=0,001$).

2. Активность эндогенных ингибиторов цистеиновых протеиназ в ткани головного мозга крыс не отличается от уровня контроля как при хронической алкогольной интоксикации, так и при отмене этанола (p=0,356; p=0,538).

Список литературы

1. Айзберг О.Р. Диагностика и лечение алкогольной зависимости / О.Р. Айзберг, А.А. Александров. – Минск: БелМАПО, 2007. – 22 с.
2. Новые возможности лечения алкогольной болезни. Перспективы применения Цереброкурина / И.Ф. Беленичев [и др.] // Международный неврологический журнал. – 2009. – № 1. – С. 166-180.
3. Особенности поражения периферических нервов и скелетных мышц у женщин на фоне хронической алкогольной интоксикации / Н.С. Щеглова [и др.] // Медицинский совет. – 2013. – № 4. – С. 64-68.
4. Fadda F. Long-term voluntary ethanol consumption affects neither spatial nor passive avoidance learning, nor hippocampal acetylcholine release in alcohol-preferring rats / F. Fadda, S. Cocco, R. Stancampiano // Behavioural brain research. – 1999. – Vol. 103, № 1. – P. 71-76.
5. Feng H.J. The effects of chronic ethanol administration on amygdala neuronal firing and ethanol withdrawal seizures / H.J. Feng, C.L. Faingold // Neuropharmacology. – 2008. – Vol. 55, № 5. – P. 648-653.
6. Локшина Л.А. Протеиназы плазматической мембраны лимфоидных клеток / Л.А. Локшина // Биоорган. химия. – 1994. – Т. 20. – С. 134-142.
7. Immunoblot Analyses of the Relative Contributions of Cysteine and Aspartic Proteases to Neurofilament Breakdown Products Following Experimental Brain Injury in Rats / R.M. Posantur [et al.] // Neurochemical Research. – 1998. – Vol. 23, № 10. – P. 1265-1276.
8. Cystatin C induces apoptosis and tyrosine hydroxylase gene expression through JNK-dependent pathway in neuronal cells / X.Y. Liang [et al.] // Neuroscience Letters. – 2011. – Vol. 496, № 2. – P. 100-105.
9. Азарян А.В. Пептидгидролазы нервной системы и их биологические функции / А.В. Азарян. – Ереван, 1989. – 208 с.
10. Inhibitory effect of a brain derived peptide preparation on the Ca^{++} – dependent protease, calpain / R. Wronski [et al.] // J. Neural. Transm. – 2000. – Vol. 107, № 2. – P. 145-157.
11. Rajgopal Y. Calpain activation and alpha-spectrin cleavage in rat brain by ethanol / Y. Rajgopal, M.C. Vemuri // Neurosci Lett. – 2002. – Vol. 321, № 3. – P. 187-191.
12. Shukla M. Activation of calpains, calpastatin and spectrin cleavage in the brain during the pathology of fatal murine cerebral malaria / M Shukla, Y. Rajgopal, P.P. Babu // NeurochemInt. – 2006. –Vol. 48, № 2. – P. 108-113.
13. Попова Э.Н. Изменение нейронов хвостатого ядра при экспериментальном алкоголизме / Э.Н. Попова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 1997. – №7. – С. 66-69.

14. Collins M.A.Neuroinflammatory pathways in binge alcohol-induced neuronal degeneration: Oxidative stress cascade involving aquaporin, brain edema, and phospholipase A2 activation/ M.A. Collins, E.J. Neafsey // Neurotoxicity Research. – 2012. – Vol. 21, № 1. – P. 70-78.
15. Ieraci A. Single alcohol exposure in early life damages hippocampal stem/progenitor cells and reduces adult neurogenesis / A. Ieraci, D. G. Herrera // Neurobiology of Disease. – 2007. – Vol. 26, № 3. – P. 597-605.
16. Thermostable endogenous inhibitors of cathepsins B and H / JF. Lenney [et al.] // Eur J Biochem. – 1979. – Vol. 101, № 1. – P. 153-161.
17. Intracellular Proteolytic Systems in Alcohol-Induced Tissue Injury / M. Terrence [et al.] // Alcohol Research and Health. – 2003. – Vol. 27, № 4. – P. 317-324.

ИЗМЕНЕНИЕ АКТИВНОСТИ ЛИЗОСОМАЛЬНОГО ЦИСТЕИНОВОГО ПРОТЕОЛИЗА МИОКАРДА КРЫС ПРИ ТЯЖЕЛОЙ ФОРМЕ ГОМОЦИСТЕИНЕМИИ

А.С. Ильичева, М.А. Фомина
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань

Резюме. Изучена активность лизосомальных цистеиновых протеаз (катепсинов L, H), кислой фосфатазы миокарда крыс в условиях экспериментальной гомоцистеинемии выраженной степени. Обнаружено выраженное статистически значимое нарастание содержание гомоцистеина в крови у животных экспериментальной группы относительно контрольной, увеличение активности катепсина H за счет лизосомальной и внелизосомальной фракций в сочетании с нарастанием доли секреторной активности фермента на фоне пермеабилизации лизосомальной мембраны.

Ключевые слова: катепсин L, H, сердечная мышца, гипергомоцистеинемия, проницаемость лизосомальной мембраны.

Актуальность. Скорость и эффективность обмена гомоцистеина-метаболита незаменимой аминокислоты метионина- зависит от объема пищевого метионина, содержания фолиевой кислоты, витаминов B_6 и B_{12}, количества в клетках S–аденозилметионина [1]. Внутриклеточное накопление гомоцистеина приводит к повышению его содержания в крови, что влечет за собой развитие тромбоваскулярных осложнений [2], коронарного и церебрального атеросклероза, инфаркта миокарда и мозговых инсультов [3]. В патогенезе развития данных патологий в настоящее время существенная роль отводится лизосомальным цистеиновым протеиназам [4], к функциям которых относятся разрушение состарившихся и аномальных белков; участие в фагоцитозе и делении клетки, апоптозе [1]. Описана роль катепсинов в развитии воспаления, опухолевого роста, метастазировании, атеросклероза, ревматоидного артрита [5]. Важнейшей особенностью дан-

ной группы протеаз является их способность к секреции [6], благодаря которой осуществляется протеолиз компонентов внеклеточного матрикса.

Таким образом, актуальным является изучение лизосомального цистеинового протеолиза в миокарде при выраженной гипергомоцистеинемии.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 16 белых конвекциональных крысах-самцах линии Wistar массой 280-320 г, содержавшихся в типовых условиях вивария. Моделирование тяжелой формы гомоцистеинемии осуществляли путем ежедневного внутрижелудочного введения животным (n=8) два раза в сутки суспензии метионина в дозе 1.5 г на 1 килограмм массы тела в течение 21 дня. В своем составе суспензия содержала (по массе) 25% метионина, 65% 1%-ного водного раствора крахмала, 10% твина 80. Вместо воды животные получали 1%-раствор метионина [7]. В качестве контроля использовали группу животных (n=8), получавших в течение 21 дня суспензию, не содержащую метионин (состав по массе: 10% твина-80, 1% крахмала, 89% воды).

Содержание гомоцистеина в сыворотке крови осуществляли методом иммуноферментного анализа с использованием коммерческого набора компании AxisShield, США.

Немедленно после выведения животного из эксперимента точную навеску сердечной мышцы помещали в холодный 0,25 М раствор сахарозы в соотношении 1/100 и гомогенизировали в течении 60 секунд при 1500 об/мин в гомогенизаторе PotterS, при температуре не выше 4^0С. Полученный гомогенат центрифугировали 10 мин при 1000 g для осаждения не полностью разрушенных клеток и ядер. Для удаления митохондрий надосадочную жидкость центрифугировали в течении 15 мин при 14000 g. После, полученный супернатант центрифугировали дополнительно при 20000 g в течении 30 минут для получения чистой цитоплазматической неседиментируемой фракции. Седиментируемую фракцию (осадок грубой фракции лизосом) ресуспендировали в 0,25 М сахарозе с добавлением Тритона Х-100 в конечной концентрации 0,1%.

Активность катепсинов L, H определяли спектрофлуориметрическим методом по A.J. Barret и H. Kirshke[8] раздельно в седиментируемой и неседиментируемой фракциях и обозначали как седиментируемую и неседиментируемую активность (СА и НСА) соответственно.

Для оценки стабильности лизосомальной мембраны использовали коэффициент лабильности ($К_{лаб}$), рассчитываемый как процентное соотношение активности лизосомального фермента во внелизосомальной (неседиментируемой) фракции к общей активности (ОА), представляющей собой сумму НСА и СА для данного фермента [9] и показывающий проницаемость мембраны лизосомы, распределение катепсинов L и H между первичными и вторичными лизосомами.

Маркером лабилизации лизосомальных мембран послужила активность кислой фосфатазы (КФ) [10], которую измеряли унифицированным методом по «конечной точке», с помощью коммерческого набора «Витал Диагностикс СПб».

Степень секреции лизосомальных катепсинов оценивали, используя показатель доли секретируемой активности лизосомальных цистеиновых протеиназ W_{secr}[11], рассчитываемый путем сопоставления коэффициентов лабильности кислой фосфатазы и соответствующего катепсина.

Статистический анализ данных проводили с использованием программного обеспечения MicrosoftExcel и программы Statistika 10. Для каждой выборки рассчитывали медиану (Me), верхний и нижний квартили [Q1;Q3]. Статистическую значимость отличий показателей экспериментальной группы от группы сравнения оценивали по U – критерию Манна – Уитни.

Результаты и их обсуждение. При сопоставлении содержания гомоцистеина в сыворотке крови обнаружено выраженное статистически значимое нарастание показателя у животных экспериментальной группы относительно контрольной (293,1 [273,1; 318,2] мкмоль/л против 5,9 [5,5; 6,7] мкмоль/л соответственно, ($p<0,05$).

Активность катепсина L (табл.1) лизосомальной и цитоплазматической фракций миокарда при выраженной гипергомоцистеинемии не претерпела статистически значимых изменений относительно контроля. Одновременно, активность катепсина H (табл.1) в экспериментальной группе оказалась статистически значимо выше по сравнению с контрольной; указанные изменения касались лизосомальной и цитоплазматической фракций гомогената сердечной мышцы.

Нарастание активности лизосомального фермента в цитоплазматической фракции может быть вызвано общей лабилизацией лизосомальной мембраны, а также селективным выходом конкретного фермента в цито золь по механизму секреции. Для различия указанных явлений был предпринят анализ показателей коэффициента лабильности (Клаб%) и доли секреторной активности катепсина (W_{secr}). Показатель Клаб% нарастал в экспериментальной группе относительно контроля как для изучаемых катепсинов, так и для маркерного фермента лизосом – кислой фосфатазы (таблица 1, 2), однако только для катепсина H эти изменения оказались статистически значимыми. Тем не менее, обнаружение на этом фоне в экспериментальной группе статистически значимого нарастания активности кислой фосфатазы в цитоплазматической фракции (табл. 2), позволяет говорить о наличии феномена лабилизации лизосомальных мембран сердечной мышцы при тяжелой форме гомоцистеинемии. Также обнаружено статистически значимое нарастание показателя W_{secr} для катепсина H. Это позволяет предположить, что гипергомоцистеинемия вызывает не только повышение активности фермента, но и увеличение степени его секреции сквозь лизосомальную мембрану[12,13].

Выводы

1. Выраженная гипергомоцистеинемия сопровождается статистически значимым повышением активности катепсина H как в лизосомальной, так и в цитоплазматической фракциях без изменений активности катепсина L.

Таблица 1

Активность катепсиновL, H в сердечной мышце
при выраженной гипергомоцистеинемии (Me[Q1;Q3])

		КатепсинL нмоль/сxг белка	Катепсин H нмоль/сxг белка
Контроль n=6	*НСА*	0,011[0,007;0,015]	0,016 [0,013;0,019]
	СА	1,730[0,980;2,000]	1,276[1,096;1,858]
	ОА	1,700[1,000;2,010]	1,289[1,113;1,880]
	Клаб%	0,73[0,36;1,17]	1,18[1,06;1,29]
	W_{secr}	-2,17[-4,35;-1,31]	-2,59[-4,13;-2,41]
Гипергомоцистеинемия n=6	*НСА*	0,021[0,019;0,026]	0,111[0,106;0,118]*
	СА	1,064[0,840;1,370]	3,633[3,248;3,987]*
	ОА	1,100[0,860;1,380]	3,751[3,409;4,094]*
	Клаб%	2,54[1,77;3,30]	3,15[2,68;3,47]*
	W_{secr}	-20,24[-35,44;6,46]	-1,73[-1,96;-1,69]*

Примечание:
* -статистически значимые отличия от контрольной группы (p<0,05).

Таблица 2

Изменение активности кислой фосфатазы
при выраженной гипергомоцистеинемии (Me[Q1;Q3])

		Кислая фосфатаза, нмоль/сxг белка
Контрольная группа n=6	НСА	3,397[2,853;3,701]
	СА	98,996[57,332;140,183]
	ОА	102,119[60,466;143,765]
	Клаб%	3,277[2,593;5,274]
Гипергомоцистеинемия n=6	НСА	6,982[6,012;7,64]*
	СА	79,77[67,13;83,98]
	ОА	86,75[71,62;89,99]
	Клаб%	8,04[6,68;8,21]

Примечание: * -статистически значимые отличия от контрольной группы (p<0,05)

2. Нарастание значений коэффициентов лабильности и статистически значимое повышение активности кислой фосфатазы в цитоплазматической фракции свидетельствуют о наличии феномена лабилизации лизосомальных мембран.

3. Статистически значимое повышение активности катепсина H в цитоплазматической фракции при выраженной гипергомоцистеинемии вызывается не только повышением общей проницаемости лизосомальной мембраны, но и возрастанием доли секреции указанного фермента.

Список литературы

1. Костюченко Г.И. Гипергомоцистеинемия: клиническое значение, возрастные особенности, диагностика и коррекция / Г.И. Костюченко // Клинич. геронтология. – 2007. – Т. 13, №4. – С. 32-40.
2. Гипергомоцистеинемия в клинической практике / В.С. Ефимов [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2013. – 80 с.

3. Маслов А.П. Гипергомоцистеинемия и повышенный риск сердечно – сосудистых осложнений у больных ИБС с атерогенной гиперхолестеринемией / А.П. Маслов, А.Т. Тепляков, А.В. Кузнецова // Сиб. мед. журн. – 2009. – № 4, вып. 9. – С. 25-30.
4. Cathepsin cysteine proteases in cardiovascular disease / S.P.M. Lutgens [et al.] // The FASEB Journal. – 2007. – Vol. 21. – P. 3029-3041.
5. Васильева О.С. Комплексное участие цистеиновых катепсинов в раковой прогрессии / О.С. Васильева; Ин-т им. И. Стефана (Любляна, Словения) // Электрон. науч. журнал «ИССЛЕДОВАНО В РОССИИ». – 2009. – С. 677-685. – Режим доступа: http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2009/055.pdf
6. Secreted cathepsin L generates endostatin from collagen XVIII / U. Felbor [et al.] // EMBO J. – 2000. – Vol. 19, № 6. – P. 1187-1194.
7. Медведев Д.В. Способ моделирования тяжелой формы гипергомоцистеинемии у крыс / Д.В. Медведев, В.И. Звягина, М.А. Фомина // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2014. – №4. – С. 42-46.
8. Barret A.J. Cathepsin B, Cathepsin H, Cathepsin L / A.J. Barret, H. Kirshke // Methodsin Enzymol. – 1981. – Vol. 80. – P. 535-561.
9. Покровский А.А. Лизосомы / А.А. Покровский, В.А. Тутельян. – М.: Наука, 1976. – 378 с.
10. Lysosomal Labilization / A. Terman[et al.] // IUBMB Life. – 2006. – Vol. 58, № 9. – P. 531-539.
11. Заявка 2013 125 639 (037767) РФ, МПКG01N 33/68. Способ оценки степени секреции лизосомальных цистеиновых протеиназ / М.А.Фомина, Ю.В. Абаленихина; ГБОУ ВПО РязГМУ им. акад. И.П. Павлова. – Заявл. 03.06.2013.
12. Пупышев А.Б. Пермеабилизациялизосомальных мембран как апоптогенный фактор / А.Б. Пупышев // Цитология. – 2011. – Т. 53, №4. – С. 319-324.
13. Ильичева А.С. Характеристика продуктов окислительного повреждения белков миокарда на фоне гипергомоцистеинемии / А.С. Ильичева, М.А. Фомина, Д.В. Медведев // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2014. – №4. – С. 37-43.

РАЗДЕЛ 2
ИЗУЧЕНИЕ БИОХИМИЧЕСКИХ АСПЕКТОВ ПАТОГЕНЕЗА ЗАБОЛЕВАНИЙ В КЛИНИЧЕСКИХ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ИССЛЕДОВАНИЯХ

БИОХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ОЖОГОВОЙ ТРАВМЕ В ПОСТМОРТАЛЬНОМ ПЕРИОДЕ

П.А. Акимов[1,2], Н.А. Терехина[1]
ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера» Минздрава России, г. Пермь (1)
ГКУЗОТ «Пермское краевое бюро судебно-медицинской экспертизы» (2)

Резюме. Исследована сыворотка трупной крови 19 лиц, скончавшихся от термических ожогов и 36 от сердечной патологии. Резко повышенное содержание пептидов «средней молекулярной массы» свидетельствует о развитии синдрома эндогенной интоксикации. Количественное содержание фибриногеновой фракции и результаты паракоагуляционных тестов позволяют проводить постмортальную диагностику ДВС-синдрома, что указывает на наличие шокового состояния на момент наступления смерти.

Ключевые слова: фибриноген, креатинин, пептиды «средней молекулярной массы», ожоговая травма.

Актуальность. Ожоговая травма составляет до 10% среди всех травм и сопровождается высокой смертностью. В остром периоде смерть наступает от ожогового шока, в более позднем – от развития интоксикации. Одним из показателей шока – нарушения и угасания всех функций организма – является наличие синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания (ДВС-синдрома). Для прижизненной диагностики ДВС-синдрома используется ряд показателей [1, 2], в том числе и определение фибриногена. Однако, эти методы не могут быть использованы при исследовании трупной крови.

Для постмортальной диагностики ДВС-синдрома предложено использовать сульфитолизный метод определения фибриногеновой фракции и проведение ряда паракоагуляционных тестов – этанолового, протаминсульфатного и β-нафтолового [3, 4]. В динамике развития ДВС-синдрома отмечают следующие изменения: содержание фибриногеновой фракции вначале (в 1 стадии) резко увеличивается, а затем (в 3 стадии) резко снижается. Паракоагуляционные тесты с развитием тяжести синдрома увеличиваются [3].

Определение пептидов «средней молекулярной массы» (ПСММ) используется как маркер диагностики эндогенной интоксикации. Ранее нами было показано, что этот показатель может быть использован для диагностики эндогенной интоксикации в постмортальном периоде [5]. Повышение креатинина в сыворотке крови – признак почечной недостаточности.

Содержание креатинина в трупной крови не зависит от места забора крови и длительности постмортального периода [6, 7].

Цель данной работы – выявить характерные биохимические показатели сыворотки крови для постмортальной дифференциальной диагностики ожогового шока и ожоговой болезни.

Материалы и методы. Проведено исследование сыворотки трупной крови 19 лиц, скончавшихся в результате термических ожогов. В первую группу были включены 9 пострадавших в результате острой ожоговой травмы, скончавшихся в машине «скорой помощи», в приемном отделении или в реанимации в первые сутки после получения травмы (ожоговый шок). Во вторую группу были включены 10 человек, скончавшихся в ожоговом отделении стационара в результате ожоговой болезни. Причиной смерти этих пациентов стала эндогенная интоксикация с развитием почечной недостаточности. В качестве контроля исследована сыворотка трупной крови 36 лиц, скончавшихся от сердечной патологии (инфаркт миокарда). Постмортальный период составил от 1 до 5 суток. Для получения сыворотки кровь центрифугировали 20 мин при 200 g.

Определение фибриногеновой фракции проводили сульфитно-щелочным методом Rampling M.W., Gaffney P.I. [8] в нашей модификации [3, 4, 9]. Определение растворимых комплексов мономер-фибрина (РКМФ) проводили паракоагуляционными тестами – этаноловым и протамин-сульфатным [10]. Определение пептидов «средней молекулярной массы» проводили модифицированным спектрофотометрическим методом [11, 12], Определение содержания креатинина проводили методом Яффе с депротеинизацией [11].

Результаты и их обсуждение. В случаях смерти в результате острой ожоговой травмы содержание фибриногеновой фракции оказалось почти на порядок выше ($p< 0,01$), чем при ожоговой болезни, что указывает на наличие шокового состояния на момент наступления смерти (табл. 1). Полученные результаты согласуются с литературными данными о развитии ДВС-синдрома при жизни в острый период ожоговой травмы [13]. Содержание фибриногеновой фракции при ожоговой болезни соответствовало нормальному содержанию в трупной крови [3]. Наступление смерти в этой группе пострадавших связано с развитием синдрома эндогенной интоксикации, обусловленного усиленным распадом белковых структур, и развитием почечной недостаточности.

В 16 случаях (44%) содержание фибриногеновой фракции в крови контрольной группы было до 10 г/л. Считается, что ДВС-синдром при инфаркте миокарда развивается в 100% случаев [1, 15]. Известно, что острый ишемический приступ развивается в первые 15 минут, в дальнейшем наступает стадия реперфузии, которая тоже приводит к еще большему поражению миокарда [16], но человек может выжить и такие люди попадают в стационар. Таким образом, развитие ДВС-синдрома при наступлении смерти от сердечной патологии обусловлено в большинстве случаев наличием кардиогенного шока.

Таблица 1

Биохимические показали трупной крови при термических ожогах

	Фибриногеновая фракция (г/л)	Пептиды средней молекулярной массы (г/л)	Креатинин (мкмоль/л)
	M ± m min – Max	M ± m min – Max	M ± m min – Max
Контроль	16,6 ± 1,9 (0,0 – 38,8)	2,16 ± 0,09 (0,30 – 2,85)	183 ± 7 (102 – 226)
Острая ожоговая травма (шок)	21,6 ± 4,6 (10,1 – 49,0)	3,42 ± 0,35 (2,30 – 4,52)	317 ± 91 (94 – 719)
p	> 0,2	< 0,01	< 0,001
Ожоговая болезнь	2,9 ± 1,2 (0,0 – 9,6)	5,63 ± 1,05 (3,32 – 10,18)	423 ± 66 (207 – 706)
p	< 0,001	< 0,01	< 0,001
p1	< 0,001	> 0,05	> 0,2

p – по сравнению с контролем, p1 – по сравнению с ожоговым шоком.

При сульфитолизном методе специфически осаждаются молекулы фибриногена и родственные ему молекулы, в структуре которых есть цепи и фрагменты распада фибриногена [8]. При этом происходит осаждение и других белковых фракций крови [9]. Считается, что содержание фибриногеновой фракции сыворотки трупной крови данным методом составляет до 12 г/л [3]. В наших исследованиях только в 2 случаях при острой ожоговой травме содержание этой фракции было ниже указанной величины. Нормальное содержание фибриногеновой фракции в трупной крови оказалось до 10 г/л (табл. 1). Протамин-сульфатный тест оказался положительным только в 1 случае – при острой ожоговой травме. Этаноловый тест был положительным в одном случае – при сердечной патологии.

Наличие синдрома эндогенной интоксикации устанавливали по уровню ПСММ и креатинина в трупной крови. При этом необходимо отметить, что содержание ПСММ в сыворотке крови контрольной группы соответствует показателям живых людей (до 2,9 г/л), а содержание креатинина увеличено в два раза (до 230 мкмоль/л) [5, 7, 14]. Не получено достоверных отличий в содержании креатинина и ПСММ в сыворотке крови при острой ожоговой травме и при ожоговой болезни (табл. 1). Вместе с тем, при ожоговой болезни синдром эндогенной интоксикации установлен в 100%, а при острой ожоговой травме в 50% случаев (при обширных поражениях – до 90% поверхности тела).

Выводы. Количественное содержание фибриногеновой фракции сыворотки крови более 10 г/л и результаты паракоагуляционных тестов позволяют проводить постмортальную диагностику ДВС-синдрома. Это указывает на наличие шокового состояния на момент наступления смерти, что характерно для острой ожоговой травмы.

Резко повышенное содержание пептидов «средней молекулярной массы» и креатинина свидетельствует о наличии синдрома эндогенной интоксикации, что наблюдается при развитии ожоговой болезни.

Список литературы

1. Баркаган З.С. Геморрагические заболевания и синдромы / З.С. Баркаган. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 1988. – 528 с.
2. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови / В.Г. Лычев. – 2-е изд., перераб. и доп. – Н. Новгород, 1998. – 191 с.
3. Биохимические исследования в посмертной диагностике синдрома диссеминированного внутрисосудистого свертывания / Е.П. Авраменко [и др.] // Судебно-медицинская экспертиза. – 1998. – № 3. – С. 17-19.
4. Акимов П.А. Постмортальная диагностика шоковых состояний / П.А. Акимов, Н.А. Терехина // Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, № 5. – С. 775-779.
5. Патент 2532392 RU. Способ постмортальной диагностики синдрома эндогенной интоксикации / П.А. Акимов, Н.А. Терехина. – Заявл. 05.09.2014. – Бюл. № 31.
6. Postmortem serum uric acid and creatinine levels in relation to the causes of death / B.L. Zhu [et al.] // Forensic Sci. Int. – 2002. – Vol. 125, № 1. – P. 59-66.
7. Акимов П.А. Биохимический анализ стекловидного тела глаза в постмортальной диагностике почечной недостаточности / П.А. Акимов, Н.А. Терехина // Вестник новых медицинских технологий. – 2013. – Т. 20, № 4. – С. 47-49.
8. Андреенко Г.В. Сульфитный метод определения концентрации фибриногена в крови / Г.В. Андреенко, Л.В. Подорольская // Лаб. дело. – 1979. – № 3. – С. 169-172.
9. Определение концентрации фибриногена плазмы крови методом сульфитного осаждения / Л.А. Царюк [и др.] // Вопросы медицинской химии. – 1979. – № 1. – С. 97-101.
10. Лычев В.Г. Диагностика и лечение диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови / В.Г. Лычев. – 2-е изд., перераб. и доп. – Н. Новгород: Изд-во НГМА, 1988. – 191 с.
11. Камышников К.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник: в 2-х т. / К.С. Камышников. – 2-е изд. – Мн.: Интерпресс-сервис, 2003. – Т. 1. – 495 с.
12. Способ определения «средних молекул» / В.В. Николайчик [и др.] // Лаб. дело. – 1991. – № 10. – С. 13-18.
13. Преснякова М.В. Нарушение системы гемостаза в острый период ожоговой болезни / М.В. Преснякова, А.Н. Сидоркина, В.Г. Сидоркин // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – № 3. – С. 44-51.
14. Акимов П.А. Содержание креатинина в трупной крови больных сахарным диабетом / П.А. Акимов, Н.А. Терехина // Актуальные вопросы ме-

дицинской биохимии и клинической лабораторной диагностики: Рос. науч.-практ. конф. с Междунар. участием, посвящ. памяти акад. АН РТ, проф. Д.М. Зубаирова: сб. науч. ст. – Казань, 2013. – С. 12-15.
15. Маслякова Г.Н. О сущности и значении диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови в патологии / Г.Н. Маслякова // Тромбоз, гемостаз и реология. – 2005. – № 1. – С. 8-12.
16. Ольбинская Л.И. Коронарная и миокардиальная недостаточность / Л.И. Ольбинская, П.Ф. Литвицкий. – М.: Медицина, 1986. – 272 с.

АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЭРИТРОЦИТОВ С УЧЕТОМ ГРУППОВОЙ ПРИНАДЛЕЖНОСТИ КРОВИ

О.А. Балдина[1], И.А. Селезнева[1], А.В. Козлов[1], Д.А. Доменюк[2], Л.Г. Ивченко[2]
ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой, г. Самара(1)
ГБОУ ВПО СамГМУ Минздрава России, кафедра стоматологии общей практики и детской стоматологии, г. Ставрополь (2)

Резюме. Для исследования были использованы образцы капиллярной крови, полученные натощак у 67 практически здоровых лиц в возрасте от 18 до 35 лет, из которых был получен гемолизат и определена активность ферментов эритроцитов: глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы глутатион-редуктазы, каталазы и лактатдегидрогеназы с учетом групповой принадлежности крови по системе АВО. Нами были выявлены различия в ферментативной активности соотносимые с групповой принадлежностью крови, что позволяет говорить о группе крови как об индивидуальном специфическом маркере метаболизма и возможности его использования в персонифицированной медицине.

Ключевые слова*:* ферменты эритроцитов, гемолизат, группа крови, индивидуальные особенности метаболизма, персонифицированная медицина.

Актуальность. Все более актуальной и востребованной становится персонифицированная медицина, которая рассматривает каждого пациента как уникального биологического объекта. С развитием фармакогенетики достаточно глубоко стали изучаться индивидуальные особенности физиологических и биохимических реакций организма в различных условиях нормального существования и под действием биологически активных веществ[2,3,4]. В настоящее время является доказанным, что носительство функционально измененных в результате однонуклеотидных замен аллелей генов, кодирующих ферменты биотрансформации и транспортеры, приводит к изменению содержания лекарственных средств в плазме крови и наличия значительной межиндивидуальной вариабельности фармакологического ответа у пациентов [7,8]. Но это учитывает только эффективную концентрацию препарата в крови, хотя более значимым и определяющим является механизм взаимодействия лекарственного средства и внутриклеточного

метаболизма, кроме того данные исследования являются достаточно трудоемкими и дорогостоящими. В нашем случае представляется необходимым выявить легко определяемые наследуемые маркерные особенности, которые позволят предсказать индивидуальные метаболические характеристики здорового организма, пораженного болезнью и влияние на них лекарственных препаратов. Нами была поставлена задача определить существование генетически – детерминированной зависимости особенностей обмена. В качестве экспериментальной модели не случайно был выбран эритроцит. Он содержит в своей структуре наследственно-определенные антигены системы АВО, которые возможно ассоциированы с особенностями обменных процессов и выполняют роль маркеров метаболизма. Данные клетки крови являются высокодифференцированной структурой, которая образует многофункциональнальную систему жизнеобеспечения организма. Благодаря особенностям строения эритроцит выполняет уникальную функцию по транспорту O_2 и CO_2 , поддерживает постоянство внутренней среды всего организма, но в то же время является достаточно изолированной системой с мощными энергетическими и защитными механизмами [1].

Метаболические изменения в эритроцитах рассматриваются как патогенетическое звено практически любого заболевания, поскольку они ответственны за кислородное обеспечение энергообразующих процессов организма. В качестве аналитических моделей были выбраны ключевые и полифункциональные ферменты эритроцитов: лактатдегидрогеназа (ЛДГ), глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа (ГАФД), глутатион-редуктаза (ГЛР), каталаза. Данные ферменты участвуют в основных метаболических путях эритроцита: энергообеспечении, поддержании функционально-активного состояния гемоглобина, в защите от активных форм кислорода [9].

Материалы и методы. Для исследования на молекулярном уровне использованы образцы капиллярной крови, полученные натощак у 67 практически здоровых человек в возрасте от 18 до 35 лет, из которых мужчины составили – 47,1 %, женщины – 52,9 % . Общая совокупность включала четыре подгруппы со сходной групповой принадлежностью крови по системе АВО (I-IV), распределяясь соответственно: лица с О (I) группой крови составили – 29,0%, со А (II) группой – 27,6%, с В (III) группой крови – 27,5%, с четвертой АВ (IV) – 15,9% .

Взятие крови осуществлялось по стандартной методике в стерильные пробирки с бидистиллированной водой в соотношении 1:9 для получения гемолизата. Определялась активность ферментов эритроцитов: лактатдегидрогеназы, глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, глутатион-редуктазы, каталазыи содержания белка с использованием общепринятых референтных методик на спектрофотометре Lambda 20(PerkinElmer, Швейцария) [5,6].

Результаты и их обсуждение. Активность лактатдегидрогеназы в гемолизате оказалась максимальной у лиц со второй группой А(II) 1,3 Е/мг, немного меньше у О(I) группы крови – 1,09 Е/мг и минимальные значения у В(III) и АВ(IV)групп соответственно 0,58 Е/мг и 0,56 Е/мг.

Наиболее высокое значение активности глицеральдегид-3-фосфат-дегидрогеназы наблюдалось в гемолизате лиц О(I) группы крови 0,79 Е/мг, меньшие значения у лиц со А(II) и В(III) группами крови 0,54 Е/мг и 0,57 Е/мг соответственно, наименьшее значение было выявлено у лиц с АВ(IV) группой крови 0,10 Е/мг .Среди значений активности глутатион-редуктазы, наивысшие у лиц со А(II) группой крови – 0,20 Е/мги с АВ(IV) группой крови – 0,19 Е/мг, а наименьшие у лиц с О(I) – 0,12 Е/мг и В(III) – 0,10 Е/мг. При определении активности каталазы гемолизата О(I) группы крови – были получены значения 0,27 Е/мг, которые являлись наименьшими среди групп. Наибольшее значение каталазы наблюдалось у лиц с В(III) группой крови 0,66 Е/мг, а средние значения были у лиц А(II) и АВ(IV) групп крови соответсвенно 0,39 Е/мг и 0,43 Е/мг (табл. 1).

В ходе анализа ферментативной активности гемолизата с учетом групповой принадлежности крови по системе АВО были выявлены характерные группоспецифические особенности. Для лиц с О(I)группой крови специфичным является максимальная активность глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, средняя степень активности лактатдегидрогеназы и минимальная среди групп активность глутатион-редуктазы и каталазы. Соответственно, можно сказать о достаточной интенсивности процессов углеводного обмена, и малой степени активности антиоксидантной системы.

У представителей А(II) группы крови наблюдалась максимальная активность лактатдегидрогеназы и средние значения активности глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы каталазы, глутатион-редуктазы. Это говорит о высокой интенсивности анаэробного метаболизма углеводов и достаточной интенсивности антиоксидантной защиты. В гемолизате В(III) группы крови на фоне максимально активной каталазы были минимально активны лактатдегидрогеназа и глутатион-редуктаза, при средних значениях активности глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы. У представителей данной группы наблюдается некоторый дисбаланс активностей ферментов антиоксидантной защиты, и низкая активность ферментов углеводного обмена.

Группоспецифической характеристикой гемолизата АВ (IV) группы крови является максимальная активность глутатион-редуктазы и минимальная – глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы, при средней каталитической активности каталазы и лактатдегидрогеназы.В данном случае наблюдается максимальная интенсивность ферментов антиоксидантной защиты и средняя степень интенсивности анаэробного метаболизма углеводов.

Выводы

1. Полученные нами показатели подтверждает возможность использования групповой принадлежности крови системы АВО как маркера особенностей индивидуального метаболизма.

2. Эритроциты, мембрана которых презентирует А и В антигены, являются информативным объектом в модельных экспериментах, легко доступными для исследования, на которых можно провести тестирование препаратов и выявить индивидуальные особенности их действия.

Таблица 1

Значение активности ферментов гемолизата
с учетом групповой принадлежности крови (Е/мг)

Показатель		***0(I) группа крови***	***A(II) группа крови***	***B(III) группа крови***	***AB(IV) группа крови***
Глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа,(Е/мг)	M±m	0,77±0,38	0,58±0,16	0,49±0,15	0,16±0,06
	Me	0,79	0,54	0,57	0,10
	St.dev.	0,77	0,39	0,41	0,10
Лактатдегидрогеназа, (Е/мг)	M±m	1,18±0,34	1,47±0,4*	0,67±0,11*	0,85±0,42
	Me	1,09	1,3	0,58	0,56
	St.dev.	0,68	0,99	0,31	0,72
Глутатион-редуктаза, (Е/мг)	M±m	0,21±0,1	0,23±0,03	0,13±0,03	0,28±0,15
	Me	0,12	0,20	0,10	0,19
	St.dev.	0,21	0,08	0,09	0,26
Каталаза, (Е/мг)	M±m	0,26±0,05	0,42±0,07	0,82±0,23	0,33±0,12
	Me	0,27	0,39	0,66	0,43
	St.dev.	0,09	0,16	0,6	0,2

* $p<0,05$; ** $p<0,01$

Список литературы

1. Биохимия: учеб. пособие / Ф.Н. Гильмиярова [и др.]; под ред. Ф.Н. Гильмияровой. – Самара: Офорт, 2015. – 380 с.
2. Биологическая вариабельность аналитов при различной групповой принадлежности крови / В.М. Радомская [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – № 9. – С. 44а-44.
3. Группы крови: биологическая вариабельность клеточного состава и метаболизма в норме и патологии / Ф.Н. Гильмиярова [и др.]; под ред. акад. РАН Г.П. Котельникова. – М.: Известия, 2007. – 490 с.
4. Зиганщина Л.Е.Фармакоэпидемиология и индивидуализация фармакотерапии – новые технологии улучшения использования лекарственных средств / Л.Е. Зиганщина, Т.Р. Абакумова, О.О. Ведерникова // Казанский медицинский журнал. – 2005. – Т. 86, №2. – С. 97-101.
5. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2004. – 920 с.
6. Карпищенко А.И. Медицинские лабораторные технологии и диагностика: справочник / А.И. Карпищенко. – СПб.: Интермедика, 1999. – 656 с.
7. Кукес В.Г. Проблемы клинической фармакогенетики на современном уровне / В.Г. Кукес, Д.А. Сычев, Н.А. Гасанов // Клиническая медицина. – 2007. – №2. – С. 58-63.
8. Моисеев А.А. Роль фармакогенетики в индивидуализации противоопухолевой химиотерапии / А.А. Моисеев // Фарматека. – 2013. – №8(261). – С. 15-20.
9. Морозова В.Т. Эритроциты: структура, функции, клинико-диагностическое значение / В.Т. Морозова, С.А. Луговская, М.Е. Почтарь // Клиническая лабораторная диагностика. – 2007. – №10. – С. 21-35.

К ВОПРОСУ О ВОЗМОЖНОСТИ ОЦЕНКИ ФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ ПРИ ХИРУРГИЧЕСКОМ ЛЕЧЕНИИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ, ОСЛОЖНЕННОЙ ТРОФИЧЕСКИМИ ЯЗВАМИ

Р.Е. Калинин[1], *С.В. Грязнов*[1,2], *А.С. Пшенников*[1]
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной,
оперативной хирургии и топографической анатомии (1),
ГБУ РО «ОККД», отделение сосудистой хирургии, г. Рязань (2)

Резюме. Рассматривается роль эндотелиальной дисфункции в этиологии и патогенезе хронической венозной недостаточности нижних конечностей, осложненной трофическими язвами. Исследование проводилось на 80 пациентах с варикозной (40) и посттромбофлебитической болезнью (40). Использовались два метода оценки функции эндотелия: компьютерный анализ объемной пульсовой волны с помощью фотоплетизмографа «Эльдар» с вычислением показателя функции эндотелия (ПФЭ) и синхронное определение уровня оксида азота при лечении ХВН, осложненной трофическими язвами. На разных этапах лечения ХВН наблюдалась стойкая тенденция к повышению уровня оксида азота, что коррелировало с компьютерным анализом объемной пульсовой волны. При этом динамика роста ПФЭ в группе больных с варикозной болезнью была гораздо выше, чем в группе больных с трофическими язвами на фоне ПТФС.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, оксид азота, хроническая венозная недостаточность.

Актуальность. В настоящее время все большее распространение получает теория эндотелиальной дисфункции (ЭД) в развитии различных заболеваний сосудов [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Рассмотрение роли ЭД в этиологии и патогенезе заболеваний венозной системы, формировании трофических расстройств позволяет по-новому трактовать патогенез трофических язв и возможные варианты терапевтического и хирургического воздействия[8].

Известно, что обязательным условием развития трофических язв является повышенное венозное сопротивление в крупных сосудах и системе микроциркуляции. На фоне и вследствие этого развивается резорбционная недостаточность, связанная с избыточной транссудацией в интерстициальную ткань и снижением венозного оттока, вследствие которой в тканях конечности накапливаются флогогены, вызывающие дисфункцию эндотелия, дистрофию тканевого матрикса, склероз интерстициальной ткани, атрофию дермы и эпидермиса, что клинически выражается в так называемых предъязвенных состояниях. Пусковым фактором возникновения язвы считается горизонтальный и вертикальные рефлюксы, связанные с клапанной недостаточностью перфорантных и поверхностных/глубоких вен. В результате описанных изменений формируется локальная недостаточность

регенераторных возможностей кожи, что ведет к альтерации и последующему закономерному развитию воспалительной реакции, биологическая цель которой состоит в очищении данной зоны от поврежденных тканей. Однако организм «не понимает», что отечная, дистрофичная и склерозированная кожа уже не способна регенерировать со скоростью, достаточной для закрытия дефекта. В результате появляется прогрессирующая язва, обладающая рядом свойств, которые отличают её от язв при других состояниях и позволяющих рассматривать венозную трофическую язву как систему с замкнутой пседохаотической активностью – ЗПА (П.Г. Швальб, 2002) [9,10,11]. При этом понятие «замкнутость» надо рассматривать как недоступность или низкую чувствительность пораженного участка к нейрогуморальным дистантным регуляторным влияниям макроорганизма с одной стороны и к лечебным мероприятиям, с другой.Понятие «псевдохаотичность» следует расценивать как мозаично расположенные на ограниченной территории воспалительно-регенеративные очаги, каждый из которых, однако, развивается в соответствии с законами репарации. Понятие «активность» подразумевает постоянное более или менее выраженное прогрессирование процесса.

Таким образом, сформированная патологическая система постоянно поддерживается нарушенной функцией эндотелия с высвобождением множества маркеров, характеризующих его дисфункцию, одним из наиболее изученных среди которых является оксид азота (NO)[12].

Однако достоверные данные, определяющие роль различных эндотелиальных факторов, включая оксид азота (NO), в развитии хронической венозной недостаточности отсутствуют. Поэтому большое значение имеет возможность оценки корреляции между различными методиками определения функции эндотелия.

Целью исследования явилось выявление корреляции между оценкой функции эндотелия с помощью фотоплетизмографа и реальными биохимическими показателями при хирургическом лечении пациентов с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей, осложненной трофическими язвами.

Материалы и методы. Использовались два метода оценки функции эндотелия: компьютерный анализ объемной пульсовой волны с помощью фотоплетизмографа «Эльдар» с вычислением показателя функции эндотелия (ПФЭ) и синхронное определение уровня оксида азота при лечении ХВН, осложненной трофическими язвами.

Показатель функции эндотелия (ПФЭ) – величина изменения индекса отражения входе пробы с реактивной гиперемией на третьей минуте постокклюзионного кровотока. (ИО 3 мин), по сравнению с исходным значением до проведения пробы (ИО исх):

$$ПФЭ = ((ИО\ исх - ИО\ 3\ мин)/ ИО\ исх) \times 100\%.$$

В исследование вошли 80 пациентов, представленных в двух группах, с варикозной (40) и посттромбофлебитической болезнью (40) с фор-

мами С5-С6 по CEAP. В качестве метода стимуляции функции эндотелия в первой группе проводился предоперационный курс пневмокомпрессии (ППК), флебэктомия [13]. Во второй группе в дополнение проводилось дозированное сужение бедренной вены по П.Г. Швальбу [14]. Предположительно все вмешательства были направлены на стимуляцию функции эндотелия, что могло повлиять на заживление трофической язвы. Измерялся базальный уровень показателя функции эндотелия (ПФЭ) по данным фотоплетизмографа(V1) и реальным биохимическим показателям содержания оксида азота в крови (V1(NO). Те же измерения проводились по окончании ППК (V2, V2(NO)) и в послеоперационном периоде (V3, V3 (NO)).

Результаты и их обсуждение. Динамика содержания оксида азота представлена в таблице 1.

Таблица 1

Динамика содержания оксида азота (мкмоль/мл, M±m, p<0.05)

	ПТФС С5-С6	ВРВ С5-С6
V1	73,47±4,77	81,68±7,72
V2	75,51±4,38	86,05±11,84
V3	88,46±4,68	87,45±4,78

Таблица 2

Динамика показателя функции эндотелия (%, M±m, p<0.05)

	ПТФС С5-С6	ВРВ С5-С6
V1	-3±2,28	-8,5±3,57
V2	-1±2,31	-2,5±4,54
V3	3±1,69	2±1,65

Таким образом, на разных этапах лечения ХВН наблюдалась стойкая тенденцияк повышению уровня оксида азота, что коррелировало с компьютерным анализом объемной пульсовой волны, отражающим суммарную функцию эндотелия.

Анализируя результаты компьютерной фотоплетизмографии с вычислением показателя функции эндотелия (ПФЭ) и одновременного определения уровня оксида азота у пациентов при лечении ХВН, осложненной трофическими язвами, мы попытались выявить общие закономерности в виде изначально низкого ПФЭ у пациентов с трофическими язвами нижних конечностей при различных формах ХВН, что коррелирует с содержанием NO в крови у этих же пациентов.

На фоне проводимой предоперационной подготовки и последующего оперативного лечения ПФЭ и содержание NO повышаются.

Динамика роста ПФЭ в группе больных с варикозной болезнью гораздо выше, что может быть объяснено и более «благоприятным» прогнозом при лечении трофических язв на фоне варикозной болезни.

Поражение микроциркуляторного русла при трофических язвах на фоне ПТФС более масштабно, что выражается в более медленном росте ПФЭ на фоне проводимой терапии и менее благоприятном течении после-

операционного периода в виде медленного заживления язвы и большой склонности к рецидивам.

Компьютерная фотоплетизмография с расчетом интегрального ПФЭ может использоваться для контроля эффективности проводимого лечения на амбулаторном этапе у данной категории пациентов.

Выводы. На разных этапах лечения ХВН наблюдалась стойкая тенденция к повышению уровня оксида азота, что коррелировало с компьютерным анализом объемной пульсовой волны, отражающим суммарную функцию эндотелия. При этом динамика роста ПФЭ в группе больных с варикозной болезнью гораздо выше, чем в группе больных с трофическими язвами на фоне ПТФС.

Список литературы

1. Анализ путей венозного оттока после операции дистанционной окклюзии задних большеберцовых вен / П.Г. Швальб [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2015. – № 1. – С. 74-81.
2. Дисфункция эндотелия при острой и хронической венозной недостаточности / Ю.С. Небылицин [и др.] // Новости хирургии. – 2008. – Т. 16, № 4. – С. 141-153.
3. Дисфункция эндотелия у больных хронической венозной недостаточностью нижних конечностей и возможности её коррекции / Ю.М. Стойко [и др.] // Новости хирургии. – 2010. – Т. 18, № 4. – С. 57-64.
4. Калинин Р.Е. Диспансеризация больных с венозными тромбоэмболическими осложнениями / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, М.В. Нарижный // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – №3. – С. 104-109.
5. Операции на сосудах / Р.Е. Калинин [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 120 с.
6. Киричук В.Ф. Дисфункция эндотелия / В.Ф. Киричук, А.И. Глыбочко. – Саратов: Изд-во СГМУ, 2008. – 110 с.
7. Марков Х.М. Молекулярные механизмы дисфункции сосудистого эндотелия / Х.М. Марков // Кардиология. – 2005. – №12. – С. 62-72.
8. Стойко Ю.М. Клиническая значимость факторов риска хронической венозной недостаточности нижних конечностей и возможности консервативной терапии / Ю.М. Стойко // Болезни сердца и сосудов. – 2006. –№4. – С. 64-68.
9. Сучков И.А. Коррекция эндотелиальной дисфункции: современное состояние проблемы (обзор литературы) / И.А. Сучков // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2012. – №4. – С. 151-157.
10. Сучков И.А. Профилактика рестеноза в реконструктивной хирургии магистральных артерий / И.А. Сучков [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2013. – №2. – С. 12-19.

11. Швальб П.Г. Комплексное лечение венозных трофических язв и новая концепция их патогенеза / П.Г. Швальб, А.П. Швальб, С.В. Грязнов // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2010. – № 1. – С. 136-142.
12. Швальб П.Г. Особенности патогенеза венозных трофических язв в выборе метода терапевтических воздействий / П.Г. Швальб, А.П. Швальб, С.В. Грязнов // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2010. – № 3. – С. 105-110.
13. Общие принципы морфогенеза трофических язв (новая концепция) / П.Г. Швальб [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2012. – №2. – С. 465-467.
14. The role of nitric oxide in the pathogenesis of venous ulcers / S. Nikolovska [et al.] // Acta Dermatovenerol Croat.– 2005. –Vol. 13, №4. – P. 242-246.
15. Калинин Р.Е. Компрессионная терапия с позиций лобулярно-гемодинамической концепции патогенеза венозных трофических язв нижних конечностей / Р.Е.Калинин, А.П. Швальб, С.В. Грязнов // Материалы XXX Международной конференции Российского общества ангиологов и сосудистых хирургов «Новые направления в лечении сосудистых больных». – Сочи, 2015. – С. 257-258.
16. Швальб П.Г. Миниинвазивный метод коррекции клапанной недостаточности бедренной вены при различных причинах ее происхождения / П.Г. Швальб, С.В. Грязнов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2015. – №2. – С. 84-89.

«ШАПЕРОНЫ» В СОСУДИСТОЙ ХИРУРГИИ

Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков, К.С. Кондрашова
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра сердечно-сосудистой, рентгенэндоваскулярной,
оперативной хирургии и топографической анатомии

Резюме. Система белков теплового шока играет основную роль в феномене адаптационной стабилизации клеточных структур, в реализации стресс-реакции ишемического стресса. HSP70 представляет собой важное звено клеточной системы репарации, действие которой направлено на защиту процессов биосинтеза и структурной целостности белков в поврежденной клетке. Защитное действие HSP70 реализуется их способностью диссоциировать аномальные белок-белковые агрегаты, облегчать ренатурацию денатурированных белков, ограничивать продукцию NO и препятствовать передаче апоптотического сигнала с экстраклеточных рецепторов и митохондрий. При исследовании цитопротективной роли HSP в процессе

повреждения сердечно-сосудистой системы, наиболее ранние работы принадлежат [7]в ходе которых были получены данные, свидетельствующие об увеличении синтеза HSP70 при ишемическом повреждении. Затем аналогичные данные были получены при ишемическом прекондиционировании сердца, которое снижало размер области инфаркта при последующем тепловом шоке и защищало от тяжёлой ишемии [1,6,8]. Кроме того, была выявлена корреляция между количеством накопленного HSP70 и устойчивостью ткани к повреждению. Heads R.J. и соавт. в своих исследованиях продемонстрировали, что эндотелиальные клетки, трансформированные постоянно экспрессирующимся геном HSP70, обладали большей устойчивостью к повреждающим воздействиям, чем обычные клетки [1,5].

Ключевые слова: шапероны, ишемия нижних конечностей, реперфузионный стресс.

Актуальность. Поведение белков теплового шока в развитии атеросклероза довольно диалектично. Адекватными стимулами для гиперэкспрессии белков теплового шока являются окисленные липопротеины низкий плотности (ЛПНП, oxLDL), играющие критическую роль на ранних стадиях атерогенеза, механический сосудистый стресс и многие другие атерогенные воздействия.

Молекулы белков теплового шока perse обладают ещё и функцией цитокинов. В низких концентрациях (< 1μg/ml) и без каких-либо кофакторовони способны стимулировать продукцию провоспалительных цитокинов, таких как фактор некроза опухоли, интерлейкин-1, 6, 12, а так же оксида азота (Tsan M., Gao B., 2004). Некоторые авторы в этой связи даже предлагают использовать термин «шаперокины». Многие их функции опосредуются CD4/Toll-like рецепторами, способными активировать MAP-киназный каскад и пути, связанные с NF-B и другими важными системами регуляции клеточного цикла [4]. Именно эти сигнальные пути задействованы в прогрессировании атеросклероза, гиперплазии интимы [1].

Таким образом, белки теплового шока, защищающие белки от денатурации в рамках основной стресс-лимитирующей системмы (адаптация тканей к ишемии) и имеют большое значение в патогенезе атеросклероза.

Механизм адаптации тканей к ишемии сложный, многокомпонентный. Система белков теплового шока (HSP 70) играет основную роль в феномене клеточной адаптации, стабилизации клеточных структур, в реализации стресс-реакции ишемического стресса, действие которой направлено на защиту процессов биосинтеза и структурной целостности белков в поврежденной клетке.

Материалы и методы. По дизайну исследование открытое, рандомизированное, проспективное, в параллельных группах, включает в себя 40 пациентов: 36 мужчин и 4 женщины, средний возраст 63,8 лет. В зависимости от степени ишемии нижних конечностей и оперативной тактики все пациенты разделены на 4 группы: 1-ая группа включила 10 пациентов IIб-III стадиями, 2-ая группа – 10 пациентов с IV стадией заболевания по

классификации Fontaine, которым выполнены реконструкции PTFE-графтом. Десяти пациентам 3-ей группы выполнены в экстренном порядке тромбэмболэктомии на фоне кардиогенной неклапанной эмболии артерий нижних конечностей (табл.1). В 4-ую группу (контрольную) вошли пациенты со IIб стадией заболевания, которым оперативное лечение не проводили в виду неудовлетворительного периферического русла либо отказа пациента от операции [2,3,9-12]. Группы были сопоставимы по клинико-лабораторным параметрам, гендерному типу. Из сопутствующих заболеваний у пациентов наиболее часто выявлены: ИБС (47,5%), гипертоническая болезнь (ГБ) (75%), хронический бронхит (45%), по сопутствующей патологии группы также были репрезентативны.

Таблица 1

Распределение реконструктивно-восстановительных операций в исследуемых группах

	БАБШ	**БПШ/БПП PTFE-графт***	**Аутовенозный шунт in situ***	**Тромбэндартерэктомияиз ОБА, ПБА**	**Эмболэктомия****
1-ягруппа	**5**	**3**		**2**	
2-я группа	**4**	**4**	**2**		
3-я группа					**10**

БАБШ – бифуркационное аорто-бедренное шунтирование, БПШ/БПП – бедренно-подколенное шунтирование/протезирование, ОБА – общая бедренная артерия, ПБА – поверхностная бедренная артерия; *- реконструкция выше щели коленного сустава, **- во всех операциях использовался доступ к артериям в в/3 и н/3 бедра по линии Кена.

Абсолютный критерий включения пациентов в исследование – это одномоментная хирургическая коррекция магистрального русла, с компенсацией кровообращения в раннем послеоперационном периоде. Повторных госпитализаций пациентов в течение трех месяцев вследствие тромбоза шунта либо прогрессирования заболевания не зарегистрировано. Все пациенты получали традиционную консервативную терапию, согласно «Национальным рекомендациям по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей» (Москва, 2013) [3], пациенты 3-ей группы – антикоагулянтную терапию по шкале CHA_2DS_2-VASc.

HSP70оценивали во всех группах до оперативного вмешательства и после: 1, 2, 10 сутки, 1, 3 месяца, в контрольной группе 1, 2, 3 и 10-е сутки, 1 и 3 месяца. (Биологический материал-кровь, ИФА анализаторы – EKS 715 – Hsp70).

Работа выполнена в рамках работы над грантом президента РФ **МК-1878.2014.7.**

Результаты исследования и их обсуждение. Исходный уровень HSP 70 статистически достоверно различался во всех операционных группах: 0,79±0,06 нг/мл, 0,65±0,04 нг/мл, 1,12±0,14 нг/мл (M±m, p<0,05).

Таблица 2

Динамика изменений HSP70 в изучаемых группах (M±m, p<0,05)

	V0 нг/мл	V1 1сут. нг/мл	V2 2сут. нг/мл	V3 10сут. нг/мл	V4 1мес. нг/мл	V5 3мес. нг/мл
1-я группа	0,79±0,06*	1,13±0,05*	0,8±0,08*	0,77±0,07*	0,55±0,06*	0,42±0,03*
2-я группа	0,65±0,04*	0,98±0,06*	0,88±0,07*	0,39±0,05*	0,42±0,05*	0,43±0,02*
3-я группа	1,12±0,14*	1,21±0,09*	0,9±0,18*	0,82±0,09*	0,80±0,08*	0,38±0,03*
4-я группа	0,58±0,06	0,61±0,07	0,6±0,05	0,59±0,05	0,67±0,05	0,48±0,06

*Разница с контролем статистически значима.

Однако динамика изменения показателя после операции сходна во всех группах: прирост к 1-ым суткам – 41%, 50%, 9% и тенденция к равномерному снижению в последующем послеоперационном периоде. К 10-суткам уровень HSP 70 уже ниже исходного уровня во всех группах. В четвертой группе статистически значимых изменений в определенные сроки не выявлено (табл.2).Анализируя тенденцию изменений HSP 70 надо отметить, что линии тренда изучаемых групп представляют собой параллельные линии с исходного уровня до 1 месяца после операции, а уже к 3-ему месяцу показатели приближаются к исходным значениям (рис. 1): 0,42±0,03 нг/мл, 0,43±0,02 нг/мл, 0,38±0,03 нг/мл (M±m, p<0,05).

Реакция клеточной адаптации на острую ишемию превосходит хроническую, что подтверждается статистически достоверным превосходством гиперпродукцииHSP 70 в 3-ей группе уже с момента госпитализации. Сниженная секреция HSP 70 у пациентов с IV стадией заболевания, возможно, предполагает истощенные адаптационные клеточные резервы и, как следствие, некротические изменения дистальных отделов конечностей,определяя сильную корреляционную связь между количеством накопленного HSP70 и устойчивостью ткани к повреждению.

Во всех хирургических группах реперфузионный ответнаправлен на повышение образования HSP 70 у 80% пациентов, тогда как клиническое подтверждение реперфузионного, постишемического синдромов выявлено только у 30% пациентов и носило только местный характер. Восстановление адаптационных механизмов клеточной адаптации к ишемическому и реперфузионному стрессу происходит только к 3-ему месяцу после реконструктивно-восстановительных операций на магистральных артериях, приближаясь к равномерному значению во всех операционных группах и группы контроля (0.42±0.03, 0.43±0.02, 0.38±0.03, 0.48±0.06 нг/мл).

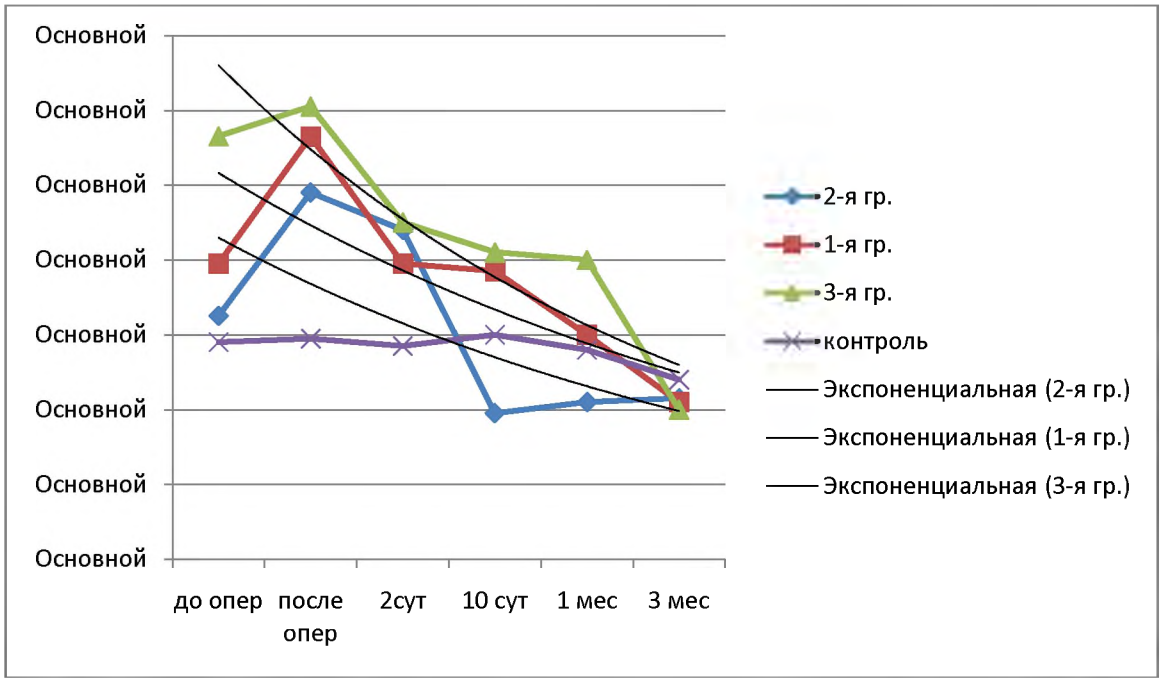


Рисунок 1. Изменения HSP70 в изучаемых группах (M±m, p<0,05)

Выводы

1. Реакция клеточной адаптации на острую ишемию превосходит хроническую, что подтверждается гиперпродукциейHSP 70. Сниженная секреция HSP 70 у пациентов с IV стадией заболевания возможно предполагает истощенные адаптационные клеточные резервы.

2. Реперфузионный ответ клеточной адаптации направлен на повышение образования HSP 70 во всех группах.

3. Восстановление адаптационных механизмов клеточной адаптации к ишемическому и реперфузионному стрессу происходит только к 3-ему месяцу после реконструктивно-восстановительных операций на магистральных артериях.

Список литературы

1. Ивашкин В.Т. Клиническое значение оксида азота и белков теплового шока / В.Т. Ивашкин, О.М. Драпкина. – 2-е изд. – М.: ГЕОТАР-Медиа, 2011. – 376 с.
2. Операции на сосудах / Р.Е. Калинин [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 120 с.
3. Клиническая ангиология: руководство: в 2-х т. / под ред. А.В. Покровского. – М.: Медицина, 2004.
4. Национальные рекомендации по ведению пациентов с заболеваниями артерий нижних конечностей. – М., 2013. – 74 с.
5. Пальцев М.А. Межклеточные взаимодействия / М.А. Пальцев, А.А. Иванов, С.Е. Северин. – 2-е изд., перераб. идоп. – М.: Медицина, 2003. – 288 с.

6. Реперфузионное повреждение тканей в хирургии артерий нижних конечностей / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников, И.А. Сучков // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, № 3. – С. 348-352.
7. Сучков И.А. Коррекция эндотелиальной дисфункции: современное состояние проблемы (обзор литературы) / И.А. Сучков // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2012. – №4. – С. 151-157.
8. Сучков И.А. Профилактика рестеноза в реконструктивной хирургии магистральных артерий / И.А. Сучков [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2013. – №2. – С. 12-19.
9. Mutual exclusion of apoptosis and hsp70 in human vein intimal hyperplasia in vitro / F. Alcocer[et al.] // J Surg Res. – 2001. – Vol. 96, №1. – P. 75-80.
10. Carden D.L. Pathophysiology of ischaemia-reperfusion injury / D.L. Carden, D.N. Granger // J Pathol. – 2000. – Vol. 190. – P. 255-266.
11. Currie R.W. Induction of the heat shock response in rats modulates heart rate, creatine kinase and protein synthesis after a subsequent hyperthermic treatment / R.W. Currie, B.M. Ross, T.A. Davis // Cardiovasc Res. – 1990. – Vol. 24, № 2. – P. 87-93.
12. Granger D.N. Role of xanthine oxidase and granulocytes in ischemia-reperfusioninjury / D.N. Granger // Am J Physion. – 1988. – Vol. 255. – P. H1269-H1275.
13. Trans-Atlantic Inter-Society Consensus / Eur J VascEndovasc Surg. – 2007. – Vol. 33 (Suppl. 1).

СОСУДОПРОТЕКТИВНОЕ ДЕЙСТВИЕ БИФЕРМЕНТНОГО КОНЪЮГАТА

А.В. Максименко
Институт экспериментальной кардиологии, ФГБУ Российский Кардиологический Научно-Производственный Комплекс Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

Потенциальным агентом с выраженным вазопротекторным действием проявил себя биферментный конъюгат супероксиддисмутаза-хондроитинсульфат-каталаза (СОД-ХС-КАТ). Сопряжение СОД и КАТ активности в составе надмолекулярного биферментного конъюгата способствует образованию безопасных конечных продуктов, в результате нейтрализации активных форм кислорода, и пролонгированному антиоксидантному действию СОД-ХС-КАТ.

Целью исследования стало выяснение эффективности антиоксидантного действия конъюгата СОД-ХС-КАТ при превентивном и лечебном режиме его введении крысам с эндотоксическим шоком.

Одна из моделей септического шока у животных создается введением им оболочек грамм-отрицательных бактерий, в частности, их компо-

нента бактериального липополисахарида (ЛПС) как провоцирующего инфекционного агента. Развитие эндотоксического шока проходит через первую неврологическую фазу, зависящую от реакций центральной нервной системы на ЛПС. Вторая цитокиновая фаза (через 20-90 мин от начала введения ЛПС) сопровождается активацией цитокинов (брадикинина, TNF-α , интерлейкинов IL-1α и IL-1β, хемокинов IL-6, IL-8 и IL-18).

Внутривенное введение крысам биферментного конъюгата СОД-ХС-КАТ в превентивном режиме (т.е. до введения инфекционного агента) продемонстрировало влияние конъюгата на цитокиновую (но не на предшествующую ей нейрологическую) фазу поражения и его определенные поздние стадии. Площадь под кривой Каплана-Мейера (для показателя суточной выживаемости животных) была в контрольной группе 1,384, а в опытной – 1,971 отн.ед., что в 1,4 раза больше. Обнаруженный эффект обосновал целесообразность оценки *invivo* действия производного СОД-ХС-КАТ при лечебном режиме его введения (т.е. с введением после, а не до введения ЛПС). Действие биферментного конъюгата СОД-ХС-КАТ, введенного по указанной выше схеме, достоверно демонстрировало, что площадь под кривой Каплана-Мейера (для показателя суточной выживаемости животных) была в контрольной группе 1,129, а в опытной – 1,643 отн.ед., что в 1,46 раза больше. Такие результаты показывали повышение жизнеспособности организма благодаря действию биферментного конъюгата СОД-ХС-КАТ и подчеркивали целесообразность экспериментальной оценки эффективности его перорального профилактического приема на используемой модели.

В течение трех недель крысы регулярно получали с творогом конъюгат СОД-ХС-КАТ (17,5 мг/кг/сутки, экспериментальная группа) или не имели этого конъюгата в своем рационе (контрольная группа животных). Оказалось, что снижение артериального давления быстрее нормализуется в экспериментальной группе, повышение частоты сердечных сокращений было сходным в обеих группах. По показателям суточной выживаемости животных достоверных отличий (73 % в экспериментальной и 63 % в контрольной группе) не обнаружилось. Отмечалось быстродействие конъюгата СОД-ХС-КАТ, когда достоверно наблюдалась более высокая выживаемость животных в начальный пятичасовой период времени после введения ЛПС (95 % в экспериментальной и 75 % в контрольной группе).

Продемонстрированная значимая терапевтическую эффективность биферментного конъюгата обоснованно определяет задачи последующих этапов изучения его лечебных эффектов и механизмов действия NO-зависимым и NO-независимым образом.

Настоящая работа была поддержана частично грантами РФФИ 15-04-03584 и Минздравом России.

ОСОБЕННОСТИ ХОЛЕСТЕРОЛОВОГО ПРОФИЛЯ У ЛИЦ С ГИПОХОЛЕСТЕРОЛЕМИЕЙ РАЗЛИЧНОГО ГЕНЕЗА

Е.Ю. Телепнева
УО ВГМУ, г. Витебск, кафедра общей и клинической биохимии с курсом ФПК и ПК

Резюме. Изучен холестероловый профиль крови в следующих группах обследованных лиц с гипохолестеролемией: здоровые лица, женщины со сроком беременности 6-12 недель (1 триместр) и небеременные из группы здоровых лиц; больные с верифицированным диагнозом: инфаркт миокарда, токсическое повреждение печени (лекарственный гепатит, обусловленный длительным введением аминазина), рак желудка 2-3 стадии. С помощью кластерного анализа было установлено, что холестероловый профиль крови лиц с гипохолестеролемией соответствует трём кластерам, которые соответствуют следующим вариантам дислипопротеинемий: первый кластер соответствует гипохолестеролемическому варианту атерогенной дислипопротеинемии; второй кластер соответствует гипохолестеролемическому варианту эулипопротеинемии; третий кластер соответствует гипохолестеролемическому варианту антиатерогенной дислипопротеинемии.

Ключевые слова: гипохолестеролемия, холестероловый профиль сыворотки крови, липидтранспортная система крови, кластерный анализ.

Актуальность. Холестеролопатии, как правило, протекают на фоне гиперхолестеролемии [1, 2]. Согласно классическим представлениям повышенное содержание в крови холестерола является важнейшим фактором риска атеросклероза и патогенетически связанных с ним заболеваний сердечно-сосудистой системы. Поэтому сформировалось представление о необходимости проведения гиполипидемической терапии для снижения уровня сывороточного холестерола [3]. В настоящее время развёрнута дискуссия: стоит ли снижать холестерол статинами и если снижать, до какого уровня проводить это снижение. В связи с этим появилась другая проблема – гипохолестеролемия. К сожалению, в доступной литературе все сведения разрозненны и серьёзных исследований на эту тему не проводилось.

Известно, что при низких уровнях холестерола возрастает риск психических расстройств [4, 5, 6]; относительная гипохолестеролемия у здоровых лиц связана с повышенной онкологической заболеваемостью и повышенным риском смерти от «неатеросклеротических» заболеваний [7, 8, 9, 10]; гипохолестеролемия является одним из важных маркёров прогрессирования болезни, может использоваться, как прогностический показатель тяжести течения заболевания с бактериальной патологией и связана со специфическими изменениями функции системы иммунитета [11, 12].

Падение уровня холестерола в крови ниже 3 ммоль/л у взрослых пациентов, наряду с прогрессирующим гипотиреозом и низким уровнем глюкокортикоидных гормонов в крови, может служить надежным прогностическим критерием развития критических состояний [13].

Ранее проведенные исследования [14, 15, 16, 17] выявили особенности в содержании липидов и липопротеинов в крови здоровых людей и у пациентов, страдающих различными заболеваниями, сопровождающимися гиперхолестеролемией. Однако характеристика параметров липидтранспортной системы крови, эффективности транспорта холестерола у лиц с гипохолестеролемией различного генеза практически отсутствует. До настоящего времени не определены границы колебаний отдельных показателей липидтранспортной системы при гипохолестеролемии.

Всё вышеизложенное послужило основанием для выполнения данной работы.

Материал и методы исследования. Нами изучен холестероловый профиль крови в следующих группах обследованных лиц с гипохолестеролемией: здоровые лица (124 человека); больные с верифицированным диагнозом: 274 больных, перенесших инфаркт миокарда, 20 больных токсическим повреждением печени (лекарственный гепатит, обусловленный длительным введением аминазина), 56 больных раком желудка 2-3 стадии.

В сыворотке крови определяли содержание общего холестерола (ОХС), триацилглицеринов (ТГ), холестерола липопротеинов низкой плотности (ХС-ЛПНП), очень низкой плотности (ХС-ЛПОНП) и высокой плотности (ХС-ЛПВП) с помощью полуавтоматического фотометра фирмы Кормей-ДиАна (СП Беларусь-Польша) с использованием диагностических наборов этой же фирмы.

Статистическую обработку данных производили с помощью программы STATISTICA 6.0. Использовался метод кластерного анализа.

Результаты и их обсуждение. Для разделения полученных результатов обследования лиц с гипохолестеролемией на оптимальное количество классов (групп) был применен кластерный анализ с использованием итеративного метода К-средних. Данный метод позволяет получить реальное количество групп, чтобы они были настолько различны, насколько это возможно.

Кластерный анализ проводили по показателям холестеролового профиля крови, которые включали показатели содержания ХС в крови и основных классах липопротеинов.

В результате анализа было выделено 3 кластера со следующими характеристиками (рис. 1):

1. Первый кластер: ОХС – 3,33 ± 0,19 ммоль/л, ХС-ЛПВП – 1,32 ± 0,19 ммоль/л, ХС-ЛПНП – 1,63 ± 0,21 ммоль/л, ТГ – 0,92 ± 0,25 ммоль/л (соответствует гипохолестеролемическому варианту атерогенной дислипопротеинемии [18]). В этот кластер вошли показатели 24 % обследованных лиц с гипохолестеролемией, из них 50 % составляли показатели холестеролового профиля крови больных инфарктом миокарда, 42 % – больных раком желудка и 8 % – здоровых лиц.

2. Второй кластер: ОХС – 3,21 ± 0,28 ммоль/л, ХС-ЛПВП – 1,06 ± 0,25 ммоль/л, ХС-ЛПНП – 1,36 ± 0,18 ммоль/л, ТГ – 1,70 ± 0,40 ммоль/л

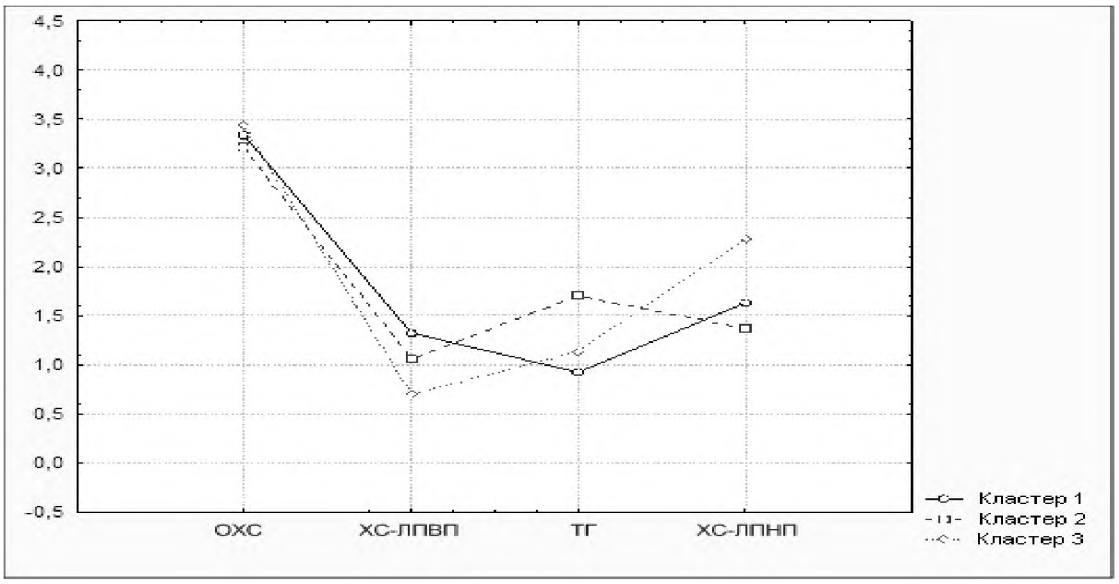


Рисунок 1. Характеристики кластеров холестеролового профиля крови пациентов с гипохолестеролемией

(соответствует гипохолестеролемическому варианту эулипопротеинемии [18]). Данный кластер объединил показатели 22 % обследованных лиц и состоял из 37 % показателей холестеролового профиля крови здоровых лиц, 36 % – больных раком желудка, 27 % – больных гепатитом.

3. Третий кластер: ОХС – 3,43 ± 0,12 ммоль/л, ХС-ЛПВП – 0,70 ± 0,21 ммоль/л, ХС-ЛПНП – 2,28 ± 0,20 ммоль/л, ТГ – 1,14 ± 0,39 ммоль/л (соответствует гипохолестеролемическому варианту антиатерогенной дислипопротеинемии [18]). Это был самый многочисленный кластер, в него вошли показатели 54 % обследованных лиц с гипохолестеролемией. Ядро кластера составляли показатели здоровых лиц с гипохолестеролемией - 52%, 26 % – показатели беременных в первом триместре, по 11% – показатели больных гепатитом и раком желудка.

Выводы. Показатели холестеролового профиля крови здоровых лиц в основном формируют второй и третий кластеры. Сходные холестероловые профили крови со здоровыми лицами обнаружены у больных гепатитом (100 %), беременных в первом триместре (100 %), раком желудка – 52 %.

Показатели холестеролового профиля больных инфарктом миокарда формируют обособленный первый кластер (100 % больных), такой же холестероловый профиль крови встречается у 42 % больных раком желудка.

Показатели холестеролового профиля всех беременных женщин в первом триместре соответствовали признакам третьего кластера.

Подводя итог, следует отметить, что обнаруженный нами факт наличия общих признаков холестеролового профиля крови здоровых лиц с гипохолестеролемией с холестероловым профилем крови больных с гепатитом (100% больных) и раком желудка (52% больных), предполагает возможность бессимтомного течения этих заболеваний у лиц с гипохолестеролемией и необходимость уделять повышенное внимание профилактике указанных заболеваний у здоровых лиц с обнаруженной гипохолестеролемией.

Список литературы

1. Коневалова Н.Ю. Характеристика липидтранспортной системы при холестеринозе и холестеринодефиците (лабораторная диагностика) / Н.Ю. Коневалова // Справка РОНМИ, МЗ Беларуси. – 1993. – С. 1-6.
2. Реактивность липидтранспортной системы крови при гиперлипидемиях различного генеза / Н.Ю. Коневалова [и др.] // Материалы юбилейной научно-практической конференции, посвящённой 40-летию ЦНИЛ и 55-летию СНО ВГМУ. – Витебск, 2003. – С. 14-16.
3. Аронов Д.М. Лечение и профилактика атеросклероза / Д.М. Аронов. – М.: Триада-Х, 2000. – 412 с.
4. Розанов В.А. Системный липидный обмен и суицидальное поведение / В.А. Розанов, А.А. Мидько // Биологическая психиатрия. – 2006. – № 4. – С. 3-12.
5. Steegmans P.H. Higher prevalence of depressive symptoms in middle-aged men with low serum cholesterol levels / P.H. Steegmans // Psychsom Med. – 2000. – Vol. 62. – P. 205-211.
6. Total serum cholesterol in relation to psychological correlates in parasuicide / M. Garland [et al.] // British Journal of Psychiatry. – 2000. – Vol. 177. – P. 77-83.
7. Reduced low-density-lipoprotein cholesterol causing low serum cholesterol levels in gastrointestinal cancer: a case control stady. / Y. Tomiki [et al.] // J. Exp. Clin. Cancer Res. – 2004. – Vol. 23, № 2. – P. 233-240.
8. Notarnicola M. Serum lipid profile in colorectal cancer patients with and without synchronous distant metastases / M. Notarnicola // Oncolody. – 2005. – Vol. 68, № 4-6. – P. 371-374.
9. Assessment of lipids profile in sudanese leukemic patients / Ibrahim I. Nahla [et al.] // European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences. – 2015. – Vol. 2, Issue 3. – P. 653-658.
10. Song J.X. Primary and secondary hypocholesterolemia / J.X. Song, J.Y. Ren, H. Chen // Beijing Da Xue Xue Bao. – 2010. – Vol. 42. – P. 612-615.
11. Холестерин и липопротеины низкой плотности как эндогенные иммуномодуляторы / Э.А. Доценко [и др.] // Клин. Иммунопатология. – 2001. – № 3. – С. 6-15.
12. Гипохолестеринемия как прогностический критерий тяжести внебольничной пневмонии / С.Е. Алексейчик [и др.] // Материалы научно-практической конференции, посвященной 30-летию УЗ «10-я многопрофильная клиническая больница». – Минск, 2015. – С. 181-185.
13. Гипохолестеринемия – как критерий прогноза в хирургической практике / Е.Д. Чикова [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 8-1. – С. 174-178.
14. Распространение атерогенных типов дислипопротеинемий у участников ликвидации последствий аварии на Чернобыльской АЭС / А.А. Чиркин [и др.] // Теоретические и прикладные вопросы современной медицины и фармации: сб. науч. работ. – Витебск, 1996. – С. 69-71.

15. Коневалова Н.Ю. Реактивность липидтранспортной системы крови у онкологических больных / Н.Ю. Коневалова, Н.Г. Луд, А.А. Чиркин // Вопросы клинической медицины: сб. науч. тр. – Витебск, 1997. – С. 123-125.
16. Фомченко Г.Н. Состояние липидтранспортной системы крови у женщин с нормально и патологически протекающей беременностью / Г.Н. Фомченко // Охрана материнства и детства. – 2003-2004. – № 4-5. – С. 44-48.
17. Фомченко Г.Н. Реактивность липидтранспортной системы при медикаментозном токсическом повреждении печени / Г.Н. Фомченко, И.А. Ядройцева, Д.М. Осипчук // Сб. материалов конференции студентов и молодых ученых «Актуальные вопросы современной медицины и фармации». – Витебск, 2002. – С. 29-31.
18. Камышников В.С. Новый подход к классификации и интерпретации форм липопротеинемий / В.С. Камышников // 18 IFCC-EFCC European Congress of Clinical Chemistru and Laboratory Medicine: Insbruck Austria Congress (Innsbruck, 7-11 июня 2009). – Innsbruck, 2009.

БИОХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПАТОГЕНЕЗА НЕКАРИОЗНЫХ ПОРАЖЕНИЙ ЗУБОВ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

Г.И. Алекберова, И.А. Пушкин
Московский государственный медико-стоматологический университет имени А.И. Евдокимова, г. Москва, кафедра биологической химии

Резюме. В данной статьеотражены факторы, способствующие развитию некариозных поражений у пациетов с тХПН. Обращает внимание, что у пациентов с ХПН имеется повышенный риск стоматологических заболеваний и характерные изменения в полости рта.У больных с тХПН, имеется нарушение функции слюнных желёз, что проявляется в изменении количества и качественного состава смешанной слюны, заболевании мягких и твёрдых тканей

Ключевые слова: хроническая почечная недостаточность, некариозные поражения зубов, смешанная слюна.

Актуальность. В настоящее время отмечается увеличение пациентов, страдающих заболеваниями почек [1]. Среди них неуклонно возрастает число больных с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (тХПН) [1]. По данным отечественной и зарубежной литературы у пациентов с ХПН имеется повышенный риск стоматологических заболеваний и характерные изменения в полости рта. Популяция больных с тХПН во всем мире насчитывает более 1,7 млн. пациентов, из них 1,3 млн. получаютгемодиализное лечение [2], обеспечивающее поддержание жизни на достаточно высоком уровне.

Усугубляет клиническую картину этих состояний хроническая инфекция, которая находится в полости рта. Отсутствие санации полости рта может

привести к септицемии, инфекционному эндокардиту, эндартериту сосудов в месте доступа катетера при перитонеальном диализе, отторжению трансплантата [3] и в целом отрицательно повлиять на прогноз лечения заболеваний почек. Исследования состояния полости рта у больных с тХПН выявили высокую распространенность заболеваний тканей полости рта и, как следствие, значительную нуждаемость в стоматологической помощи [4].

Исследованиями последних лет установлено, что стоматологическая заболеваемость у пациентов с тХПН обусловлена не только уремической интоксикацией, но и и нарушением фосфорно-кальциевого обмена, различными метаболическими и водно-электролитными расстройствами, анемией, эндокринными и другими нарушениями [3, 4].

Слюнные железы начинают секретировать в полость рта креатинин, при этом растет активность аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы, глутатиондисмутазы. В доступной нам отечественной литературе мало работ, определяющих состояние зубных рядов у пациентов с тХПН, получающих лечение гемодиализом[5, 6]. Показано, что у пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности, наряду с кариозными поражениями зубов имеются имеются некариозные поражения, что является специфичным для данных групп пациентов [7, 8].

Материалы и методы. Всего обследовано 50 пациентов с тХПН, получающих амбулаторный гемодиализ 3 раза в неделю. Средний возраст больных с тХПН составил 49 ±13 лет. Из них женщин – 35 (70%) , мужчин –15 (30%). В группу контроля (КГ) вошли 15 здоровых добровольцев (7-мужчин и 8-женщин) того же возраста с санированной полостью рта, не имеющих общесоматической патологии.

При изучении состояния слюнных желёз и полости рта пациентов с тХПН использовали общие, частные и специальные методы исследований. В крови определяли уровень гемоглобина, креатинина, мочевины, содержание кальция и фосфатов. Состояние тканей полости рта оценивали с использованием следующих индексов: КПУ, Green-Vermillion, пародонтального индекса CPITN. Выявляли количество некариозных поражений зубов, имеющиеся дефекты зубных рядов.Сиалометрию осуществляли путём сбора не стимулированной смешанной слюны в пробирки в течение 10 минут (по методу В.К. Леонтьева и Ю.А.Петровича, 1976). Предварительно измерив объём, определяли pH нестимулированнойсмешанной слюны,при помощи портативного pH-метра «Hanna», далее полученный материал центрифугировали (6000 об/мин. в течение 15 мин, и в супернатанте определяли активность щелочной фосфатазы (ЩФ) по методу Young D.S. (1997), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспартатаминотрансферазы (АСТ), глутатионпероксидазы (ГПО), супероксиддисмутазы (СОД) с использованием стандартных наборов реактивов фирмы “Human ” (Германия). Активность ферментов выражали в МЕ/л, также в смешанной слюне спектрофотометрическим методом определяли содер-

жание неорганического фосфата, общего кальция, магния, хлоридов и выражали в ммоль/л, а также креатинина (мкмоль/л) и мочевины (ммоль/л); количество sIgA, IgA ,M, G (Ед/л) и цистатина С в слюне методом твердофазного иммуноферментного анализа (тИФА).

Статистическую обработку результатов исследований проводили методом вариационной статистики (Реброва О.Ю.,2003) с использованием компьютерной программы Statistica 6.0.

Результаты и их обсуждение. Проведённый мониторинг об оказании пациентам с тХПН стоматологических услуг показал, что ни одному пациенту никогда не проводилась профессиональная гигиена полости рта. При визуальном осмотре тканей и органов полости рта пациентов с тХПНобнаружены проявления уремического стоматита.Такое поражение слизистых оболочек C. Dawes (2003) связывает с усиленной реабсорбцией мочевины через эпителий слизистых ротовой полости. Недостаток увлажнённости слизистой оболочки полости рта выявлялся в 84% случаев. Это приводило к развитию ксеростомии, возникающей на фоне высокого содержания в смешанной слюне таких токсичных продуктов, как мочевина и креатинин.

Объективно в тканях пародонта у 90% пациентов с тХПН преобладали дистрофические процессы. У 56,6% пациентов выявлены множественные некариозные поражения в виде клиновидного дефекта в пришеечной части твердых тканей зубов. У 100% пациентов с тХПН, вошедших в исследование, имелась повышенная стираемость резцового края коронки зубов. Уровень гигиены полости рта по УИГР (Green-Vermillion, 1964) в среднем равнялся 2,7±0,3 балла, что соответствовало плохой гигиене полости рта.

Скорость саливации (Vsal) у пациентов с тХПН в среднем составила 0,17±0,07 мл/мин. В смешанной слюне у больных с тХПН также имелось некоторое увеличение фосфатов и снижение общего кальция и магния. В образовании зубных поверхностных отложений помимо изменений в минеральном составе и pH слюны, большую роль играет процесс трансаминирования. Следует также отметить, что развитие оксидативного стресса сопровождается повреждением эндотелия сосудов, с последующим расстройством микро- и макроциркуляции, что и наблюдается в тканях пародонта при развитии воспаления (Цепов А.М., 2006).

Исследование активности аланинаминотрансферазы и аспартатаминотрансферазы у больных с тХПНпоказало, что активность АСТ была значимо повышена до 50,0±22,1ЕД/л, АЛТ до 35,7±18,1ЕД/л, ЩФ до 28,4±9,09ЕД/л. Выявленное повышение активности СОД 6,90±0,10 МЕ/л; ГПО 52,7±9,70 МЕ/л и Цистатина С до 2997±798 пг/мл у больных с тХПН можно расценивать как свидетельство развития патологических процессов в пародонте и поступление этих ферментов как из клеток, так и плазмы крови в слюну.

По результатам наших исследований значение pH смешанной слюны у пациентов с тХПН было сдвинуто в щелочную сторону и в среднем составило 7,68±0,07, в то время как в контрольной группе pH слюны было

около 7,0 и в среднем составило 6,94±0,04. Повышенные значения pH смешанной слюны могут быть связаны как с увеличением бикарбонатов, так и ростом количества аммиака, освобождаемого в процессе гидролиза мочевины уреолитическими бактериями.

Количество мочевины в смешанной слюне у пациентов с тХПН было высоким и в среднем составило 55,0±4,6 ммоль/л. Концентрация другого продукта катаболизма – креатинина – в смешанной слюне больных с тХПН достигала 201,2±30,0 мкмоль/л. Определение количества иммуноглобулинов A,M и G показало, что оно было в 3 раза повышено по сравнению с данными контрольной группы. Выявлено достоверное повышение содержания иммуноглобулина А по сравнению с контролем, 80% которого представлено sIgA, который препятствует адгезии микроорганизмов и активно участвует в процессе фагоцитоза. Обнаруженное достоверное повышение концентрации сывороточного иммуноглобулина G говорило о том, что данный класс иммуноглобулинов, вступая в реакцию с антигеном, также активно выступает в роли антитоксинов и агглютининов.

Антитела «Первой реакции на антиген» – иммуноглобулины М также присутствовали в смешанной слюне этой группы больных в высоком количестве, что также свидетельствует о наличии воспалительного процесса (Е.А.Кузнецов, 1995).

В смешанной слюне также достоверно повышалось количество общего белка.Увеличение концентрации белка следует связывать с уменьшением объёма смешанной слюны у больных с тХПН. Таким образом, результаты наших исследований показали, что у больных с тХПН, имеется нарушение функции слюнных желёз, что проявляется в изменении количества и качественного состава смешанной слюны, заболевании мягких и твёрдых тканей. Данные патологические изменения полости рта и слюнных желёзах связаны с нарушением работы почек и токсическим воздействием продуктов.Следовательно, пациентам с тХПН необходимо проводить специальную лечебную программу, включающую мероприятия по улучшению функции слюнных желез, нормализации кислотно-основного равновесия в полости рта, стоматологическую санацию.Биохимические исследования ротовой жидкости у пациентов с тХПНвыявили значительные изменения, по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, наши данные и результаты исследования других авторов позволили выделить несколько групп факторов, которые способствовали бы развитию некариозных поражений.

1. Снижение количества слюны у больных с тХПН сопровождает нарушение минеральной и защитной функции смешанной слюны, поскольку слюна является источником ионов для формирования поверхностных слоев эмали зубов.

2. Слюна имеет мицеллярное строение.

Снижение количества ионов кальция в наружном слое мицеллы нарушает строение мицеллы слюны и тем самым сказывается на минерализации эмали.

3. Увеличение количества ионов хлора приводит к изоморфному замещению в кристаллах гидроксиапатита и появлению новых форм апатитов.

4. Наличие воспалительного процесса тканей полости рта сопровождается ацидозом, что приводит к разрушению кристаллов гирдроксиапатита в кислой среде и последующей деминерализации эмали зубов. Воспалительные заболевания полости рта обусловлены воздействием преимущественно смешанных бактериальных и дрожжевых инфекций с более выраженной анаэробной составляющей.

5. У пациентов с тХПН выявлено значительное снижение уровня гигиены полости рта, что способствует возникновению воспалительных заболеваний полости рта.

Таким образом, все вышеперечисленные компоненты могут способствуют развитию некариозных поражений зубов у пациентов с тХПН.

6. Сдвиг pH в щелочную сторону введет к нарушению мицеллярной структуры фосфорно-кальциевых соединений слюны и ведет к нарушению важнейшего свойства слюны- ее минерализующей способности.

Выводы. Таким образом, изменение функций слюнных желез и воспалительные процессы в тканях полости рта, а также нарушение фосфорно-кальциевого обмена являются основными патогенетическими факторами развития некариозных поражений твердых тканей зубов у пациентов с тХПН.

Список литературы

1. Особенности состояния тканей полости рта у пациентов, получающих гемодиализ / Д.Ю. Орехов [и др.] // Ж. Cathedra. – 2008. – Т. 7, №3. – С. 208.
2. DeRossi S.S. Dental considerations for the patient with renal disease receiving hemodialysis / S.S. DeRossi, M. Glick // JAmDentAssoc. – 1996. – Vol. 127. – P. 211-219.
3. Физико-химические свойства ротовой жидкости у пациентов схронической почечной недостаточностью до и после гемодиализа / С.В. Чуйкин [и др.] //Материалы республиканской конференции стоматологов «Профилактика основных стоматологических заболеваний». – Уфа, 2011. – С. 221-223.
4. Вавилова Т.П. Слюна. Аналитические возможности и перспективы / Т.П. Вавилова,О.О. Янушевич, И.Г. Островская. – М.: БИНОМ, 2014. – 312 с.
5. Вавилова Т.П. Биохимия тканей и жидкостей полости рта: учеб. пособие / Т.П. Вавилова. – 2-е изд., испр. идоп. – М., 2008. – 250 с.
6. Hanson L.A. The discovery of secretory IgA and the mucosal immune system / L.A. Hanson, P. Brandtzaeg // Immunol Today. – 1993. – №14. – P. 416-417.
7. Evaluation of salivary parametrs and dental status in adult hemodialysis patients / G. Bayraktar [et al.] // ClinNephrol. – 2004. – Vol. 62, №5. – P. 380-383.
8. Oral and dental aspects of chronic renal failure / R. Proctor [et al.] // J Dent Res. – 2005. – Vol. 84. – P. 199-208.

ОЦЕНКА ВЫРАЖЕННОСТИ ЭНДОГЕННОЙ ИНТОКСИКАЦИИ СТУДЕНТОВ МЕДИЦИНСКОГО ВУЗА

Р.М. Бердиев[1], М.А. Фомина[1], В.А. Кирюшин[2], Е.Ю. Ястреба[3], Л.С. Ромашова[3]
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО (1)
кафедра профильных гигиенических дисциплин с курсом гигиены,
эпидемиологии и организации госсанэпидслужбы ФДПО (2)
студенты 5 курса медико-профилактического факультета (3)

Резюме. Изучен уровень веществ низкой и средней молекулярной массы в слюне студентов медицинского вуза, ведущих разный образ жизни. Отмечено, что студенты, занимающиеся спортом, менее подвержены влиянию экзаменационного стресса и имеют более низкие уровни веществ низкой и средней молекулярной массы в слюне.

Ключевые слова: вещества низкой и средней молекулярной массы, эндогенная интоксикация, слюна, студенты, экзаменационный стресс.

Актуальность. С первого дня учебы студент медицинского вуза начинает испытывать возросшие интеллектуальные и физические перегрузки в новых для себя условиях жизни, обострение возникающих межличностных взаимоотношений, что поднимает уровень адаптации на следующие ступени. В результате, сообщество студентов медицинского профиля можно отнести к группе высокого риска возникновения и прогрессирования различных заболеваний, в том числе и хронических [1, 2, 3, 4].

Установлено, что химический состав слюны отличается высокой чувствительностью к эмоциональному напряжению, а скорость секреции и состав слюны зависят и от функционального состояния нервной системы: изменения состава слюны меньше выражены у лиц со стабильной нервной системой, причем восстановление нормального состава слюны у этой группы происходит быстрее, чем у лиц с лабильной нервной системой [5, 6].

Пул веществ низкой и средней молекулярной массы включает в себя компоненты пептидной природы, гормоны, продукты биодеградации фибриногена, альбумина, тромбина, a_2-макроглобулина, эндорфины, кинины, фрагменты коллагена, а также производные олигоспиртов, полиамины, аминосахара, гликопептиды, нуклеотиды и т.д.

Увеличение уровня молекул средней массывозможно при тяжелых физических нагрузках [7]. Имеются данные о том, что повышение уровня молекул средней массы у студентов возможно при эмоциональном стрессе [8].

Вещества низкой и средней молекулярной массы (далее ВНиСММ), определяемые в слюне и представляющие новый биохимический критерий, дают возможность оценить как меру здоровья, так и степень патологии, выраженные в количественных показателях. Этот критерий появился в результате поиска подходов к оценке эндогенной интоксикации.

Эндогенная интоксикация представляет собой сложный, многокомпонентный процесс, обусловленный биологической активностью большой и разнообразной группы эндогенных факторов. При этом, характер и направленность развития токсикоза во многом зависят от патогенетических факторов эндогенной интоксикации и состояния биологических барьеров, сдерживающих прорыв токсинов, а также естественных механизмов их переноса, депонирования, биодеградации и выведения. Понятие о субстрате эндогенной интоксикации до конца не сформировано, и отсюда все трудности её верификации. Согласно представлениям, эндогенная интоксикация являет собой меру метаболического ответа организма на любой агрессивный фактор[9, 10].

Цель исследования: оценка выраженности эндогенной интоксикации у студентов медицинского вуза в динамике учебного процесса.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 28 студентов лечебного и медико-профилактического факультетов; 10 мужчин – 35,7% и 18 женщин – 64,3%, средний возраст 19±1,2 лет. В контрольную группу были включены студенты, ведущие здоровый образ жизни, активно занимающиеся спортом. По результатам медицинского контроля все обследованные признаны здоровыми. У студентов в течение учебного семестра и экзаменационной сессии проводился забор слюны натощак. Определение веществ низкой и средней молекулярной массы в слюне выполнено по методике М.Я. Малаховой. Расчет конечного результата проведён с помощью интегрального измерения площади фигуры, образованной полученными значениями экстинкций, путем умножения суммы значений экстинкций на шаг длины волны:

$$ВНиСММ_{сл} = (E_{238} + E_{242} + E_{246} + ... + E_{306})x\ 4 \text{ (усл. ед)}$$

Регистрация спектра в данной зоне ультрафиолета позволяет произвести комплексную оценку более 200 наименований веществ, образующихся при нормальном метаболизме и нарушенных обменных процессах [11].

Результаты были обработаны с помощью стандартных статистических пакетов программMicrosoftExcel 2010 и Statistica v.10. Проверка нормальности распределения полученных данных проводилась с помощью критерия Шапиро-Уилка (W-критерий). Для оценки статистической значимости различий независимых выборок использовался t-тест Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Как видно из таблицы 1, установлены статистически достоверные отличия в опытной и контрольной группах как во время фоновых измерений, p=0,0028, так и во время экзаменационной сессии, p=0,00008.

Уровень эндогенной интоксикации во время фоновых измерений оказался на 14,6% выше в опытной группе по сравнению с контролем. Во время экзаменационной сессии эта разница возросла до 23,6% (рис. 1).

Как видно из рисунка 2, в опытной группе выраженность эндогенной интоксикации во время экзаменационной сессии достоверно выше по сравнению с фоновыми показателями, разница составила 12,3%, p=0,0072. В контрольной группе не было выявлено статистически значимых разли-

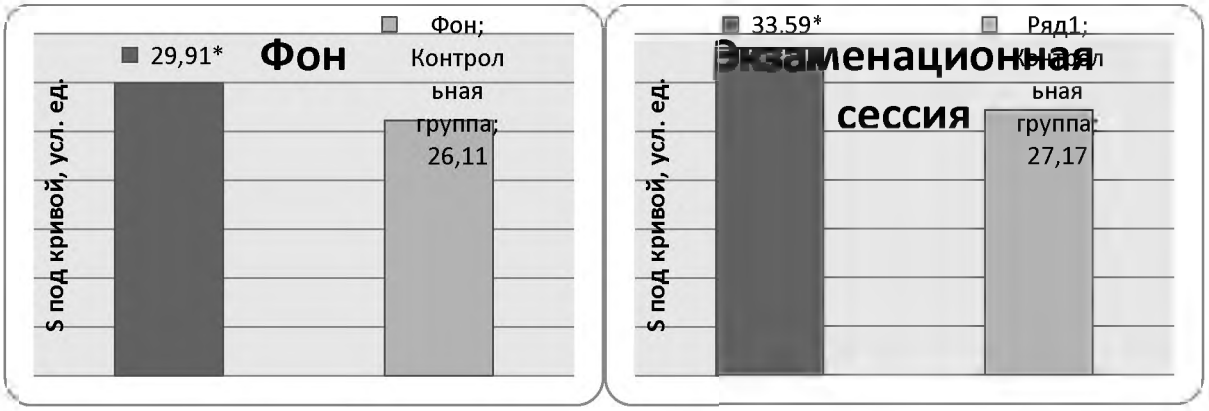
чий данного показателя во время экзаменационной сессии по сравнению с фоновыми значениями, p=0,4158.

Таблица 1

Средние значения площадей под кривой спектра ВНиСММ в слюне, условные единицы, M±s

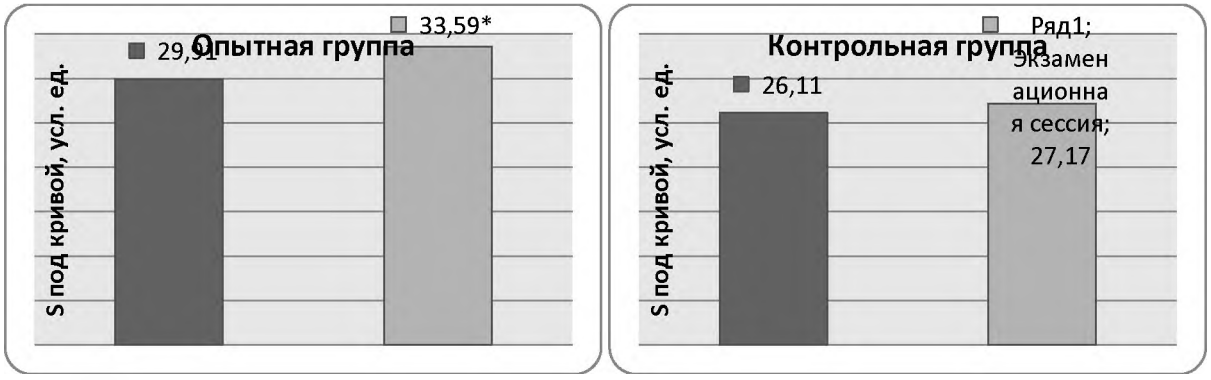
Фон		Экзаменационная сессия	
Опытная группа, n=14	**Контрольная группа, n=14**	**Опытная группа, n=14**	**Контрольная группа, n=14**
29,91±3,34*	**26,11±2,71**	**33,59±3,32***	**27,17±3,92**

** – статистически значимые отличия, p<0,05*



** – статистически значимые отличия, p<0,05*

Рисунок 1. Сравнение средних значений уровня ВНиСММ в слюне при фоновых измерениях (слева) и во время экзаменационной сессии (справа), условные единицы



** – статистически значимые отличия, p<0,05*

Рисунок 2. Динамика средних значений уровня ВНиСММ в слюне опытной (слева) и контрольной (справа) групп, условные единицы

Выводы

1. Студенты, ведущие здоровый образ жизни, а также активно занимающиеся спортом, имеют более низкий уровень веществ низкой и средней молекулярной массы в слюне, что свидетельствует о менее выраженной эндогенной интоксикации.

2. Экзаменационная сессия оказывает негативное влияние на состояние здоровья студентов, которые не занимаются спортом, вызывая метаболический ответ в виде повышения уровня веществ низкой и средней молекулярной массы, способствуя усилению эндогенной интоксикации.

Список литературы

1. Изучение образа жизни, состояния здоровья и успеваемости студентов при интенсификации образовательного процесса / Н.А. Агаджанян [и др.] // Гигиена и санитария. – 2005. – N3. – С.48-52.
2. Распространенность употребления психоактивных веществ среди юношей и девушек, обучающихся в высших учебных заведениях А.В. Сафронова [и др.] // Наука молодых (EruditioJuvenium). – 2014. – №3. – С.109-113.
3. Психологические факторы эмоциональной дезадаптации у студентов / А.Б.Холмогорова [и др.] //Вопросы психологии.- 2009.-N3. -С. 16-26.
4. Medicalstudents' health-relatedqualityoflife: rolesofsocialandbehaviouralfactors / A. Jamali [etal.] // Med. Educ.- 2013.-Vol.47, N10. – P.1001-1012.
5. Психоэмоциональный компонент в регуляции секреторной деятельности слюнных желез человека / И.В. Григорьев [и др.] // Проблемы теоретической медицины и формации: сб. науч. тр. – Витебск, 1997. – С.61-64.
6. Изменение биохимических показателей, характерных для острого эмоционального стресса, в ротовой жидкости у людей в условиях естественного и повышенного фонов радиоактивности / Л.М.Тарасенко [и др.] // Физиол. журн.- 1993. – Т.39, N 5. – С.27-31.
7. Туликова З.А. Среднемолекулярные уремические токсины (обзор литературы) / З.А. Туликова // Вопр. мед.химии.- 1983.- N 1. – С.2-10.
8. Интенсивность свободнорадикальных процессов и активность антиоксидантных ферментов в слюне и плазме крови людей при эмоциональном напряжении / А.И.Лукаш [и др.] // Вопр. мед.химии.-1999.- Т.45, N6. – С.507-512.
9. Метаболический статус организма: метод регистрации, клиническое использование и интерпретация результатов / М.Я. Малахова [и др.] // Экстремальные состояния и постреанимационная патология: сб. трудов Новосибирского мед.ин-та. – Новосибирск, 1989. – С. 89-91.
10. Малахова М.Я. Формирование биохимического понятия "субстрат эндогенной интоксикации" / М.Я. Малахова // Тез. Междунар. симпоз. «Эндогенные интоксикации». – СПб., 1994. – С.38.
11. Малахова М.Я. Метод регистрации эндогенной интоксикации: пособие для врачей / М.Я. Малахова.- СПб.:МАПО,1995. – 33с.

ИНТЕГРАЦИЯ ЦИФРОВЫХ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ТЕХНОЛОГИЙ В ИССЛЕДОВАНИИ МОЧИ

О.А. Гусякова[1], М.В. Видманова[2], Л.Н. Виноградова[1], О.Ю. Кузнецова[1], С.И. Мурский[1], А.Н. Шастина[1], А.М. Чаулин[1]
ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» МЗ РФ, г. Самара (1)
ФГОУ «Центр государственного сан-эпидемиологического надзора в Самарской области» (2)

Резюме. Исследование посвященосозданию оптимального алгоритма тестирования мочи на наличие бактериурии с использованием культурального метода и лазерной цитофлюориметрии.

Ключевые слова:инфекции мочевыводящих путей, диагностический титр возбудителей, автоматический анализ осадка мочи, идентификация флоры.

Актуальность. Инфекции мочевыводящих путей широко распространены во всем мире: в России их распространенность составляет около 1000 случаев на 100000 населения в год. [1,2]. Эта группа заболеваний лидирует среди внутрибольничных инфекций, составляя около 40% от их общего числа. [3,4]. Основным методом диагностики по-прежнему служит микробиологическое исследование мочи при посеве, однако длительность метода (до 3-х дней) ограничивает его использование в условиях неотложной помощи. В то же время традиционное микроскопическое исследование осадка мочи является достаточно субъективным и характеризуется большим коэффициентом аналитической вариации [5,6,7]. Целью исследования было создание оптимального алгоритма тестирования мочи на наличие бактериурии с использованием культурального метода и лазерной цитофлюориметрии.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе клинико-диагностической лаборатории Клиник СамГМУ. На степень бактериурии было исследовано 710 проб мочи. Из каждого образца стерильной петлей брали 10 мкл мочи и сеяли на питательную среду (5% кровяной агар) и в последующем через 24-48 часов оценивали рост, образец сразу после посева в течение 15-20 минут анализировали на проточном цитометре Sysmex UF-500i. В соответствии с характером роста микрофлоры на питательной среде результаты посева мочи классифицировали по 8 категориям по степени бактериурии.

Результаты и их обсуждение. В 52% роста микрофлоры не было обнаружено, в 21% образцов бактериурия была незначительной ($<10^4$КОЕ/мл), положительный результат микробиологического исследования (рост больше или равен 10^4 КОЕ/мл) наблюдался в 27% образцов, в том числе и в 4, 2% – получен рост смешанной флоры. Однако определить уровень значимой бактериурии (больше 104КОЕ/мл) весьма затруднительно из-за влияния многих факторов, например, таких как, метод сбора мочи (преаналитический этап), клинической картины заболевания, а также патогенных свойств микроорганизмов (их принадлежности к первичным и вторичным возбудителям, метода

определения титра бактерий).По мнению специалистов Европейской конфедерации лабораторной медицины, диагностический титр первичных возбудителей инфекций мочевыводящих путей, обнаруженных в собранной при естественном мочеиспускании пробе мочи, должен быть не менее 103 КОЕ/мл, а других бактерий – ≥104 КОЕ/мл (для женщин) и ≥103 КОЕ/мл (для мужчин)[8,9]. Количественными критериями постановки диагноза на инфекции мочевыводящих путей служат:

- при изоляции монокультуры первичных возбудителей ИМП – титр ≥ 103 КОЕ/мл;

- при изоляции монокультур других бактерий – титр ≥ 104 КОЕ/мл;при изоляции смешанной культуры двух бактерий – титр ≥ 10 5 КОЕ/мл.

Параллельно с микробиологическим анализом те же образцы исследовали с помощью автоматизированного анализатора осадка мочи Sysmex UF-500i. Этот анализатор измеряет число бактериальных клеток с помощью проточной цитометрии в сочетании с импедансным методом. Бактерии окрашиваются специфическим полиметиновым флуоресцентным красителем и анализируются в отдельном канале, благодаря чему этот метод обладает высокой чувствительностью и позволяет точно определять низкие концентрации бактерий (до 10^2–10^3 в мл). В комбинации с одновременным подсчетом в моче лейкоцитов и грибков такой анализ дает быструю информацию о наличии или отсутствии инфекции мочевыводящих путей [10,11].

Таблица 1

Сравнение результатов посева мочи и анализа бактериурии UF-500

	Результаты аппарата UF-500(содержание бактерий в 1 мл мочи)					
	10^2	10^3	10^4	10^5	10^6	10^7
Всего*/+образцы**	1/0 (0%)	17/2 (12%)	41/15 (37%)	37/23 (62%)	9/8 (89%)	5/5 (100%)

* количество образцов мочи с данной степенью бактериурии

**число и (%) образцов, где получен рост бактерий, при бактериологическом посеве

По данным таблицы можно проследить линейную зависимость между увеличением степени бактериурии (результаты UF-500) и процентом проб с ростом бактериальной культуры (бактериологический посев). При степени бактериурии 10^7- рост флоры наблюдался в 100% образцов.

Исследование мочи с помощью анализатора UF-500i показало его способность выявлять бактерии, относящиеся к широкому видовому спектру (табл 2).

Сравнение исследования на анализаторе UF-500 с традиционным микробиологическим исследованием мочи показало высокую диагностическую точность. При клинически значимой бактериурии 10^6 и 10^7КОЕ/мл (результаты SYSMEXUF-500i) рост при бактериологическом посеве наблюдался в 89% и 100% соответственно, можно проследить линейную зависимость между увеличением степени бактериурии (результаты UF-500) и процентом проб с ростом бактериальной культуры. При степени бакте-

Таблица 2

Бактерии, выделенные из положительных образцов мочи

Вид микроорганизма		%
E.coli	7	13
K. pneumoniae	4	8
Citrobacter spp.	3	6
Proteus spp.	1	2
Enterococcus	13	24
Staphylococcus aureus	1	2
Staphylococcus haemolyticus	7	13
Staphylococcus spp.	3	6
Staphylococcus epidermidis	2	4
Streptococcus	5	9
Enterococcus+ E. Coli	1	2
Lactobacillus	6	11
всего	53	100

риурии 10^7- рост флоры наблюдался в 100% образцов, причем исследование мочи с помощью анализатора UF-500i показало его способность выявлять бактерии, относящиеся к широкому видовому спектру. В 23% образцов, в которых обнаружена клинически значимая степень бактериурии (больше или равно 10^5КОЕ/мл, сопровождающаяся лейкоцитурией(50% образцов, данные SYSMEXUF-500i) в подавляющем большинстве преобладает *E.coli* и *K. pneumoniae* (по 25%), на втором месте *Citrobacterspp.* (17%). Таким образом, можно сказать, что в образцах со значимой степенью бактериурии доминировала грамотрицательная флора.

Выводы. Использование анализатора SysmexUF-500 для проведения быстрого скрининга в рамках микробиологического исследования мочи позволяет: во-первых, отделить образы без признаков инфекции мочевыводящих путей с высокой производительностью – до 60 образцов в час, во-вторых, культивировать только те пробы, в которых выявлена бактериурия, в-третьих, позволяет исключить слепое назначение антибиотиков, что ведет как к уменьшению расходов лечебного учреждения, так и к снижению риска генерации резистентной флоры.

Списоклитературы

1. Schappert S.M. Ambulatory care visits tophysician offices, hospital out patient departments, andemergency departments: United States, 1997 / S.M. Schappert // Vital Health Stat 13. – 1999. – Vol. 143. – P. 1-39.
2. Stamm W.E. Scientific and clinical challenges in the management of urinary tract infections / W.E. Stamm // Am J Med. – Vol. 113 (1A). – P. 1S-4S.
3. Rosenberg M. Pharmacoeconomics of treating uncomplicated urinary tract infections/ M.Rosenberg // Int J Antimicrob Agents. – 1999. – Vol. 11. – P. 247-251.

4. Лоран О.Б. Эпидемиологические аспекты инфекций мочевыводящих путей / О.Б. Лоран // Материалы международного симпозиума «Инфекции мочевыводящих путей у амбулаторных больных». – М.: Россия, 1999. – С. 5-8.
5. Stamm W.E.Management of urinary tract infections in adults/ W.E. Stamm,T.M. Hooton // N Engl J Med. – 1993. – Vol. 329. – P. 1328-1334.
6. Hooton T.M. Practice guidelines for urinary tract infections in the era of managed care/ T.M. Hooton // Int J Antimicrob Agents. – 1999. – Vol. 11. – P. 241-245.
7. Group B streptococcus bacteremia in nonpregnant adults / P. Munoz [et al.] // Arch Intern Med. – 1997. – Vol. 157. – P. 213-216.
8. Microbiologic survey of long-term care facilities / P.W. Smith [et al.] // Am J Infect Control. – 2000. – Vol. 28. – P. 8-13.
9. Does this child have a practice parameter: the diagnosis, treatment, and evaluation of the initial urinary tract infection in febrile infants and young children / N. Shaikh [et al.] American Academy of Pediatrics. Committee on Quality Improvement. Subcommittee on Urinary Tract Infection // Pediatrics. – 1999. – Vol. 103. – P. 843-852.
10. Anon. European Urinalysis Guidelines // Scand J Clin Lab Invest. – 2000. – Vol. 60. – P. 1-96.
11. Cutoff values for bacteria and leukocytes for urine flow cytometer Sysmex UF-1000i in urinary tract infections / F. Manoni [et al.] // Diagn Microbiol. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 65. – P. 103-107.

КОНЦЕНТРАЦИЯ МАРКЕРОВ ДИСПЛАЗИИ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ ПРИ ХРОНИЧЕСКОЙ ВЕНОЗНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников, А.А. Камаев, А.И. Митина, Н.А. Райская
Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань, кафедра ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии и топографической анатомии

Резюме. Целью исследования было изучить изменение концентрации матриксной металлопротеиназы-9(ММП-9) и тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (ТИМП-1), а также уровень ионов магния (Mg^{2+}) как показателей дисплазии соединительной ткани (ДСТ), у пациентов с варикозной болезнью вен нижних конечностей. В работу включено 110 человек, из которых основная группа – 90 пациентов с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей С2-С6 (CEAP) клинических классов, контрольная – 20 здоровых добровольцев. Выявлена достоверная связь между концентрациями матриксных металлопротеиназ и тяжестью варикозной трансформации вен нижних конечностей. Определение уровня мат-

риксных металлопротеиназ и ионов магния, характеризующих дисплазию соединительной ткани, дает возможность осуществлять прогноз развития хронической венозной недостаточности нижних конечностей и оценивать степень её тяжести.

Ключевые слова:варикозное расширение вен, матриксные металлопротеиназы, ингибитор металлопротеиназ, ионы магния.

Актуальность. Варикозное расширение вен (ВРВ) нижних конечностей является широко распространенным, социально значимым заболеванием. Развивающаяся на его фоне хроническая венозная недостаточность (ХВН) встречается у 20-50% населения индустриально развитых стран [1, 2, 3]. В России различными формами варикозной болезни страдает 35-38 млн. россиян, причем 15% из них имеют трофические нарушения разной степени выраженности, открытые или рецидивирующие язвы [4, 5, 6].

Несмотря на наличие многочисленных исследований причин развития варикозной трансформации венозной стенки, в понимании патогенеза этого патологического состояния до сих пор остается много вопросов. Несколько лет назад была впервые высказана мысль об участии особых матричных ферментов – металлопротеиназ в развитии варикозной трансформации подкожных вен. В настоящее время принято рассматривать ХВН как относительно самостоятельное патологическое состояние, первопричиной которого является инициированный венозным стазом каскад патологических изменений на молекулярном, клеточном и тканевом уровнях [6, 7]. Металлопротеиназы играют решающую роль в развитии таких физиологических процессов, как морфогенез, резорбция, ремоделирование тканей, ангиогенез. Функция металлопротеиназ состоит в деградации различных белковых компонентов межклеточного матрикса (коллагена, эластина, фибронектина, гликозаминогликанов) и в целом в сохранении его гомеостаза. В сохранении металлопротеиназ в латентной форме и предотвращении их избыточной активации существенную роль играют тканевые ингибиторы металлопротеиназ. Среди них тканевой ингибитор металлопротеиназ-1 регулирует ферментативную активность ММП-9 *in vivo*. Для нормального протекания процессов реорганизации внеклеточного матрикса необходимо сохранение равновесия между активностью металлопротеиназ и их ингибиторов [8].

Также согласно современным представлениям варикозное расширение вен относится к группе наследственных заболеваний, связанных с нарушением биосинтеза или деградации волокнистых структур соединительной ткани, происходящих в эмбриональном и постнатальном периодах жизни. Понимание роли магния в поддержании структуры соединительной ткани неотделимо от молекулярно-клеточной структуры соединительной ткани. Магний – универсальный регулятор биохимических и физиологических процессов в организме: он участвует в энергетическом, пластическом и электролитном обмене [9]. Особый интерес магний представляет как физиологический фактор синтеза коллагена. С одной стороны, при недостаточной концентрации магния происходит усиление деградации коллагено-

вых и, возможно, эластиновых волокон, а также полисахаридных нитей гиалуроната. С другой стороны, дефицит магния способствует повышению секреции металлопротеиназ, усилению активности лизилоксидазы и трансглутаминазы [10].

Целью нашего исследования стало изучение влияния матриксных металлопротеиназ-9 (ММП-9) и тканевого ингибитора металлопротеиназ-1 (ТИМП-1), а также уровень ионов магния (Mg^{2+}), на течение варикозной болезни вен нижних конечностей.

Материалы и методы. В исследование включено 110 человек. В основную группу вошли 90 пациентов с варикозной болезнью нижних конечностей, которые были разделены на три подгруппы. Из них 30 пациентов (I группа) – с варикозной болезнью С2-С3 клинических классов, 30 пациентов (II группа) – с варикозной болезнью С4 клинического класса и 30 пациентов (III группа) имеющих трофические язвы (варикозная болезнь С5-С6 клинических классов). Контрольная группа – 20 здоровых добровольцев. Исследовались образцы периферической крови, взятые утром, натощак. Сыворотку получали центрифугированием при 3000 об./мин в течение 15 мин. Содержание в сыворотке крови ММП-9 и ТИМП-1 определяли с помощью лабораторных наборов Bender MedSystems (Австрия) методом количественного твердофазного иммуноферментного анализа. Концентрацию Mg2+ определяли колориметрическим методом.

Основные и контрольная группы сопоставимы по полу и возрасту. Распределение исследуемых по группам, полу и возрасту представлены в таблице 1.

Таблица 1

Распределение больных по группам, полу и возрасту

Группы	**N**	**Возраст, лет**	**Пол (абс. ч./%)**	
			Мужчины	Женщины
I. ВРВ С2-С3	30	43,1±7,2	11 (36,7%)	19 (63,3%)
II. ВРВ С4	30	46,2±6,3	12 (40%)	18 (60%)
III. ВРВ С5-С6	30	48,7±10,4	11 (36,7%)	19 (63,3%)
IV. Контрольная	20	41,1±9,2	7 (35%)	13 (65%)

В исследовании соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской Декларацией Всемирной Медицинской Ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2008 – поправки) и Правилами клинической практики в Российской Федерации", утвержденными Приказом Минздрава РФ от 19.06.2003 г. № 266.

Полученные данные подвергали статистической обработке с помощью программы Statistica 10. Статистическая обработка проведена посредством вычисления средней арифметической и ее ошибки (М±м). Оценка достоверности различий средних независимых выборок по t-критерию (Стьюдента).

Результаты и их обсуждение. В ходе работы были получены следующие результаты. У пациентов с варикозной болезнью нижних конеч-

ностей наблюдается снижение концентрации Mg2+ (0,6±0,16 ммоль/л при норме концентрации магния в сыворотке крови в соответствии с рекомендациями ВОЗ – 0,75-1,26 ммоль/л). Минимальных значений данный показатель достигает у пациентов в III группе (0,52±0,09 ммоль/л). В контрольной группе среднее значение концентрации Mg2+ составило 0,92±0,16 ммоль/л (рис. 1).

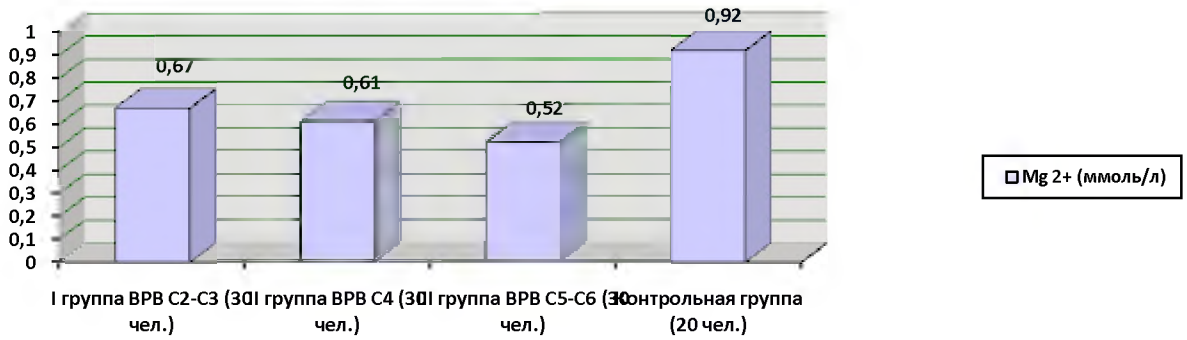


Рис. 1. Концентрация Mg2+ в исследуемых группах

Дефицит магния приводит к увеличению числа дисфункциональных молекул т-РНК, таким образом снижая и замедляя общую скорость белкового синтеза. Следовательно, дефицит магния в соединительной ткани приводит к замедлению синтеза всех структурных молекул (включая протеогликаны, гликозаминогликаны, коллагены и эластин). Поскольку синтез структурных молекул, столь необходимых для восстановления соединительной ткани, замедляется, то процессы восстановления также тормозятся, и это приводит к ухудшению механических характеристик ткани. Магний способствует снижению уровня активности матриксных металлопротеиназ. Соответственно, дефицит магния может приводить к увеличению суммарной активности ММП и более агрессивной деградации коллагеновых волокон, что также ухудшает механическую прочность соединительной ткани.Матриксная металлопротеиназа-9 (ММП-9), или желатиназа В, является белком с молекулярной массой 92 кДа и может расщеплять коллагены IV и V типов и эластин в составе базальных мембран. Локальная деградация межклеточного матрикса необходима для миграции и пролиферации клеток, сопровождающих ремоделирование тканей [11-13].

По результатам нашего исследования установлено, что у пациентов основной группы средний уровень ММП-9 в среднем в 2,5 раза выше по сравнению с контролем (11,3±4,86 нг/мл в основной группе и 4,5±1,32 нг/мл в контрольной группе). Наибольший уровень ММП-9 наблюдается у пациентов с варикозной болезнью класса С5-С6 (14,5±1,7 нг/мл, рис. 2).

Необходимым условием функционирования физиологических процессов является поддержание равновесия между активностью ММП-9 и их ингибиторами. ТИМП-1, известный как ингибитор коллагеназы фибробластов, является важным компонентом внеклеточного матрикса, его основная биологическая роль – поддержание баланса ММП-1 и ММП-9 в физиологических и патологических условиях.

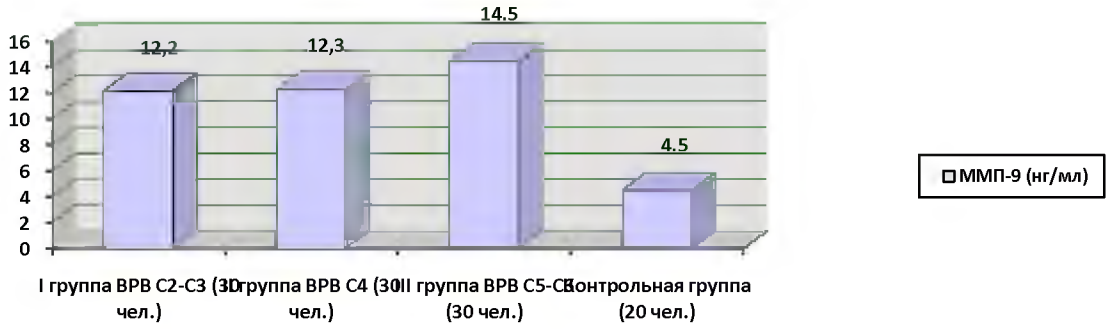


Рис. 2. Концентрация ММП-9 в исследуемых группах

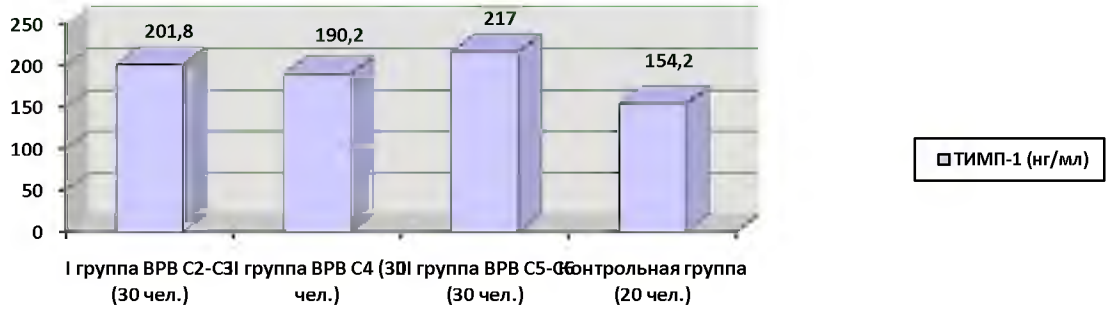


Рис. 3. Концентрация ТИМП-1 в исследуемых группах

У больных с варикозным расширением подкожных вен нижних конечностей средняя концентрация ТИМП-1 составила 210,8±21,1 нг/мл и имела тенденцию к повышению по сравнению с группой контроля (рис. 3).

Выводы

1. Результаты проводимого исследования позволяют сделать заключение о наличии достоверной связи между концентрациями матриксных металлопротеиназ и тяжестью варикозной трансформации вен нижних конечностей.

2. Наибольший уровень матриксных металлопротеиназ отмечается у пациентов с кожными изменениями и трофическими язвами.

3. У пациентов с хронической венозной недостаточностью отмечается дефицит ионов магния.

Список литературы

1. Диагностика и лечение варикозной болезни / А.В. Покровский [и др.]. – М., 2005. – 79 с.

2. Colledge J. Etiology and pathophysiology of varicoseveins. Venousandlymphatic diseases /J. Colledge, N. Labropoulos, G. Stansby// Taylor Francis. – 2006. – P. 237-243.

3. Эндотелиотропные эффекты микронизированной очищенной фракции флавоноидов при различных экспериментальных моделях венозной эндотелиальной дисфункции / Р.Е. Калинин [и др.] // Флебология. – 2014. – Т. 8, №4. – С. 29-36.

4. Операции на сосудах / Р.Е. Калинин [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 120 с.

5. Богачев В.Ю. Ранние стадии ХВН. От патогенеза к лечению / В.Ю. Богачев // Симпозиум ХВН: от ранних проявлений до трофических язв: VI Конференция Ассоциации флебологов России. – М., 2006. – С. 4-7.

6. Анализ путей венозного оттока после операции дистанционной окклюзии задних большеберцовых вен / П.Г. Швальб [и др.] // Наука молодых (EruditioJuvenium). – 2015. – № 1. – С. 74-81.

7. Кириенко А.И. Рецидив варикозной болезни / А.И. Кириенко // Симпозиум ХВН: от ранних проявлений до трофических язв: VI Конференция Ассоциации флебологв России. – М., 2006. – С. 7-8.

8. Хасигов П.З. Металлопротеиназы матрикса нормальных тканей человека / П.З. Хасигов,О.В. Подобед, С.А. Кцоева // Биохимия. – 2001. – Т. 66, вып. 2. – С. 167-179.

9. Громова О.А. Магний и пиридоксин: основы знаний / О.А. Громова. – М., 2006. – 176 с.

10. Торшин И.Ю. Дисплазия соединительной ткани, клеточная биология и молекулярные механизмы воздействия магния / И.Ю.Торшин, О.А. Громова // РМЖ. – 2008. – Т. 16, № 4(314). – С. 230-238.

11. Соловьева Н.И. Матриксные металлопротеиназы и их биологические функции / Н.И. Соловьева // Биоорганическая химия. – 1998. – № 24. – С. 245-255.

12. Skeda U. Matrix metalloproteinases and coronary artery diseases / U. Skeda, K. Shimada // Clin Cardiol. – 2003. – № 26. – P. 55-59.

13. Galis Z.S. Matrix metalloproteinases in vascular remodeling and atherogenesis: the good, the bad, and the ugly / Z.S. Galis, J.J. Khatri // Circ Res. – 2002. – № 90. – P. 251-262.

14. Сучков И.А. Коррекция эндотелиальной дисфункции: современное состояние проблемы (обзор литературы) / И.А. Сучков // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2012. – №4. – С. 151-157.

РОЛЬ МАТРИКСНОЙ МЕТАЛЛОПРОТЕИНАЗЫ 9 В ПАТОГЕНЕЗЕ ПЕРВИЧНОГО СПОНТАННОГО ПНЕВМОТОРАКСА

А.В. Михеев

Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань, кафедра факультетской хирургии
с курсом анестезиологии и реаниматологии

Резюме. В статье представлены результаты обследования 37 пациентов, перенесших эпизод спонтанного пневмоторакса. В исследуемых группах методом иммуноферментного анализа определяли активность α1-антитрипсина и матриксной металлопротеиназы-9.

Ключевые слова: спонтанный пневмоторакс, буллезная эмфизема легких, матриксная металлопротеиназа- 9.

Актуальность. История изучения этиопатогенеза спонтанного пневмоторакса насчитывает более двух веков. Впервые пневмоторакс нетравматической природы описал A.Hard в 1803 г., а клинические проявления и симптомы спонтанного пневмоторакса подробно изложил R.Laenec в 1819г. P.Fussel и K.Reisman в 1902г. В 1932г. T.Kjaergaard сделал сообщение о 200 опубликованных наблюдениях нетуберкулезного первичного СП [1]. И именно ему принадлежит современное описание первичного спонтанного пневмоторакса, развившегося у пациента, считавшегося до этого здоровым. Среди больных мужчины составляют от 70 до 93%, до 65% случаев приходится на возраст 20-40лет . Частота СП составляет 2,7% – 7% от общего числа больных торакального профиля. По данным литературы на долю больных с СП приходится до 10-12% всех экстренных поступлений с хирургическими заболеваниями органов грудной клетки [2]. Несмотря на то, что у 80-90% пациентов выявляется характерный симптомокомплекс СП, ошибочный диагноз при первичном обращении за медицинской помощью ставится у 26-47%. Молодой возраст пациентов, неуклонный рост заболеваемости, рецидивирующее течение обусловливает актуальность и высокую социальную значимость проблемы.

Несмотря на вековую историю изучения причин развития спонтанного пневмоторакса, этиология его остается до настоящего времени неизвестной. Большинство исследователей ассоциируют СП с буллезными изменениями в легких. В зарубежной литературе для описания изменений в легочной ткани широко используется термин ELC (emphysema-likechanges). При детальном обследовании пациентов с СП во время компьютерной томографии ELC обнаруживается у 55,7-98,5% [3].

Ни одна из существующих теорий не может в полной мере объяснить возникновение буллезной эмфиземы и развитие спонтанного пневмоторакса. Наиболее широко распространенной является ферментативная теория, трактующая буллезные изменения в легких как результат дисбаланса в системе протеаз-антипротеаз. Ведущую роль отводят генетически детерминированному либо связанному с другими факторами снижению уровня α1-антитрипсина, являющегося ингибитором протеаз. Вследствие развивающегося дисбаланса, под действием протеолитических ферментов, в частности нейтрофильной эластазы (НЭ) происходит деструкция экстрацеллюлярного матрикса, разрушаются межальвеолярные перемычки с формированием булл и блебсов. Однако в литературе последних лет накапливаются публикации, в которых не выявлено снижения сывороточной концентрации α1-антитрипсина (ААТ) у больных с буллезной эмфиземой легких, осложненной спонтанным пневмотораксом. Рядом авторов у оперированных пациентов с СП, напротив, обнаружено повышенное значение антипротеолитической активности сыворотки крови, что может быть связано с воздействием дренажной трубки на плевральные листки, приводящим к развитию местной воспалительной реакции [4]. В последнее десятилетие все больше внимание уделяется дальнейшему углубленному изучению молекулярных взаимосвя-

зей в функционировании системы протеаз-антипротеаз. В связи с этим заслуживают внимание матриксные металлопротеиназы (матриксины) – группа протеиназ, содержащие в своем активном центре молекулы цинка и кальция. Известно более 20 различных металлопротеиназ. На основании особенностей структуры выделено 4 подгруппы (табл. 1).

Таблица 1

Подгруппы матриксных протеиназ

№	Фермент	Тип ММР	Молекулярная Масса (кДа)	Расщепляемые компоненты
1	Интерстициальная коллагеназа	ММР-1	52	Коллаген I, II, III, VII, VIII, X типов
2	Желатиназа А	ММР-2	72	Желатин, коллаген IV,V, VII, X, XI типов, фибронектин, эластин
3	Желатиназа В	ММР-9	92	Желатин, коллаген IV,V типов, протеогликаны, эластин
4	Стромелизин-1	ММР-3	57	протеогликаны, эластин, ламинин, фибронектин, коллаген
5	Матрилизин	ММР-7	28	протеогликаны, желатин, ламинин, фибронектин, коллаген -8, -9
6	Металлоэластаза	ММР-12	55	эластин
7	Интерстициальная коллагеназа-3	ММР-13	52	Коллаген I, II, III типов, желатин
8	Мембранный тип ММР	ММР-14	66	Коллаген I, II, III типов, проММР-2, -13

Основная физиологическая роль матриксинов в организме сводится в регуляции процессов морфогенеза, ремоделирования и резорбции различных тканей посредством катаболизма экстрацеллюлярного матрикса. Активность ММР-9 контролируется специфическими тканевыми ингибиторами металлопротеиназ (TIMP), в большей степени TIMP-1. В публикациях последних лет накапливаются данные о роли матриксинов в развитии диффузной эмифземы легких, ХОБЛ, бронхиальной астмы; неоангионезе, прогрессировании и метастазировании опухолей молочной железы, легкого и др.[5, 6].

Цель исследования: изучить роль системы матриксных металлопротеиназ, а именно желатиназы В (ММР-9) в генезе локальной буллезной эмфиземы легких, осложненной спонтанным пневмотораксом.

Материалы и методы. Основную группу обследуемых составили 37 пациентов, находившихся на стационарном лечении по поводу первичного спонтанного пневмоторакса в клинике факультетской хирургии ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России на базе отделения торакальной хирургии в 2013-2014гг. Критериями включения в исследование являлся мужской пол, возраст до 40лет, отсутствие сопутствующей соматической патологии,

в том числе острых или хронических бронхо-легочных заболеваний. Критерии исключения: женский пол, возраст старше 40лет, вторичный спонтанный пневмоторакс, острые либо хронические заболевания внутренних органов. Контрольная группа была представлена 20 здоровыми добровольцами. Средний возраст пациентов основной группы 27,38±1,24 лет, контрольной – 24,3±0,91 г. ($p>0,05$).

В зависимости от вида проведенного оперативного вмешательства все пациенты основной группы были подразделены на три подгруппы: 1ая- 11 пациентов, которым выполнена видеоторакоскопическая атипичная аппаратная резекция участка легкого с буллами, дополненная париетальной плеврэктомией на уровне 2-7 ребер; 2ая – 15 больных, которым в качестве оперативного пособия выполнен торакоцентез на стороне поражения по стандартной методике с установкой в плевральную полость одного или двух трубчатых дренажей достаточного диаметра (не менее 16F) без индукции плевродеза; 3я- 11 пациентов, перенесших передне-боковую торакотомию, атипичную резекцию легкого, частичную париетальную плеврэктомию. Достоверных возрастных различий в подгруппах не выявлено. В послеоперационном периоде всем пациентам проводилась активная аспирация из плевральной полости, а также консервативная противовоспалительная, анальгезирующая терапия. Послеоперационных осложнений ни в одном случае не отмечалось. По локализации пневмоторакса в зависимости от стороны поражения пациенты распределились следующим образом: правая -16 (43,2%), левая – 21 (56,8%).

Забор крови для последующего исследования осуществляли не ранее 6 месяцев после выписки пациента из стационара. Так как известно, что для начальных стадий острого воспаления обычно характерно снижение уровней ААТ, затем происходит повышение концентрации, связанное с увеличением синтеза белка. Это позволило исключить влияние местных воспалительных процессов, развивающихся в плевральной полости после перенесенных оперативных вмешательств и на фоне наличия дренажных трубок на полученные результаты исследований.

Для определения активности α1-антитрипсина и матриксной металлопротеиназы-9 использовались тест-системы и наборы реактивов фирмы BenderMedsystems (Швейцария). Исследование проводилось на базе ЦНИЛ ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России (зав. лабораторией доц. Никифоров А.А) методом иммуноферментного анализа в соответствии с рекомендациями производителя. Постановка реакций проводилась методом парных сывороток. При несоответствии результатов пара выбраковывалась.

Для статистической обработки результатов использовался пакет программ «Statistica 6.0». С ее помощью для оценки различий между независимыми выборками рассчитывался непараметрический U-критерий Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. У 28 пациентов основной группы определялось содержание α1-антитрипсина в сыворотке крови. Среднее значение ААТ в сыворотке крови у пациентов составило 1,17±0,24 г/л, таким образом, вне зависимости от стороны поражения и вида перенесенного

оперативного вмешательства показатели ААТ находились в пределах нормы (0,9-2,0г/л).

Полученные значения ММР-9 представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание матриксной металлопротеиназы-9 в сыворотке крови (нг/л)

№	Основная группа (n=37)			Контрольная группа (n=20)
	ВТС+атипичная резекция+плеврэктомия (n=11)	Дренирование плевральной полости (n=15)	Торакотомия+атипичная резекция+плеврэктомия (n=11)	
1	313,5	294,5	246,1	241
2	259,1	277,6	300	220,3
3	282	242,6	300,1	206,7
4	294,5	303	293,6	228,9
5	292,7	282,5	301,8	263,6
6	332,5	352,2	280,1	215,7
7	305,7	305,4	302,8	184,5
8	273	248,2	287,6	293,9
9	288,2	259	286,9	252
10	287,5	259,9	291,7	214,7
11	306,9	279	272,4	268
12	-	263,4	-	177,3
13	-	268,8	-	171,9
14	-	302,3	-	263,9
15	-	296,7	-	203,7
16	-	-	-	259,6
17	-	-	-	179,1
18	-	-	-	95,8
19	-	-	-	130,2
20	-	-	-	171,3
M±m	**294,15±5,78**	**282,34±6,98**	**287,55±4,82**	**202,1±10,83**
	p<0,05	p<0,05	p<0,05	

При анализе полученных результатов выявлено, что показатель ММР-9 был достоверно выше в основной группе (287,4±3,7нг/л) в сравнении с контрольной. Кроме того при сравнении величины ММР-9 в каждой из подгрупп в зависимости от вида перенесенной операции, с контрольной группой различия также были достоверны.

Выводы

1. Таким образом, у пациентов с локальной буллезной эмфиземой легких, перенесших эпизод спонтанного пневмоторакса имеет место достоверно высокая концентрация матриксной металлопротеиназы 9 в сыворотке крови в сравнении с здоровыми лицами.

2. Характер перенесенного оперативного вмешательства не влияет на показатели α1-антитрипсина и матриксной металлопротеиназы 9.

3. Роль матриксных металлопротеиназ в дестуркции экстрацеллюлярного матрикса и генезе спонтанного пневмоторакса требует дальнейшего углубленного изучения.

Список литературы

1. Бисенков Л.Н. Неотложная хирургия груди и живота: руководство для врачей / Л.Н. Бисенков, П.Н. Зубарева. – СПб.: Гиппократ, 2006. – 556 с.
2. Кобелевская Н.В. Неспецифический спонтанный пневмоторакс: клиника, диагностика, лечение: дис. канд. мед. наук / Н.В. Кобелевская. – М., 2003. – 133 с.
3. Михеев А.В. Этиология первичного спонтанного пневмоторакса (обзор литературы) / А.В. Михеев // Земский Врач. – 2015. – № 4 (28). – С. 14-19.
4. Изменение ингибиторов протеаз и системы гемостаза при лечении спонтанного пневмоторакса / М.М. Абакумов [и др.] // Хирургия. – 1998. – № 1. – С. 15-18.
5. Аверьянов А.В. Эмфизема легких / А.В. Аверьянов, Г.Э. Поливанов // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2006. – №4. – С. 2-7.
6. Михеев А.В. Роль матриксных металлопротеиназ в развитии заболеваний / А.В. Михеев, М.А. Баскевич // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2015. – №1. – С. 106-115.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ГЛИКОПРОТЕИНА-Р НА ФОНЕ ИШЕМИЧЕСКОГО ИНСУЛЬТА

Е.Н. Якушева, И.В. Черных, А.В. Щулькин, М.В. Гацанога

Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра фармакологии с курсом фармации ФДПО

Резюме. В статье описано изменение функциональной активности белка-транспортера гликопротеина-Р на фоне перманентной односторонней окклюзии общей сонной артерии у кроликов. Активность гликопротеина-Р оценивали по изменению фармакокинетики его маркерного субстрата фексофенадина после моделирования патологии. Фексофенадин не метаболизируется в организме, а его всасывание, распределение и элиминация зависят от функционирования данного транспортера.

Выявлено, что функциональная активность гликопротеина-Р на фоне ишемического инсульта не изменяется, о чем свидетельствует отсутствие достоверных различий фармакокинетических параметров фексофенадина: максимальной концентрации маркерного субстрата, площади под его фармакокинетической кривой от нуля до времени последнего забора крови и времени достижения максимальной концентрации, и подтверждает ту же интенсивность всасывания и выведения фексофенадина до и после ишемии головного мозга.

Ключевые слова: гликопротеин-Р, фексофенадин, рифампицин, верапамил, фармакокинетика, субстрат.

Актуальность. Гликопротеина-Р (Pgp) – это АТФ-зависимый мембранный белок-транспортер, который функционирует в качестве насоса, выбрасывающего из клеток широкий спектр липофильных эндо- и ксенобиотиков[2]. Его функциональная активность может изменяться в зависимости от генетических особенностей, наличия ряда патологий, а также приема некоторых пищевых продуктов и лекарственных средств.

Доказано наличие Pgp в гематоэнцефалическом барьере, где он совместно с другими защитными механизмами обеспечивает проникновение в ткани мозга лишь ряда низкомолекулярных веществ [4].

Инсульт встречается в среднем с частотой 200 случаев на 100000 населения [5]. По современным американским рекомендациям по лечению ишемического инсульта применение нейропротекторов для коррекции его последствий является нецелесообразным, вследствие их недоказанности клинической эффективности [3]. Одной из вероятных тому причин является недостаточное проникновение данной группы препаратов в головной мозг за счет эффлюксас помощью Pgp.

В ряде исследований как invitro, так и invivo продемонстрирована индукция Pgp на фоне гипоксической гипоксии [1]. Работ по изучению функционирования транспортера на уровне целостного организма на фоне ишемического инсульта нами не обнаружено.

В связи с вышеизложенным**целью** работы явилась оценка функциональной активности Pgp на фоне перманентной окклюзии общей сонной артерии у кроликов.

Материалы и методы. Работа выполнена на 9 кроликах породы Шиншилла массой 3500-4300 г. Животным вводился фексофедин в дозе 67,5 мг/кг массы после чего забиралась кровь в 9 временных точках в течение суток и проводился количественный анализ фексофенадина методом ВЭЖХ с УФ детектированием с расчетом основных фармакокинетических параметров [1]. Через 3 суток моделировали окклюзию общей сонной артерии на фоне обезболивания под золетиловым наркозом путем вскрытия кожи и мягких тканей шеи животных, выделения общей сонной артерии и наложения на нее лигатуры с последующим ушиванием раны. На 7-е, 14-е и 21-е сутки ишемии повторно анализировали фармакокинетику маркерного субстрата.

Результаты и их обсуждение. Фармакокинетические параметры маркерного субстрата статистически не отличались до и после окклюзии общей сонной артерии ($p>0,05$), что свидетельствует об отсутствие изменений функциональной активности гликопротеина-Р на фоне ишемического инсульта (табл. 1).

В предварительном исследовании нами показано увеличение экспрессии Pgp в гематоэнцефалическом барьере на 5-е сутки эксперимента. Подобная динамика может служить доказательством роли Pgp в неэффективности фармакотерапии последствий ишемического инсульта с по-

Таблица 1

Фармакокинетические параметры фексофенадина в норме и на фоне ишемии головного мозга

	норма n=9	7 дней ишемии n=9	14 дней ишемии n=9	21 день ишемии n=9
С макс	283,65 (222,95; 371,37)	432,07 (268,05; 494,7)	351,77 (282,5; 397,4)	368,9 (202,2; 478,88)
Т макс	3,0 (1,5; 6,0)	5,0 (3,5; 5,5)	4,0 (4,0; 6,0)	5,0 (3,5; 7,5)
AUC_{0-24}	3091,24 (1795,36; 4277,11)	4087,69 (1569,03; 4897,5)	3240,0 (2398,4; 3852,1)	3369,2 (1660,67; 3610,75)

мощью нейропротекторов. Результаты представленной работы демонстрируют, что индукция функционирования Pgp происходит локально в тканях головного мозга без ее изменения на организменном уровне.

Выводы. Таким образом, функциональная активность гликопротеина-Р, определяемая по фармаокинетике маркерного субстрата фексофенадина, на фоне экспериментальной ишемии головного мозга на уровне организма не изменяется.

Список литературы

1. Якушева Е.Н. Влияние экспериментальной подострой гипобарической гипоксической гипоксии на функциональную активность гликопротеина-Р / Е.Н. Якушева, И.В. Черных // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2013. – №1. – С. 60-64.
2. Якушева Е.Н. Характеристика гликопротеина-Р как белка-транспортера лекарственных веществ / Е.Н. Якушева, И.В. Черных, А.С. Бирюкова // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – №3. – С. 142-148.
3. Experimental treatments in acute stroke / V.E. O'Collins [et al.] // Ann. Neurol. – 2006. – Vol. 59. – P. 467-477.
4. Neuronal expression of the drug efflux transporter P-glycoprotein in the rat hippocampus after limbic seizures / H.A. Volka [et al.] // Neurosci. – 2004. – Vol. 123, № 3. – P.751-759.
5. Soler E.P. Epidemiology and Risk Factors of Cerebral Ischemia and Ischemic Heart Diseases: Similarities and Differences / E.P. Soler, V.C. Ruiz // Curr. Cardiol. Rev. – 2010. – Vol. 6, №3. – P. 138-149.

О ВЛИЯНИИ ОБЪЕМА ХИРУРГИЧЕСКОГО ЛЕЧЕНИЯ УЗЛОВОГО ЗОБА У ПОЖИЛЫХ ПАЦИЕНТОВ НА УРОВЕНЬ КАЛЬЦИТОНИНА И МИНЕРАЛЬНУЮ ПЛОТНОСТЬ КОСТИ

В.Г. Аристархов,Н.В. Данилов, С.В. Бирюков, Р.В. Аристархов, Д.А. Пузин
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра хирургических болезней с курсом урологии

Резюме. В статье исследуется роль дефицита кальцитонина, возникающего после хирургических операций на щитовидной железе, в прогрессировании остеопороза. Оценивается вклад таких факторов как: возраст, уровень паратгормона, объём оперативного вмешательства, в развитие остеопороза.

Ключевые слова: Кальцитонин, остеопороз, тиреоидэктомия, пожилые пациенты.

Актуальность. Остеопороз — заболевание скелета, для которого характерны снижение прочности кости и повышение риска переломов. Прочность кости отражает интеграцию двух главных характеристик: минеральной плотности кости (МПК) и качество кости (архитектоника, обмен, накопление повреждений, минерализация) [1,2,3].

Кальцитонин – полипептидный гормон, синтезируется в парафолликулярных клетках щитовидной железы [4,5,6]. После тиреоидэктомии, кальцитонин исключается из механизмов ремоделирования. Из анализа мирового опыта, известно, что проводились исследования по оценке вклада кальцитонина в развитие ОП. Результаты исследований остаются дискутабельными. Большинству авторов не удалось оценить вклад низкого уровня кальцитонина в развитие ОП [7,8,9,10, 11]. Есть исследователи, которые всё же доказали роль деффицита кальцитонина в повышении риска ОП [12].

Цель работы: изучить уровень кальцитонина и минеральную плотность кости в зависимости от объема хирургического вмешательства на щитовидной железе у пожилых пациентов, оперированных по поводу узлового зоба.

Материалы и методы. Обследовано 40 человек- основная группа n1. Пациентам произведено хирургическое лечение различной патологии щитовидной железы (ЩЖ) 5 лет назад, в ГКБ № 11 г.Рязани. Кальцитонин исследовался после стимуляции глюконатом кальция в/в из расчета 20 мг/кг веса. Забор крови производился спустя 15 минут. Кальцитонин исследовался методом иммуноферментного анализа (ИФА) (Immulite 2000), на оборудовании автоанализаторе «Иммулайт 2000», Siemens (США). Норма 0- 11,5 пг/мл. При исследовании кальцитонина соблюдались температурные условия, измерения проводились в течение 30 минут после забора крови у пациента. Определялся уровень паратгормона методом ИФА (Immulite 2000). Норма 8-74 пг/мл. Группе из 20 пациентов определялся маркер остеокальцин, методом ИФА (Immulite 2000) Выполнялась ультра-

звуковая денситометрия на аппарате SunlightMiniOmniS, после предварительной калибровки датчика СМ ,оценивался Т-индекс, рассчитанный аппаратом и Z-индекс, так же рассчитанный аппаратно. Денситометрия с двумя зонами контроля, выполнялась на лучевой кости недоминантной руки пациента, и на границе верхней и средней трети большеберцовой кости. Градации Т – индекса [3,0;-1,0]- норма, [-1,0;-2,5]- остеопения, [-2,5;-5,0] остеопороз. После серии измерений, в двух зонах контроля, брались два средних показателя средний Т-индекс (для предплечья и голени) и средний Z-критерий (для предплечья и голени. Так же всем пациентам выполнялось УЗИ ЩЖ, с расчётом объёма тиреоидной ткани, определялся уровень ТТГ методом ИФА (Immulite 2000), собирался анамнез.

Критерием включения в исследование были: возраст на момент операции старше 60 лет, оперативное лечение заболеваний щитовидной железы давностью 5 лет. Наличие анатомической возможности проведения ультразвуковой денситометрии (отсутствие выраженных отёков верхних и нижних конечностей, так же отсутствие выраженной гипертрофии жировой клетчатки в зоне исследования на лучевой или большеберцовой костях). Уровень ТТГ – в пределах референсных значений. В исследование были включены как женщины 92,5 %, так и мужчины 7,5%. Возраст составил, в среднем, в подгруппе 69,67±5,57 лет (от 65 до 84 лет).

Критерий исключения – признаки остеопороза в анамнезе (предшествующие переломы при минимальной травме, данные обследований), аллергия на глюконат кальция, сопутствующие заболевания, которые явно влияют на показатели костного метаболизма (сахарный диабет, гормональнозависимая бронхиальная астма и т.п.).

В исследование костного метаболизма была включена группа контроля. Группа контроля n2-10 человек, составили респонденты не имеющие заболеваний щитовидной железы, не имеющие очевидных, отличных от возраста, факторов остеопороза. Средний возраст составил 71,1 ±2,2 лет (от 69 до 75). В этой группе так же проводился весь спектр обследования**.** Группы n1 и n2 были идентичны и различались только по исследуемым признакам.

Результаты и их обсуждение. Для выяснения роли оперативного вмешательства как неблагоприятного фактора в развитии ОП, необходимо было оценить влияние на уровень кальцитонина. Оценивалась корреляции между объемом оставленной ткани и уровнем стимулированного кальцитонина. Используя методику стимуляции глюконатом кальция из расчёта 20 мг на 1 кг веса, кальцитонин определялся спустя 15 минут [7,8]. Такая методика позволила отделить истинные отрицательные результаты от ложно отрицательных. Корреляция оценивалась методом Пирсона, с вычислением коэффициента корреляции, направлением связи и её силы и методом Спирмена.

В результате мы получили прямую умеренную корреляционную связь между объёмом оставленной ткани ЩЖ и уровнем кальцитонина, коэффициент Пирсона составил 0,63 а Спирмена 0,64. Поскольку вычисления сделаны на конечной выборке, коэффициент корреляции может откло-

нять от своего значения, производилась проверка значимости коэффициента корреляции по формуле

Коэффициент стьюдента равен 4,96, он свидетельствует, для данной выборки, что гипотеза зависимости уровня кальцитонина от объёма щитовидной железы верна с вероятностью больше 95%.

Средний уровень кальцитонина был выше в группе пациентов, которым выполнена была резекция щитовидной железы (РЩЖ) – 11,72 пг/мл. В группе тиреоидэктомии (ТЭ)уровень кальцитонина, закономерно, не определялся. Промежуточное положение занимали пациенты, которым выполнялась субтотальная резекция щитовидной железы (СРЩЖ) или предельно субтотальная (ПСРЩЖ). В этой группе кальцитонин, не смотря на стимуляцию, определялся лишь в 2-х случая, после СРЩЖ, средний уровень его составил 2,15 пг/мл. Отрицательные результаты, не смотря на наличие тиреоидной ткани, средний объем в группе расширенных резекций 2,2 $см^3$, можно обосновать тем, что С-клетки ЩЖ, располагаются преимущественно в верхних полюсах [6]. При расширенных операциях, ткань чаще оставляется в области трахеопищеводной борозды (по О.В.Николаеву), где число С-клеток не велико. Различия между группами РЩЖ, СРЩЖ и ТЭ достоверное ($p<0,05$). В контрольной группе n_2 средний уровень кальцитонина 4,29 пг/мл. Тиреоидный остаток определялся на уровне РЩЖ – 11,72 мл, СРЩЖ – 3,31 мл, ТЭ – 0 мл, n2 – 10,5 мл. Таким образом можно с уверенность говорить, чем меньше тиреоидной ткани, тем меньше кальцитонина. Зависимость этих показателей приближается к линейной. Соответственно, ТЭ в сравнении с РЩЖ и СРЩЖ оказывает максимальное влияние на кальцитонинзависимые процессы.

Другим аспектом нашей работы, было определение паратгормона (ПТГ), как одного из регуляторов МПК, вторичное возрастное повышение которого в силу разных причин, описанных выше, может привести к снижению МПК и развитию ОП. В исследуемой группе n_1 средний уровень паратгормона составил 38, 9 пг/мл, при норме до 74 пг/мл. Средний уровень в n_2 21,8 пг/мл, что меньше в сравнении с n_1 38,9 пг/мл. Необходимо сделать поправку на то, что паратгормон определялся совместно с кальцитонином, то есть после введения глюконата кальция. Соответственно истинный уровень, не подавленного, паратгормона у пациентов выше, чем в нашем исследовании. Здесь можно говорить, лишь об относительных величинах, что в исследуемой группе паратгормон в 1,78 раз выше, чем в контрольной n_2 ($p<0,05$). В группе РЩЖ средний уровень ПТГ составил 31,4 пг/мл, в группе СРЩЖ – 42,6 пг/мл, ТЭ – 23,8 пг/мл и в группе n2 – 23 пг/мл. Из данных видно, что после тиреоидэктомии отсутствует кальцитонин, при этом функция околощитовидных желёз остается нормальной (уровень ПТГ после ТЭ и в группе контроля не различаются $p<0,05$). Это, по заявлению некоторых авторов [10-13], является неблагоприятным фактором для развития ОП.

В качестве биохимического подтверждения гипотезы о гипокальцитониновом механизме воздействия на МПК, был выбран уровень остео-

кальцина. Остеокальцин исследовался в двух подгруппах РЩЖ и ТЭ. Уровень составил 8,8 нг/мл и 13,4 нг/мл соответственно. Разница была достоверной между этими показателями ($p<0,05$). Остеокальцин – это маркер костеобразования, он повышается когда вслед остеорезорбции происходит компенсаторное повышение неоостеогенеза. Из приведённых данных ясно, что процессы резорбции и неоостеогенеза выше после ТЭ.

В качестве инструментального подтверждения гипотезы, был выбран метод ультразвуковой денситометрии. Результаты оценивались исходя из Т-критерия остеопороза [9]. В исследуемой группе n_1 средний Т-индекс составил -1,94.

В подгруппе РЩЖ Т-индекс – 2,07, что соответствует остеопении, однако 70% пациентов имели нормальную МПК – Т-индекс чаще был в пределах -0,9 (мода ряда). В группе СРЩЖ показатели Т-индекса так же имели неоднородность своего распределения. Среднее значении –2,89, но наиболее часто встречающаяся величина Т-индекса -3,9, большинство значений в этой группе располагалось ниже – 2,5 (критерий ОП), лишь небольшая часть находилась в пределах от -2,5 до -1,0, что соответствует остеоппении. Это свидетельствует, в пользу того, что СРЩЖ в большей мере снижает МПК, чем РЩЖ. В группе контроля n_2 Т-индекс – 1,1

В группе ТЭ распределение значений Т-индекса более равномерное: средний показатель -3,3, а мода равна -3,0. 90% значений Т-индекса располагаются в зоне градации – остеопороз. Достоверных различий по Z-индексу между РЩЖ и СРЩЖ не получено ($p>0,05$), однако в группе ТЭ Z-индекс минимальный, и достоверно отличается от остальных групп сравнения ($p<0,05$). Это свидетельствует, что ТЭ оказывает максимальное негативное влияние на МПК, приводя к её снижению, больше чем РЩЖ и СРЩЖ.

Гормональный статус имел несущественные различия ($p<0,05$), все пациенты имели ТТГ в пределах нормы. Различия были в заместительных дозах. Наибольшая был в группе ТЭ – 105,0 мкг/сутки, а 61% группы РЩЖ вообще не имели гипотиреоза и не нуждались в заместительной терапии ($p<0,05$) – следовательно и не имели дополнительного фактора риска развития остеопороза, средняя доза составила лишь 19,5 мкг/сутки, СРЩЖ-63,5 мкг/сут.

Выводы

1) Оперативное лечение заболеваний щитовидной железы в пожилом возрасте влияет на риск развития остеопороза.

2) Хирургическое вмешательство приводит к изменению уровня кальцитонина: чем меньше тиреоиный остаток, тем меньше тиреокальцитонина.

3) После тиреоидэктомии, в пожилом возрасте, наблюдается сочетание множества неблагоприятных факторов развития ОП.

4) После резекции щитовидной железы наблюдаются минимальные изменения в костном метаболизме.

Список литературы

1. NIH Consensus Development Conference on Osteoporosis: Prevention, Diagnosis and Therapy // JAMA. – 2000. – Vol. 287. – P. 785-795.
2. Brown J.P. Clinical practice guidelines for the diagnosis and management of osteoporosis in Canada / J.P. Brown, R.G. Josse // CMAJ. – 2002. – Vol. 167, № 10(Suppl). – P. S1-S34.
3. Griffin James E.Text Book of Endocrine Physiology / James E. Griffin, R. Sergio, D.V.M. Ojeda. – 5th ed. – Oxford: University press, 2004. – 444 p.
4. Кубарко А.И. Щитовидная железа. Фундаментальные аспекты / А.И. Кубарко; под ред. проф. А.И. Кубарко, проф. S. Yamashita. – Минск; Нагасаки, 1998. – 368 с.
5. Остеопороз / под ред. О.М. Лесняк, Л.И. Беневоленской. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. – 272 с. – (Серия «Клинические рекомендации»).
6. Черенько С.М. Первичный гиперпаратиреоз: основы патогенеза, диагностики и хирургического лечения: монография / С.М.Черенько. – Киев: ТОВ «ВПК» «Експресс-Полиграф», 2011. – 148 с.
7. Эндокринная хирургия / под ред. И.И. Дедова, Н.С. Кузнецова, Г.А. Мельниченко. – М.: Литтера, 2011. – 352 с.
8. Рыбаков С.И. Рак щитовидной железы: клинические лекции / С.И. Рыбаков. – Полтава: ООО «АСМИ», 2012. – 572 с.
9. Bilezikian J.P. on behalf of the Third International Workshop on the Manegement of Asymptomatic Primary Hyperthyroidism Guidelines for the Manegement of Asymptomatic Primary Hyperthiroidism: Summary Statement from the Third Intenational Workshop / J.P. Bilezikian, A.A. Khan, J.T. Potts Jr. // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2009. – Vol. 94, № 2. – P. 335-339.
10. Bone mass in totally thyroidectomized patients. Role of calcitonin deficiency and exogenous thyroid treatment / D.C. Gonzalez [et al.] // Acta Endocrinol (Copenh). – 1991. – Vol. 124, № 5. – P. 521-525.
11. Schneider P. Effect of calcitonin deficiency on bone density and bone turnover in totally thyroidectomized patients / P. Schneider // J Endocrinol Invest. – 1991. – Vol. 14, № 11. – P. 935-942.
12. Cappelli C. Bone density and mineral metabolism in calcitonin-deficiency patients / C. Cappelli // Minerva Endocrinol. – 2004. – Vol. 29, № 1. – P. 1-10.

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ЙОДДЕФИЦИТНОГО СОСТОЯНИЯ ПУБЕРТАТНОГО ВОЗРАСТА ЮГА БАШКИРИИ

Э.Р. Бикметова[1], Г.В. Иванова[2], Ф.Х. Камилов[1]
ГБОУ ВПО БашГМУ Минздрава России, г. Уфа,
кафедра биологической химии (1)
ООО «Проммедэко» (2)

Резюме. Обследовано 113 школьников пубертатного возраста (13-14 лет) г. Мелеуза и с. Зирган Мелеузовского района, расположенных на территории Башкирии. Изучались уровень йодурии кинетическим церий-арсенитным методом (реагенты «Merk», Германия). Установлена высокая распространенность дефицита йода (42,5%) особенно в сельской местности среди мальчиков (59,8%). Результаты исследования свидетельствуют о необходимости проведения медико-профилактических мероприятий, направленных на снижение неблагоприятного воздействия недостаточного поступления в организм йода.

Ключевые слова: дети пубертатного возраста, йоддефицитные состояния, йодурия.

Актуальность. Йоддефицитные состояния являются актуальным для многих регионов России, включая горные районы и прилегающие к ним территории Башкирии. При этом недостаточность йода в биосфере традиционно сложившихся биогеохимических территорий, эндемичных по зобу, усугубляется хозяйственной деятельностью человека вследствие воздействия струмогенов антропогенного происхождения, препятствующих поступлению йода в щитовидную железу, затрудняющих синтез тиреоидных гормонов или оказывающих прямое повреждающее действие на ткань щитовидной железы, вызывая зобную трансформацию [1]. Тем не менее, наиболее часто встречающимися струмогенным фактором является дефицит поступления йода. Недостаточность поступления йода приводит к развитию йоддефицитных заболеваний, влияет на умственный потенциал и физическое развитие детей, их соматическое и репродуктивное здоровье в последующем [2, 3]. В детском и подростковом возрасте клинически выраженные формы гипотиреоза встречается редко, гипотиреоз протекает субклинически, и такие дети незначительно отличаются от здоровых. Ликвидация йоддефицита снижает общую заболеваемость, улучшает медико-демографические показатели, повышает работоспособность, обучаемость и познавательную способность детей. Всё это подчеркивает актуальность и необходимость исследования йоддефицитных состояний для профилактики детского населения. Для выявления субклинического гипотиреоза, скрытого дефицита йода необходимо проведение специальных исследований [3, 4]. Основным методом выявления распространенности йоддефицита на территории, согласно рекомендациям Всемирной организации здравоохранения и Международного совета по контролю за йоддефицитными заболеваниями является изучение йодурии [5, 6].

Целью работы явилось определение распространенности и выраженности йоддефицитного состояния среди подростков юга Башкирии (на примере г. Мелеуза и Мелеузовского района).

Материал и методыисследования. У 113 школьников 7-8 классов (13-14 лет) г. Мелеуза и с. Зирган Мелеузовского района определяли уровень обеспеченности йодом по измерению в разовой порции мочи уровня экскреции йода. Содержание йода в моче оценивали кинетическим церий-арсенитным методом, рекомендованным ВОЗ для выявления йоддефицита состояний [6], с использованием реагентов тест-наборов фирмы «Merk» (Германия).

Статистическую обработку результатов осуществили с использованием пакета программ Statistica 6,0 Windowsc расчета медианы (Me) интерквартильного интервала (25-й и 75-й перцентили), достоверность межгрупповых различий оценивали по U-критерию Манна-Уитни.

Результаты и их обсуждение. Результаты исследования йодурии у школьников пубертатного возраста характеризует наличие дефицита йода как у городских, так и сельских детей (таблица 1). Более 90% йода, поступающего в организм, экскретируется с мочой, и выраженность йодурии коррелирует с йоддефицитом [5]: экскреция с мочой равная или превышающая 100 мкг/л является нормой, йодурия 50-99 мкг/л свидетельствует о легкой йодной недостаточности, 21-49 мкг/л – об умеренной, а 20 мкг/л и менее – о выраженном (тяжелом) дефиците йода.

Таблица 1

Распространенность и выраженность йоддефицита у детей препубертатного возраста

Населенный пункт	Число обследованных детей	Количество детей (%) с йодурией, мкг/л				Медиана йодурии, мкг/л
		≤20	21-49	50-99	100-299	
г. Мелеуз	59	6,8	6,8	18,6	67,6	136,0 [84,2;185,2]
с. Зирган	54	22,2	14,8	16,7	46,3	84,2 [20,2;189,8]
Итого	113	14,2	10,6	17,7	57,5	122,2 [51,2;185,3]

Частота дефицита йода среди обследованных подростков составляет 42,5%, в том числе в городе 32,2%, в сельской местности 53,7%. При этом выраженная и умеренная недостаточность обеспеченности йодом организма детей на селе встречается в 2,5 раза чаще, чем у городских школьников.

Если медиана йодурии у подростков в целом по региону и в городе характеризует достаточное потребление йода (более 100 мкг/л), то на селе обнаруживается йоддефицит (84,2 мкг/л).

Обеспеченность йодом обследованных детей по полу представлены в таблице 2. Рекомендуемый уровень йода в г. Мелеуз потребляют 67,9%

мальчиков и 67,7% девочек. В сельской местности выявились существенные различия потребления йода по половому признаку. Среди девочек рекомендуемый уровень йода потребляют 66,7%, что близко к результатам изучения йодурии в городе. Но среди мальчиков обнаружилось значительное преобладание дефицита йода: тяжелый дефицит йода у 29,7%, умеренный – у 22,2% и легкий – у 22,2%, т.е. более половины обследованных мальчиков пубертатного возраста имеют тяжелый и умеренный йоддефицит.

Таблица 2

Показатели йодурии у детей пубертатного возраста в зависимости от половой принадлежности

Населенный пункт	Пол	Количество детей (%) с йодурией, мкг/л				Медиана йодурии, мкг/л
		≤20	21-49	50-99	100-299	
г. Мелеуз	м	7,1	7,1	17,9	67,9	135,9 [84,4;187,0]
	ж	6,5	6,5	19,3	67,7	145,9 [78,4;171,9]
с. Зирган	м	29,7	22,2	22,2	25,9	40,2 [20,0;100,2]
	ж	14,8	7,4	11,1	66,7	154,0 [75,8;200,0]

Результаты наших исследований сопоставимы с данными литературы по изучению распространенности дефицита поступления йода в регионах России, характеризуемых как эндемичные районы с йоддефицитным состоянием [2, 3, 7, 8].

Проведенный мониторинг йодной обеспеченности в когорте детей является по рекомендациям департамента по питанию для здоровья и развития ВОЗ референтной и позволяет экстраполировать полученные результаты на всю популяцию региона. Сложившаяся ситуация требует принятия профилактических мер, направленной на обеспечение постоянного достаточного поступления в организм этого важного микроэлемента.

Выводы. Южный регион Башкирии характеризуется высокой распространенностью (42,5%) йоддефицитного состояния среди детей пубертатного возраста (13-14 лет). Тяжелая и умеренная недостаточность обеспеченности йодом встречается в сельской местности в 2,5 раза чаще, чем в городе и в основном среди мальчиков.

Список литературы

1. Бутаев А.М. Эндемический зоб и методы его профилактики с точки зрения экологии / А.М. Бутаев // Вестник Дагестанского научного центра. – 2008. – № 32. – С. 29-37.
2. Бишарова Г.И. Влияние йоддефицитных заболеваний на показатели физического развития детей / Г.И. Бишарова, Е.В. Семина, Т.П. Горковенко // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2010. – №7 (71). – С. 54-57.

3. Йоддефицитные заболевания в Российской Федерации (эпидемиология, диагностика, профилактика) / под ред. И.И. Дедова. – М., 2012. – 21 с.
4. Касаткина Э.П. Эффективность йодной профилактики в России: пути оптимизации / Э.П. Касаткина, Л.М. Салионов // Проблемы эндокринологии. – 2009. – Т. 55, №1. – С. 8-11.
5. Кейн Л.А. Исследования состояния щитовидной железы: клинический подход / Л.А. Кейн, Х. Гариб // Болезни щитовидной железы: пер. с англ./ под ред. Л.И. Бровермана. – М.: Медицина, 2000. – С. 38-77.
6. WHO: Indicators for Assessing Iodine Defiriency Disorders and their Control Programmed Report of Joints. WHO /UNICEFF / ICCIDD, September, 1993. – Geneva, 1993.
7. Изучение состояния йоддефицита в Тюменской области / Л.А. Суплотова [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2005. – №2 (36). – С. 115-117.
8. Савченков М.Ф. Профилактикак йоддефицитных заболеваний в регионах центральной Азии / М.Ф. Савченков // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2008. – №1 (59). – С. 40-46.

ЛЕЧЕБНЫЙ МАССАЖ КАК БИОХИМИЧЕСКАЯ ЦИТОПРОТЕКТОРНАЯ ГЕРОПРОФИЛАКТИКА У ПАЦИЕНТОВ С ПОЛИМОРБИДНОЙ ПАТОЛОГЕЙ

К.В. Егорин [1], В.Н. Мещанинов [1,2], Е.Л. Ткаченко [2], Т.Ю. Вержбицкая [2], И.В. Гаврилов [1,2,3]

ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург, кафедра биохимии (1)
ГАУЗ СО ИМКТ,г. Екатеринбург, лаборатория антивозрастных технологий (2)
ГБУЗ СО «СОКП Госпиталь для ветеранов войн», г. Екатеринбург, лаборатория патофизиологии старения (3)

Резюме. Лечебный массаж в течение краткого курсового воздействия у пациентов с полиморбидной патологией снижает биологический возраст за счет реализации белкового анаболического и цитопротекторного эффектов, опосредованного гемопоэтическими стволовыми клетками.

Ключевые слова: стволовая клетка, белковый анаболизм, биологический возраст, лечебный массаж.

Актуальность. Достижения медицины развитых стран мира наряду с улучшением безопасности окружающей среды не только увеличили продолжительность жизни людей в большинстве стран, но и значимо повысили роль процессов старения в формировании качества и продолжительности жизни современного человека [1,5]. Несмотря на многочисленные исследования в области проблемы старения, эффективных способов увеличения продолжительности жизни человека так и не обнаружено [4,5]. Поиски геропротекторов идут в разнообразных направлениях [3,7,8]. Перспективным направлением в геронтологии представляется использование в

качестве геропротекторов стволовых клеток. Об этом свидетельствуют данные о роли стволовых клеток в регенерации тканей организма [1,3,5]. Однако, с одной стороны, современное российское законодательство ограничивает применение стволовых клеток на человеке, а с другой стороны многие клеточные технологии далеки от совершенства и небезопасны.Среди инновационных подходов в настоящее время заслуживает внимания использование потенциальных стимуляторов стволовых клеток в качестве геропротекторов [5]. В качестве потенциального источника эндогенных геропротекторов может рассматриваться лечебный массаж, который, по-видимому, должен сопровождается выделением тканевых гормонов, стимуляцией некоторых сторон метаболизма и клеточных элементов. Имеются данные о положительном опыте применения лечебного массажа и интерлейкина-2 в терапии ряда заболеваний [6]. В литературе найдены единичные данные о том, что оксид азота и лечебный массаж, помимо воздействия на обмен веществ, могут влиять на миграцию и способность к дифференцировке стволовых клеток [12]. В качестве интегрального показателя качества жизни пациента и как прогностический показатель величины предстоящей продолжительности жизни успешно используется оценка биологического возраста [2,5,9].

Цель. Оценить возможность клеточно-метаболической коррекции биовозраста пациентов с полиморбидной патологией с помощью лечебного массажа.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 12 пациентах мужского (2) и женского пола (10) с календарным возрастом от 23 до 67 лет. В исследование привлекались пациенты с полиморбидной патологией (5-7 хронических заболеваний в стадии стойкой ремиссии). Критериями исключения были: обострение хронических заболеваний, травмы, операции менее, чем за год до исследования, наличие опухолевых или инфекционных процессов. Контрольная группа – практически здоровые люди. Лечебный массаж проводился всем пациентам по стандартной методике в авторской модификации с усилением приемов разминания и дополнительными приемами ручной вибрации. Массировалась область спины (с захватом шейного, грудного и пояснично-крестцового отделов), 3,5 стандартных массажных единицы за сеанс по 10 сеансов – ежедневно или через день каждому пациенту. Каждый пациент был обследован до и после курса лечебного массажа. На анализаторе Chem Well Combi (Awareness Technologi, США,) в сыворотке крови пациентов с использованием реактивов «SPINREACT» (Испания) определяли биохимические показатели, отражающие обмен белков и компонентов остаточного азота, связанного с состоянием мышечной ткани, активность некоторых ферментов как показателей состояния мембран и цитолиза. В периферической крови пациентов определяли общие гематологические показатели (гематологический анализатор ERMA PCE 90VET, Walpole, США) и содержание гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) по маркерам CD34+ методом 5-цветной проточной цитометрии на приборе FACSCantoII

(Becton&Dickinson (BD), США) [10,11,12,13].У пациентов исследовали функциональные возраст-зависимые показатели [9] и для оценки геропрофилактического эффекта определяли биовозраст [2].Статистическая обработка результатов исследований проводилась методами вариационной статистики с применением программного комплекса Statistica 6.0 (StataCorporation, США) на персональном компьютере в операционной системе Microsoft Windows XP Home Edition.

Результаты и их обсуждение. У лечебного массажа обнаружено некоторое стимулирующее, возможно, в том числе и анаболическое, влияние на белковый обмен. При механическом воздействии лечебного массажа у пациентов в сыворотке крови наблюдалось незначительное, но достоверное повышение содержания общего белка (+6,6%, $p<0,05$), а также глобулинов (+19,2%, $p<0,01$). Отмечалось повышение содержания креатинина (19,2%, $p<0,001$) и ферментов аспартатаминотрансферазы [КФ 2.6.1.1] (+33,3%, $p<0,01$), аланинаминотрансферазы [КФ 2.6.1.2] (+29,2%, $p<0,05$) и мембраносвязанной гамма-глутамилтранспептидазы [КФ 2.3.2.2] (+14,3%, $p<0,01$) (табл. 1).

Таблица 1

Влияние лечебного массажа на биохимические показатели азотистого обмена и активность ферментов сыворотки крови пациентов с полиморбидной патологией до и после курса массажа

Показатели, единицы измерения	Значения		Отличия, достоверность
	до лечения	после лечения	
Общий белок, г/л	64,9 ± 1,3	69,2 ± 1,5	6,6% *
Альбумины, г/л	47,2 ± 1,02	47,9 ± 1,21	1,4%
Глобулины, г/л	17,7 ± 0,78	21,1 ± 1,14	19,2% **
Креатинин, мкМоль/л	66,0 ± 1,04	91,5 ± 1,23	38,6% ***
Аспартатаминотрансфераза, Е/л	18,3 ± 0,43	24,4 ± 0,38	33,3% **
Аланинаминотрансфераза, Е/л	10,9 ± 0,3	14,75 ± 0,37	29,2% *
Гамма-глутамилтранспептидаза,Е/л	13,9 ± 0,44	15,9 ± 0,47	14,3,9% **

Примечание: достоверность различий показателя после и до лечения
*- $p< 0,05$; **- $p< 0,01$; ***- $p< 0,001$;

При этом все описанные показатели увеличивались, не превышая верхнюю границу референсных значений. Увеличение содержания креатинина и активности мембранных и внутриклеточных ферментов в сыворотке крови, вероятно, связано с интенсивной стимуляцией тканей кожи, подкожной жировой, соединительной, мышц, надкостницы, активацией микро- и макроциркуляции крови в жизненно важных органах (печень, сердце и др.). Установленным является факт повышения содержания креатинина в плазме крови в ответ на достаточную мышечную стимуляцию [6]. После проведения курса лечебного массажа в крови пациентов наблюдалось повышение содержания лейкоцитов (не превышающее верхней границы референстных значений показателей) (+15,3%, $p<0,001$), которое происходило за счет

лимфоцитов (+20,8%, p<0,05) и гранулоцитов (+34,3%, p<0,001) [табл. 2]. У всех пациентов после воздействия лечебным массажем в крови было обнаружено значительное повышение содержания маркеров гемопоэтических стволовых клеток CD34+ (+34,7%, p<0,05).Полученные данные свидетельствуют о том, что лечебный массаж приводил к изменению содержания в крови гемопоэтических мультипотентных стволовых клеток, достоверному повышению их уровня, что связано, скорее всего, с мобилизующим воздействием лечебного массажа на костный мозг, как источник или депо стволовых клеток. Механическое воздействие лечебного массажа на надкостницу и мягкие ткани, вибрация, сопровождающая выполнение процедур, местное улучшение крово- и лимфообращения – возможные факторы, стимулирующие производство и выход стволовых клеток в кровь. Имеются данные, подтверждающие влияние механической вибрации на выход мультипотентных стволовых клеток из депо в кровь [12].Курс лечебного массажа вызвал у пациентов улучшение ряда физиологических показателей: увеличение времени задержки дыхания на вдохе, увеличение времени задержки дыхания на выдохе, количества баллов теста субъективной оценки здоровья, увеличение времени статической балансировки. Данные изменения косвенно свидетельствовали об улучшении кислородного режима организма, отражали повышение самооценки состояния здоровья и улучшение вегетативной нервно-мышечной регуляции, координации движений, улучшение работы вестибулярного аппарата. В результате после проведенного курса лечебного массажа у всех пациентов наблюдалось достоверное уменьшение биологического возраста (-10,3%, p<0,001), в оценку которого наряду с другими функциональными и психологическими тестами [2,9] входили и описанные выше показатели. Достоверное снижение биологического возраста после курса лечебного массажа имело прямую корреляцию с содержанием в крови маркеров CD34+ стволовых клеток, что позволило констатировать наличие позитивного влияния лечебного массажа на биовозраст пациентов, одними из механизмов которого могли явиться стимуляция выхода стволовых клеток из костного мозга, влияние на миграцию и способность к дифференцировке стволовых клеток с последующим цитопротекторным и цитозаместительным влиянием на стареющие и поврежденные ранее клетки и ткани органов, в том числе и жизненно важных [3,4,5,11,12].

Выводы

1. Лечебный массаж способен в течение короткого курсового воздействия замедлять темп старения организма пациентов с полиморбидной патологией, судя по показателю биологического возраста.

2. Геропрофилактический эффект лечебного массажа может быть опосредован стимуляцией белкового анаболизма, повышением проницаемости клеточных мембран в физиологических пределах, увеличением возможности элиминации старых или поврежденных клеток органов и тканей с заместительной цитопротективной ролью стволовых гемопоэтических CD34 + позитивных клеток.

Список литературы

1. Анисимов В.Н. Медицина антистарения: состояние и перспективы / В.Н. Анисимов // Российский семейный врач. – 2010. – Т. 14, № 4. – С. 4-12.
2. Программа для ЭВМ «BIOAGE Polinom» / И.В. Гаврилов [и др.]. – Свидетельство РФ о госрегистрации программы для ЭВМ, № 2012613817, правообладатели ИМКТ И СОКП ГВВ. Рег. 15.03.2012.
3. Галицкий В.А. Эпигенетическая природа старения / В.А. Галицкий // Цитология. – 2009. – Т. 51, № 5. – С. 388-397.
4. Перспектива использования стволовых клеток для активации кроветворения в условиях возрастной инволюции на фоне воздействия ионизирующего излучения / Д.Ю. Гребнев [и др.] // Успехи геронтологии. – 2014. – Т. 27, № 2. – С. 348-352.
5. Влияние синтетических пептидов на темпы старения пациентов с хроническими полиморбидными и психоорганическими нарушениями центральной нервной системы в стадии ремиссии / В.Н. Мещанинов [и др.] // Успехи геронтологии. – 2015. – Т. 28, № 1. – С. 62-67.
6. Комплексная реабилитация больных с последствиями острого нарушения мозгового кровообращения / Н.Ф. Мирютова[и др.] // Физиотерапия. Бальнеология. Реабилитация. – 2015. – № 1. – С. 13-18.
7. Москалёв А.А. Эволюционные представления о природе старения / А.А. Москалёв // Успехи геронтологии. – 2010. – Т. 23, № 1. – С. 9-20.
8. Скулачев В.П. Новые сведения о биохимическом механизме запрограммированного старения организма и антиоксидантной защите митохондрий / В.П. Скулачев // Биохимия. – 2009. – Т. 74, №12. – С. 1718-1721.
9. Использование методики определения биовозраста человека в донозологической практике: метод. рекомендации МЗ УССР / А.В. Токарь [и др.]. – Киев, 1990. – 13 с.
10. Bernardo M.E. Optimization of in vitro expansion of human multipotent mesenchymal stromal cells for cell-therapy approaches: further insights in the search for a fetal calf serum substitute / M.E. Bernardo // J. Cell Physiol. – 2007. – Vol. 211, №1. – P. 121-130.
11. Bernardo M.E. Human bone marrow derived mesenchymal stem cells do not undergo transformation after long-term in vitro culture and do not exhibit telomere maintenance mechanisms / M.E. Bernardo // Cancer Res. – 2007. – Vol. 67, №19. – P. 9142-9149.
12. Stem cells, angiogenesis and muscle healing: a potential role in massage therapies? / T. Best [et al.] // Br. J. Sports Med. – 2013. – Jun. – P. 556-560.
13. Enumeration of viable CD34(+) cells by flow cytometry in blood, bone marrow and cord blood: results of a study of the novel BD™ stem cell enumeration kit/K. Dauber [et. al.] // Cytotherapy. – 2011. – April. – P. 449-458.

РОЛЬ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УРОВНЯ ГОМОЦИСТЕИНА ПРИ ПОСТРОМБОТИЧЕСКОМ СИНДРОМЕ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.С. Пшенников,
И.Н. Рудакова, Л.В. Никифорова, Т.А. Марукова
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра ангиологии оперативной, топографической анатомии
и сосудистой хирургии

Резюме. В статье изучен один из современных факторов в замедлении процессов реканализации после перенесенного тромбоза глубоких вен – гипергомоцистеинемия, которое приводит к формированию посттромботического синдрома нижних конечностей. Выполнялось определение уровня гомоцистеина крови при поступлении, через 1 месяц, 3 месяца от момента развития острого тромбоза глубоких вен нижних конечностей. Острому тромбозу глубоких вен сопутствует повышение уровня гомоцистеина крови. Максимальная выявленная концентрация гомоцистеина среди проб пациентов – 31,6 ммоль/л, что соответствует умеренной форме гипергомоцистеинемии. На фоне приема антикоагулянтов в течение 3 месяцев содержание гомоцистеина несколько снижается. Прием витаминов B_6, B_9, B_{12} позволяет добиться значимого снижения уровня гомоцистеина, улучшения результатов лечения, уменьшения количества пациентов с классом C_{3-4}.

Ключевые слова: посттромботический синдром, гомоцистеин, фолиевая кислота, витамины B_6, B_{12}.

Актуальность. По статическим данным, после перенесенного острого тромбофлебита глубоких вен у пациентов от 20 до 40% случаев наступает хроническая окклюзия магистральных вен, что приводит к развитию тяжелой формы хронической венозной недостаточности (ХВН) обусловленной посттромботическим синдромом нижних конечностей (ПТС) [1-3,5].

Продолжается изучение факторов, усугубляющих формирование посттромботического синдрома. Полагают, что гипергомоцистеинемия – информативный показатель развития болезней сердечно–сосудистой системы [4,11,12]. Механизмами влияния гомоцистеинемии на сосуды могут быть повреждения под действием окислительного стресса, нарушения выделения окиси азота, изменения гомеостаза и активации воспалительных процессов.

Гомоцистеин – аминокислота, содержащая тиоловую группу. Ее синтез происходит в результате внутриклеточного деметилирования метионина. Гомоцистеин (Hcy) превращается в цистеин в необратимой каталитической реакции, зависящей от витамина B_6. Большая часть гомоцистеинаре-метилируется в метионин, главным образом, фолат – кобаламин-зависимыми ферментами синтеза метионина. Гомоцистеин накапливается в клетках и выводится в кровоток в результате нарушения этих механизмов. [4, 6-8]. Гомоцистеин циркулирует в плазме чаще всего в окисленной

форме (т.е., в форме цистина и цистеин- Нсу дисульфида) и в связанном с белками виде. Также в небольшом количестве в циркуляции находятся восстановленный гомоцистеин и дисульфид гомоцистеина (Нсу SS- Нсу). Общийгомоцистеин (tНсу) – это сумма свободного и белоксвязанногогомоцистеинов.

Помимо ферментов, важную роль в метаболизме гомоцистеина выполняют витамины B_6, B_{12} и фолиевая кислота. Клейтон в своем исследовании [7] заметил, что низкий уровень витамина B_6 сам по себе уже является фактором риска рецидива венозных тромбоэмболических осложнений (ВТЭ).

Различают несколько форм гипергомоцистеинемии (ГГЦ) [4].

1. Тяжелая форма ГГЦ (>100 мкмоль/л).
2. Умеренная форма ГГЦ (30-100 мкмоль/л).
3. Легкая форма ГГЦ (10-30 мкмоль/л).

Тормозя работу противосвертывающей системы, гомоцистеинемия является фактором риска развития тромбозов глубоких вен, препятствует активным процессам реканализации, приводя к возникновению ПТС. Повышенный уровень гомоцистеина (более чем 18 мкмоль/л) связан с увеличенным риском тромбоза. Такие уровни найдены в 5–10% случаев в общей популяции, что увеличивает риск венозного тромбоза примерно в два раза. Предполагается, что ГГЦ оказывает повреждающее воздействие на клетки, особенно нервные и эндотелиальные.

У пациентов с низкой и умеренной формой гипергомоцистенемии можно добиться снижения уровня ГЦ до нормального, назначая фолиевую кислоту от 400 мкг до 5 мг/сут., либо витамин B_{12} в дозе от 500 мкг до 1 мг/сут., либо используя оба препарата [10].

Материалы и методы. В исследование включено 14 пациентов, которые были разделены на 2 группы. Пациенты I группы получали антикоагулянтную, компрессионную терапию. Пациенты II группы принимали антикоагулянтные препараты, применялась эластическая компрессия. Дополнительно в таблетированной форме назначался препарат фолиевой кислоты (600 мкг) с витаминами B_{12} (5 мкг) и B_6 (6 мг).

Всем испытуемым выполнялось определение уровня гомоцистеина крови на этапах: при поступлении, 1 месяц, 3 месяца от момента развития острого тромбоза глубоких вен нижних конечностей.

Исследование выполнено на базе Центральной научно-исследовательской лаборатории РязГМУ. Использован набор Axis® Homocysteine Enzyme Immunoassay – набор реагентов для количественного определения гомоцистеина методом иммуноферментного анализа.

Тест-система предназначена для определения гомоцистеина в крови методом иммуноферментного анализа. Связанный с белком Нсу восстанавливается до свободного и превращается в S- аденозил-Lгомоцистеин (SAH) в ферментной реакции – проводится специальная процедура, предшествующая иммунноферментному анализу []. Фермент специфичен для L-формы гомоцистеина, в которой последний и присутствует в крови.

1.1 Восстановление. Смесь дисульфида и белок-связанной формы Hcy в образце восстанавливаются до свободного гомоцистеина при использовании дитиотреитола (DTT).

Белок-SS- Hcy DTT

R1*-SS- Hcy ⟶ Hcy

Hcy-SS- Hcy

где *R1 – любая тиоловая группа

1.2 Ферментативная реакция. Гомоцистеин образца превращается в S – аденозил-L-гомоцистеин с использованием SAH-гидролазы в присутствии избытка аденозина (Ad).

Hcy + Ad ⟶ SAH + H_2O

1.3 Иммуноферментный анализ. Следующий твердофазный иммуноферментный анализ основан на конкуренции между SAH в образце и SAH, иммобилизованным в лунках микропланшета, за сайты связывания с моноклональными антителами к SAH. Активность пероксидазы измеряется на спектрофотометре после добавления субстрата. Полученная абсорбция обратно пропорциональна концентрации общего гомоцистеина в тестируемом образце.

Характер принимаемой пищи может влиять на уровень циркулирующегогомоцистеина. Прием богатой белками пищи сопровождается повышением уровня общего гомоцистеина. Пациентам было рекомендованоотказаться от приема подобной пищи за 24 часа до проведения анализа.

С целью оценки посттромботического синдрома применялась международная классификация хронических заболеваний вен CEAP. Контрольными точками выбраны 3, 6 и 12 месяцев.

Результаты и их обсуждение. Выявлены в результате исследования следующие концентрации гомоцистеина крови (табл. 1). Зависимости уровня ГЦ от уровня поражения системы глубоких вен нами выявлено не было.

Таблица 1

Концентрация гомоцистеина в плазме крови

	I группа	II группа
1 сутки	21,225±9,4 мкмоль/л	22,91±8,7 мкмоль/л
1 месяц	19,175±4,4 мкмоль/л	15,12± 3,75 мкмоль/л
3 месяца	17,38±4,25 мкмоль/л	11,36±3,05 мкмоль/л

Острому тромбозу глубоких вен сопутствует повышение уровня гомоцистеина крови. В первые сутки отмечался самый высокий показатель – максимальная концентрация гомоцистеина, выявленная среди проб пациентов 31,6 мкмоль/л, что соответствует умеренной форме гипергомоцистеинемии. В крови всех пациентов выявленагипергомоцистеинемия, преимущественно в легкой форме.

На фоне приема антикоагулянтов в течение 3 месяцев уровень в I группе пациентов содержание гомоцистеина несколько снижается, однако, данное снижение нельзя считать статистически достоверным ($p>0,5$).

Во II группе прием витаминов B_6, B_9, B_{12} позволяет добиться снижения уровня гомоцистеина. В нашем исследовании мы отметили при наличии у пациента легкой формы ГГЦ прием витаминов приводит к плавному снижению концентрации гомоцистеина в течение 3 месяцев. Если уровень изначально выше 30 мкмоль/л, в первый месяц динамика будет наиболее выраженной, в дальнейшем темпы падения снижаются.

Через 12 месяцев после перенесенного ТГВ в первой группе у 6 пациентов (85,7%) сформировалась смешанная форма ПТС, у 1 (14,3%) – реканализованная форма. Во второй группе у 5 пациентов (71,4%) – смешанная форма, у 2 (28,6%) – реканализованная.

В группе II отмечено снижение количества пациентов с классами C_{3-4}, начиная с 3 месяца терапии. Тенденция сохранилась на протяжении всего периода наблюдения.

Препарат, состоящий из комбинации 3 витаминов, в таблетированной форме легок в приеме – 1 раз в сутки. Случаев аллергических реакций нами отмечено не было.

Выводы

1. Острому тромбозу глубоких вен сопутствует повышение уровня гомоцистеина крови.

2. Прием витаминов B_6 и B_{12}, фолиевой кислоты помогает снизить уровень гомоцистеинаи благоприятно влияет на течение ПТС.

Список литературы

1. Операции на сосудах / Р.Е. Калинин [и др.]. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2015. – 120 с.
2. Калинин Р.Е. Диспансеризация больных с венозными тромбоэмболическими осложнениями / Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, М.В. Нарижный // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – №3. – С. 104-109.
3. Оценка эффективности и безопасности различных вариантов антикоагулянтной терапии при венозных тромбозах / Р.Е. Калинин [и др.] // Новости хирургии. – 2015. – Т. 23, № 4. – С. 416-423.
4. Козлова Т.В. Распространенность гипергомоцистеинемии и ее связь с мутациями в гене метилентетрагидрофолатредуктазы у больных с венозными тромбозами и здоровых лиц / Т.В. Козлова// Ангиология и сосудистая хирургия. – 2006. – Т. 12, №1. – С. 32.
5. Анализ путей венозного оттока после операции дистанционной окклюзии задних большеберцовых вен / П.Г. Швальб [и др.] // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2015. – № 1. – С. 74-81.
6. Detection of vitamin B_{12} deficiency in older people by measuring vitamin B_{12} or the active fraction of vitamin B_{12}, holotranscobalamin / R. Clarke [etal.] // Clin Chem. – 2007. – Vol. 53, №5. – P. 963-970.
7. Clayton P.T. B_6-responsive disorders: a model of vitamin dependency / P.T. Clayton // J Inherit Metab Dis. – Vol. 29, №2-3. – P. 317-326.

8. Finkelstein J.D. Methionine metabolism in mammals / J.D. Finkelstein // J Nutr Biochem. – 1990. – Vol. 1. – P. 228-237.
9. Lentz S.R. Homocysteine: Is it a clinically important cardiovascular risk factor? / S.R. Lentz, W.G. Haynes // Clev. Clin. J. Med. – 2004. – Vol. 71. – P. 729-734.
10. Malinow M.R. Plasma homocysteine and arterial occlusive diseases: A mini-review/ M.R. Malinow // Clin Chem. – 1995. – Vol. 41. – P. 173-176.
11. McDowell I.F.Homocysteine and endothelial dysfunction: a link with cardiovascular disease / I.F. Mc Dowell, D. Lang // J. Nutr. – 2000. – Vol. 130. – P. 369-372.
12. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged British men / I.J. Perry [et al.] // The Lancet. – 1995. – Vol. 346. – P. 1395-1398.

ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ТЕЧЕНИЯ ОСТЕОАРТРОЗА У ЖЕНЩИН ФИЗИЧЕСКОГО ТРУДА

М.С. Невзорова
ГБОУ ВПО ПГМУ имени академика Е.А. Вагнера Минздрава России,
г. Пермь, кафедра биохимии

Резюме. В статье представлено значение васкулоэндотелиального фактора роста, десквамированных эндотелиоцитов в развитии остеоартроза у женщин физического труда. Установлено, что у данных пациенток в зависимости от наличия факторов риска изменяется уровень показателей нарушения функционального состояния эндотелия. Данные показатели могут быть использованы для прогнозирования течения остеоартроза у женщин физического труда.

Ключевые слова: васкулоэндотелиальный фактор роста, десквамированные эндотелиоциты, остеоартроз.

Актуальность. Остеоартроз (ОА) является одной из самых распространенных форм заболеваний суставов. В Российской Федерации у 15 миллионов женщин трудоспособного возраста диагностирован ОА [1,2,3]. Физическому перенапряжению отводится ведущая роль в развитии патологии. Согласно концепции долгосрочного социально-экономического развития Российской Федерации на период до 2020 года («Стратегия 2020») для улучшения состояния здоровья работающего населения необходимо основные усилия направлять на профилактику. Для реализации данной Концепции необходима разработка маркеров ранней диагностики заболевания. Среди множества факторов, оказывающих влияние на формирование ОА у женщин физического труда, решающее значение имеет тяжелый физический труд – экзогенный фактор риска. Выделены основные эндогенные факторы риска развития ОА: наличие коморбидной патологии, избыточная масса тела, период постменопаузы, наличие синовита [4,5]. Изучение функции эндотелия сосудов у больных ОА женщин является акту-

альной задачей, поскольку позволяет диагностировать нарушение микроциркуляции на ранних стадиях развития ОА.

Цель исследования – изучить показатели функционального состояния эндотелия у больных остеоартрозом женщин в зависимости от наличия эндогенных факторов риска.

Материалы и методы. Обследовано 68 больных ОА женщин – работниц физического труда. Средний возраст составил 50,5±0,58 лет, стаж работы 25,4±4,4 года. Группу сравнения составили 30 практически здоровых женщин, работающих в условиях адекватного физического труда, без признаков ОА, средний возраст 49±6,96 лет. Группы сопоставимы по возрасту, полу, стажу. Проводилось исследование маркеров повреждения эндотелия: подсчет количества десквамированных эндотелиоцитов (ДЭЦ) в плазме крови по методу Hladovec (1978), количественное определение в сыворотке крови иммуноферментным методом васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF) при помощи набора «Вектор-Бест».

Результаты и их обсуждение. Количество слущенных эндотелиальных клеток было достоверно выше у больных ОА женщин (10,14±0,84*10^4/л) по сравнению со здоровыми (3,02±0,23*10^4/л) ($p<0,01$). Повышение выработки VEGF у пациенток подтверждает наличие выраженного повреждения сосудистого эндотелия (366,8±31,06 пг/мл). В группе сравнения концентрация VEGF составила 158,86±13,52*10^4/л, что в 1,5 раза ниже аналогичного параметра больных ОА женщин ($p<0,05$). Нами изучена дисфункция эндотелия (ДЭ) на ранних стадиях ОА и при прогрессировании заболевания. При I, II стадиях ОА по рентгенологической классификации Келлгрена, Лоуренса (1957 г.) количество ДЭЦ составляет 4,43±0,19*10^4/л, наблюдается минимальная дисфункция. При III стадии количество ДЭЦ (12,88±0,97*10^4/л) нарастает в 3 раза ($p<0,01$). Концентрация VEGF при I-II стадиях составляла 205,6±0,10 пг/мл, при III стадии 429,6±42,74 пг/мл. Уровень VEGF при III стадии ОА в 2 раза увеличился по сравнению с I, II стадиями ($p<0,01$) по мере прогрессирования заболевания. Маркеры ДЭЦ и VEGF являются важными показателями прогрессирования ОА. Проведена оценка функционального состояния эндотелия в зависимости от наличия синовита. Установлено, что при активном воспалительном процессе в суставах при ОА уровень ДЭЦ в 2 раза выше (11,3±0,68*10^4/л), чем у больных ОА без признаков синовита(5,64±0,09 *10^4/л) ($p<0,01$). Уровень VEGF у больных с синовитом составил 350±31,5 пг/мл, без синовита 190±0,03 пг/мл. С увеличением активности воспаления усугубляется десквамация эндотелиоцитов. Микроциркуляторные нарушения являются неотъемлемым компонентом феномена системной воспалительной реакции [5]. ДЭ более выражена при ассоциации ОА с артериальной гипертензией (АГ). Количество ДЭЦ у больных ОА без признаков АГ составило 7,04±0,10*10^4/л, у больных ОА в сочетании с АГ количество ДЭЦ достоверно нарастало до 12,1±0,12*10^4/л. Концентрация VEGF у больных ОА без АГ составила 319,72±50,4 пг/мл, при ассоциации ОА с АГ уровень VEGF возрос до

572±42,53 пг/мл (p<0,01). Следующим предиктором прогрессирования ОА является избыточная масса тела. Усугубление ДЭ обнаружено при наличии у больных ОА избыточной массы тела. У больных ОА без избыточной массы тела количество ДЭЦ составило 6,01±0,04*10^4/л, у больных ОА с избыточной массой тела 15,2±0,09*10^4/л (p<0,01). Уровень VEGF у больных ОА с нормальным индексом массы тела 185±0,04 пг/мл, при ассоциации ОА с избыточной массой тела 490,2±0,15 пг/мл (p<0,01). При наличии избыточной массы тела повреждение эндотелия усугубляется,так как в жировой ткани синтезируется большое количество провоспалительныхинтерлейкинов, которые оказывают повреждающее действие на эндотелий. Обнаружено, что в постменопаузу повреждение эндотелия более выражено, чем у больных ОА женщин в репродуктивный период и период пременопаузы. Это проявлялось достоверным увеличением количества ДЭЦ у больных ОА женщин до 14,11±0,90*10^4/л. У больных в пременопаузе количество ДЭЦ составляло 8,71±0,72*10^4/л. Концентрация VEGF не изменялась в зависимости от периода пре-, постменопаузы, поскольку в период постменопаузы формируется патологический ангиогенез. Обнаруженный дисбаланс биохимических маркеров ДЭ у больных ОА женщин делает перспективным включение их в стандарты обследования с целью ранней диагностики нарушений микроциркуляции [6,7].

Выводы. Таким образом, у больных остеоартрозом женщин, работающих в условиях физического перенапряжения, обнаружен синдром дисфункции эндотелия, который характеризуется увеличением концентрации васкулоэндотелиального фактора роста, количества десквамированных эндотелиоцитов. Эти показатели зависят от стадии заболевания, фазы обострения, периода постменопаузы, наличия сопутствующей патологии. Данные показатели дисфункции эндотелия могут быть использованы для прогнозирования течения остеоартроза у женщин физического труда.

Список литературы

1. Хитров Н.А. Лечение болевого синдрома при остеоартрозе / Н.А. Хитров // Современная ревматология. – 2009. – №2. – С. 48-52.

2. Чикинова Л.Н. Показатели первичной инвалидности вследствие болезней костно-мышечной системы и соединительной ткани в Российской Федерации и Приволжском Федеральном округе в 2011-2013 гг. / Л.Н. Чикинова, Ж.В. Болтенко // Казан. мед. журн. – 2014. – Т. 95, №6. – С.892-896.

3. Клинические рекомендации. Остеоартрит: Диагностика и ведение больных остеоартритом коленных и тазобедренных суставов / под ред. О.М. Лесняк. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 176 с.

4. Невзорова М.С. Прогностическая значимость оценки уровня моноцитарного хемоаттрактантного протеина-1 при остеоартрозе / М.С. Невзорова // Клинич. лаб. диагностика. – 2015. – Т. 60, №9. – С. 60.

5. Малютина Н.Н.Дисфункция эндотелия и неспецифические иммунные реакции в развитии и прогрессировании остеоартроза у женщин, за-

нимающихся физическим трудом / Н.Н.Малютина, М.С. Невзорова // Медицина труда и промышленная экология. – 2015. – №8. – С. 38-40.

6. Пат. 2512704 РФ, МПК. Способ диагностики нарушений микроциркуляции при деформирующем остеоартрозе у женщин, работающих в условиях физического перенапряжения / Н.Н. Малютина [и др.]. – 2014. – Бюл. №10.

7. Пат. 2473087 РФ, МПК. Способ диагностики нарушений микроциркуляции при деформирующем остеоартрозе у женщин, работающих в условиях физического перенапряжения / Н.Н. Малютина [и др.]. – 2013. – Бюл. №2.

РОЛЬ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К ГИПОКСИИ В ПРОЦЕССАХ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ В МОЗГЕ ПОСЛЕ СИСТЕМНОЙ ОСТАНОВКИ КРОВООБРАЩЕНИЯ

Г.А. Байбурина, Е.А. Нургалеева

ГБОУ ВПО БГМУ Минздрава России, г. Уфа, кафедра патофизиологии

Резюме. Эксперимент выполнен на самцах неинбредных белых крыс, разделенных на 3 группы по устойчивости к гипоксии. 5-минутную аноксию моделировали под общим эфирным наркозом интраторакальным пережатием сосудистого пучка сердца с последующей реанимацией. Период наблюдения составлял 35 дней. В гомогенатах тканей мозга определяли содержание глутатиона восстановленного, каталазы, ТБК-реагирующих продуктов. Установлено, что развитие и исход ишемического повреждения мозга обусловлены индивидуальными физиолого-биохимическими характеристиками животных.Высокоустойчивые к гипоксии животные в ранние сроки восстановительного периода реагируют усилением процессов липопероксидации на фоне значительного напряжения работы защитных ферментных систем. У неустойчивых к гипоксии животных отмечалась относительно небольшая активация этих процессов, что может быть вызвано быстрым истощением субстратов окисления, более значительными расстройствами микроциркуляции и доставки кислорода.

Ключевые слова: головной мозг, резистентность к гипоксии гипоксия, ишемия, реперфузия, крысы, перекисное окисление липидов, глутатион, каталаза.

Актуальность. Проблема ишемического повреждения мозговой ткани актуальна во всем мире, что объясняется широким распространением, а также высокими показателями временной нетрудоспособности и первичной инвалидизации. Разрушение липидных мембран митохондрий в ишемическом и реперфузионном периоде приводит к избыточному накоплению активных форм кислорода, что сопровождается образованием свободных радикалов и перекисей, активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ), способных преодолеть антиоксидантную защиту [4]. Высокая интенсивность аэробных процессов [8] и значительное содержание

ионов железа [7] в ткани мозга усугубляет повреждение, способствуя деструкции нейронови их гибели.

Цель работы – изучение особенностей липопероксидации в мозге крыс с разной устойчивостью к гипоксии в длительной динамике после ишемически-реперфузионного повреждения, вызванного остановкой системного кровообращения.

Материалы и методы. Серия экспериментов выполнена на 320 половозрелых самцах неинбредных белых крыс массой 150-180 г, содержавшихся в виварии на стандартном рационе и свободном доступе к воде, после предварительного тестирования на резистентность к гипоксии [1]. По итогам тестирования все животные были разделены на 3 группы – неустойчивые (НУ), среднеустойчивые (СУ) и высокоустойчивые к гипоксии (ВУ). Группы включали по 70 опытных и 10 контрольных крыс. Через неделю после тестирования под общим эфирным наркозом моделировали 5-минутную аноксию интраторакальным пережатием сосудистого пучка сердца по методу [3]. Реанимация проводилась с помощью наружного массажа сердца и искусственной вентиляции легких. Контрольная группа крыс после тестирования на устойчивость к гипоксии подвергалась эфирному наркозу без моделирования аноксии. В 1-е, 3-и, 5-, 7-, 14-, 21-е, 35-е сутки после оживления проводили забой животных под эфирным наркозом.

Активность каталазы определялась с помощью методики [2], содержание восстановленного глутатиона в гомогенатах мозга по [5], продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-рп), с помощью набора реактивов «ТБК-АГАТ». Результаты статистически обрабатывали параметрическими методами с вычислением средних значений (m), стандартных отклонений (n), достоверность различий средних оценивали по t-критерию Стьюдента, отношения между независимыми и зависимыми переменными исследовали с помощью дисперсионного анализа.

Результаты и их обсуждение. У контрольных животных в уровне функционирования защитных систем в клетках тканей мозга значимых межгрупповых различий обнаружено не было.

Было выявлено также статистически значимое влияние устойчивости к гипоксии на содержание восстановленного глутатиона ($p<0,001$) практически во все сроки наблюдения, кроме 14-х суток. На рисунке 2 хорошо видно, что ВУ животные в 1-е сутки после критического воздействия реагировали гораздо большим снижением уровня восстановленного глутатиона, чем СУ и НУ. Начиная с 5 суток, мы отмечали повышение его содержания по мере возрастания показателя устойчивости к гипоксии. Так, на 21 сутки у ВУ уровень глутатиона был максимальным, а у НУ минимальным. Очевидно, что наибольшее напряжение адаптационно-компенсаторных механизмов у животных высокоустойчивых к гипоксии происходит на самых ранних этапах восстановления, а у животных НУ на поздних.

Влияние устойчивости к гипоксии на уровень каталазы демонстрирует рисунок 3. Различия между средними значениями показателя досто-

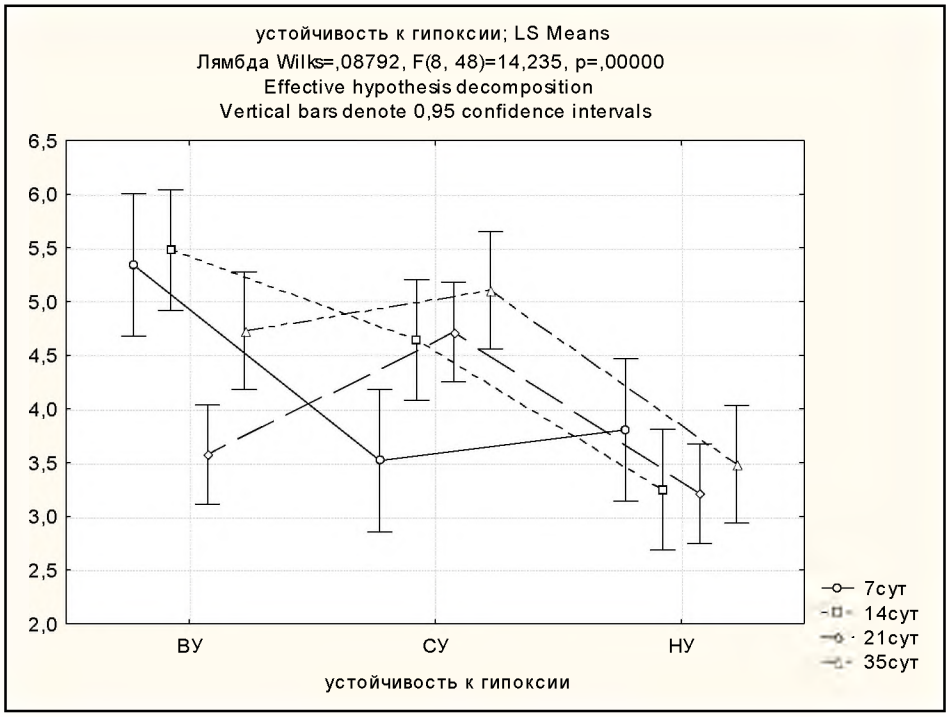


Рис. 1. Влияние устойчивости к гипоксии на уровень ТБК-рп в гомогенате тканей мозга

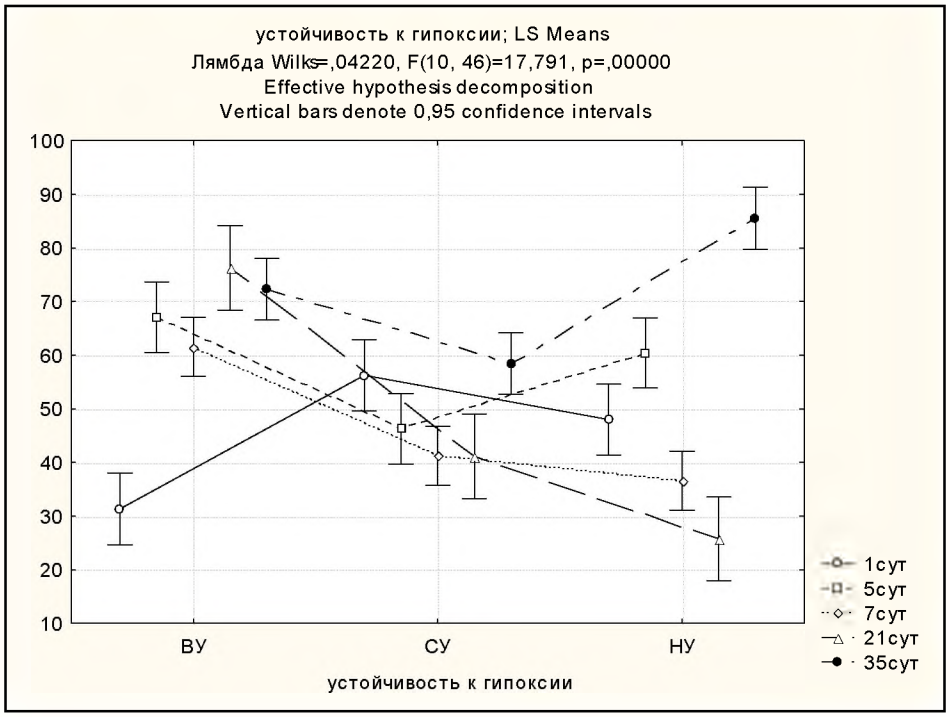


Рис. 2. Влияние устойчивости к гипоксии на содержание восстановленного глутатиона в гомогенате тканей мозга

верны во все сроки наблюдения, кроме 21 суток ($p<0,001$). Наибольшая активность защитных ферментных систем в мозге наблюдается на 1 сутки у НУ крыс параллельно с высоким уровнем восстановленного глутатиона, и

на 7-е сутки у ВУ параллельно с ростом накопления ТБК-РП. При этом практически во все сроки активность каталазы у животных, резистентных к гипоксии, была выше.

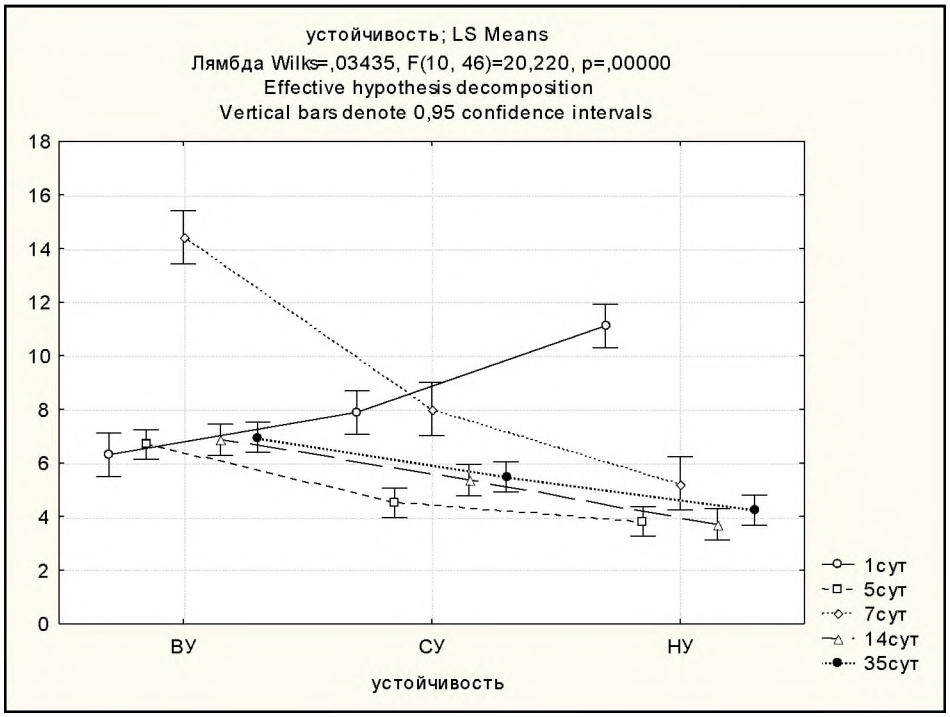


Рис. 3. Влияние устойчивости к гипоксии
на активность каталазы в гомогенате тканей мозга

Выводы. Таким образом, острая остановка системного кровообращения с последующей реанимацией вызывают рост интенсивности свободнорадикальных процессов и перекисного окисления липидов в ткани мозга, имеющий свои особенности в зависимости от резистентности животных к гипоксии. ВУ к гипоксии животные реагируют в ранние сроки после экстремального воздействия усилением процессов липопероксидации, быстрым истощением запасов восстановленного глутатиона в мозге, который, однако, довольно быстро восстанавливается, и значительным напряжением работы защитных ферментных систем. Относительно небольшая активация этих процессов у неустойчивых к гипоксии животных, вероятно, вызвана быстрым истощением у них субстратов окисления, более значительными расстройствами микроциркуляции и доставки кислорода, так как реперфузия не восстанавливает капилляры микроциркуляторного русла, а также высокой степенью эндотоксемии с подавлением перекисных реакций [6].

Список литературы

1. Пат. 2563059 РФ МПК. Способ определения степени устойчивости к гипобарической гипоксии мелких лабораторных животных / Г.А. Байбурина [и др.]. – Заявл. 19.08.2015.
2. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лаб. дело. – 1988. – №1. – С. 16-18.

3. Корпачев В.Г. Моделирование клинической смерти и постреанимационной болезни у крыс / В.Г. Корпачев, С.П. Лысенков, Л.З. Телль // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1982. – № 3. – С. 78-80.
4. Лукьянова Л.Д. Сигнальная функция митохондрий при гипоксии и адаптации / Л.Д. Лукьянова // Патогенез. – 2008. – Т. 6, № 3. – С. 4-12.
5. Методы биохимических исследований / под ред. М.И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленинградского университета, 1982. – 272 с.
6. Нургалеева Е.А. Патогенетические аспекты раннего и позднего эндотоксикоза в постреанимационном периоде (экспериментальное исследование): автореф. дис. … д-ра мед. наук. – М., 2013. – 38 с.
7. Ayala A. Lipidperoxidation: production, metabolism, andsignalingmechanismsofmalondialdehydeand 4-hydroxy-2-nonenal / A. Ayala, M.F. Muñoz // Arg. Oxid. Med. Cell. Longevity. – 2014. – Article ID 360438, 31 pages. – URL: http://dx.doi.org/10.1155/2014/360438
8. Orellana J.A. Modulation of brain hemichannels and Gap junction channels by pro-inflammatory agents and their possible role in neurodegeneration / J.A. Orellana // Antioxid. Redox. Signal. – 2009. – Vol. 11, № 2. – P. 369-399.

L-КАРНИТИН СПЕРМОПЛАЗМЫ В ПЕРИКОНЦЕПЦИОННОЙ ДИАГНОСТИКЕ У ПАЦИЕНТОВ С ВАРИКОЦЕЛЕ

Б.Н. Жиборев[1], А.Г. Уваров[1], В.И.Звягина [2], М.А.Фомина [2]
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра хирургических болезней с курсом урологии (1),
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО (2)

Резюме. В данном исследовании изучено содержание эндогенного карнитина в спермоплазме пациентов с варикоцеле, подвергавшихся хирургическому лечению, и оценка его влияния на показатели спермограммы. Показанакорреляционную связь между изменением концентрации карнитина, показателями подвижности сперматозоидов и индексом фертильности.

Ключевые слова: L-карнитин, NO, варикоцеле, придаток яичка (эпидидимис), индекс фертильности.

Актуальность. Связь между варикозным расширением вен семенного канатика и мужским бесплодием активно изучается с 50-ых годов двадцатого века. Данные обзоров и мета-анализов последних лет являются весьма противоречивыми. Так, в результате Кокрановского обзора (2009) сделан вывод о том, что лечение варикоцеле не повышает шансы зачатия в супружеских парах. В то же время, варикоцелэктомия улучшает качество эякулята у мужчин при идиопатическом бесплодии с клинически выраженным варикоцеле и олигозооспермией [1].

Механизм нарушения сперматогенной функции яичка у больных варикоцеле остается изученным не полностью. Основные гипотезы эпидидимотестикулярной дисфункции в литературе связывают с локальной гипертермией, повышенным венозным давлением вследствие ретроградного кровотока в системе яичковых вен и рефлюксом токсических катехоламинов надпочечников, с нарушением гормонального равновесия – угнетением секреции гонадотропинов или андрогенов, с оксидативным стрессом и проч.

Трудно выявить единственный или доминирующий фактор, приводящий к бесплодию при варикоцеле. Обращает на себя внимание, что в научных публикациях последнего времени возрос интерес к одной из причин, существенно влияющих на мужскую фертильность, в том числе и при варикоцеле – гиперпродукции активных форм кислорода (АФК): озона, свободных радикалов, перекиси водорода, оксида азота, нарушающих нормальное созревание сперматозоидов в придатке яичка [2,3].

Физиологическая роль придатка яичка заключается в его воздействии на метаболизм сперматозоидов посредством множества соединений, секретируемых эпителием семенного канальца, многие из которых обладают антиоксидантными свойствами. Среди них вызывает интерес витаминоподобное вещество – карнитин, который выделяется эпителием эпидидимального канальца и накапливается в спермоплазме. В семенной жидкости он находится в виде свободного и ацетилированного L-карнитина и служит источником энергии для переноса жирных кислот через мембрану сперматозоидов в митохондрии [4].

Эта небольшая четырехчленная молекула представляет собой мощный антиоксидант, который защищает клеточные мембраны от повреждения свободными радикалами кислорода, и может рассматриваться как маркер нормального функционирования придатка семенника. Придаток яичка продуцирует до 95% свободного карнитина спермоплазмы, остальное количество синтезируют семенные пузырьки. В семенной жидкости в норме его концентрация составляет 0,47 ммоль/л, что превышает содержание в плазме крови в десятки раз.

Некоторые авторы полагают, что при варикоцеле в первую очередь страдает функция придатка яичка [5], вызывая снижение подвижности сперматозоидов и оплодотворяющей способности эякулята. В аспекте вышеизложенного содержание L-карнитина спермоплазмы представляет собой несомненный интерес для изучения функциональной способности придатка яичка у пациентов с варикоцеле.

Цель исследования: целью исследования явилось изучение содержания эндогенного карнитина в спермоплазме пациентов с варикоцеле, подвергавшихся хирургическому лечению, и оценка его влияния на показатели спермограммы, что представляет несомненный интерес в плане эффективности варикоцелэктомии как вмешательства, улучшающего функцию придатка яичка на стороне варикоцеле и активирующего сперматогенез.

Материалы и методы. Для изучения этих положений мы провели обследование 25 пациентов с левосторонним ортостатическим варикоцеле 2-3 степени перед оперативным лечением. Возраст больных составил от 18 до 40 лет (в среднем 28,6). У 10 мужчин (40%) диагностировано бесплодие в браке. Всем пациентам в изученной группе проводилось физикальное обследование, включающее визуальный осмотр и пальпацию мошонки в орто- и клиностазе с определением пробы Вальсальвы, измерением объема яичек. Клинический диагноз подтверждался методом УЗИ органов мошонки с допплерографией и выявлением вено-тестикулярного рефлюкса. Функция гонад оценивалась по результатам спермографии с определением концентрации L-карнитина спермоплазмы, уровнем половых и гонадотропных гормонов плазмы крови.

Концентрацию карнитина определяли по методу Wan L. и Hubbard R.W., основанного на образовании свободного KoASH, реагирующего неэнзиматически с 5,5-дитиобис-2-нитробензоатом (DNTB) с образованием окрашенного 5-тио-2-нитробензоата, интенсивность которого измеряли спектрофотометрически при $\lambda = 410$ нм. Концентрация карнитина в образцах рассчитывалась по калибровочному графику с использованием стандартного раствора L-карнитина. Определялся общий карнитин и свободный, связанный рассчитывался по разнице между ними.

Для оценки сперматогенной функции яичек мы предложили производный показатель – индекс фертильности (IF) – отношение доли морфологически не измененных форм сперматозоидов к патологическим формам. Значение IF=1,0 соответствует критическому уровню фертильности. Оно образовалось с учетом стандарта ВОЗ (1999) при отношении 50% нормальных к 50% измененных форм сперматозоидов. IF> 1,0 означает увеличение числа не измененных половых клеток в эякуляте, характеризует близкие к физиологическим условия сперматогенеза, IF< 1,0 (преобладание патологических форм) указывает на сперматогенную функцию гонад секреторного типа.

Результаты и их обсуждение. Проведенные исследования отличались своей неоднородностью. При анализе спермограммы выявлены олиго-, астено-, тератозооспермия и их сочетания. Колебания показателей подвижности сперматозоидов (кат А+В) в группе пациентов с варикоцеле и бесплодием (n=10) были 10 – 71%, Мср 46,6%, пациенты с варикоцеле, не предъявляющие жалобы на бесплодие (n=15), имели колебания подвижности эякулята в пределах 10 —96%, Мср 66%, что было на порядок лучше. Андрологический статус пациентов клинически определялся как нормогонадотропный. Объем яичек соответствовал фенотипической норме. Концентрация карнитина спермоплазмы колебалась в пределах 0,231 – 0,732ммоль/л и составляла в среднем 0,42ммоль/л (n=23), что оказалось ниже нормальных значений (0,47ммоль/л), причем, в группе бесплодных больных средняя концентрация карнитина спермоплазмы составляла 0,388ммоль/л, что с большей вероятностью указывает на нарушение функции придатка яичка на фоне варикоцеле.

Колебания значений индекса фертильности в исследуемых группах имели большой разброс, средние величины показателя в группе бесплодных пациентов 0,817, а у фертильных – 0,519, что при норме в 1,0 и более, говорило о негативном воздействии варикозного расширения вен семенного канатика на репродуктивный потенциал эякулята.

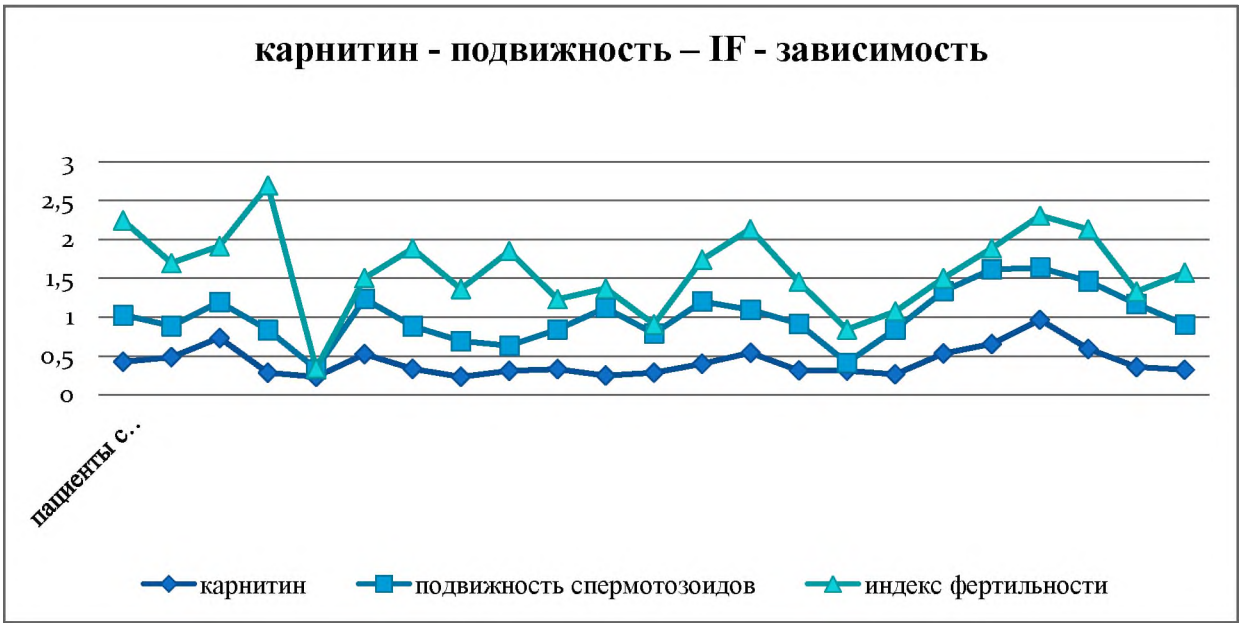


Рисунок 1.Сравнение динамики показателей карнитина, подвижности сперматозоидов, индекса фертильности

Выводы. Сравнивая полученные предварительные данные динамики концентрации карнитина, показатели подвижности сперматозоидов, индекса фертильности, можно наблюдать прямую корреляционную связь между данными значениями. Причем, снижение концентрации карнитина ниже нормальных значений может указывать на нарушение сперматогенной функции придатка яичка у пациентов с варикоцеле, более выраженное у больных с бесплодием.

Информация о концентрации до- и послеоперационного уровня L-карнитина спермоплазмы расширяет возможности динамического наблюдения пациентов с эпидидимо-тестикулярной дисфункцией при варикоцеле и диагностические возможности в определении показаний к хирургическому вмешательству.

Списоклитературы

1. Different surgical techniques and L-carnitine supplementation in an experimental varicocelemodel / S. Akdemir [et al.] // Andrologia. – 2014. – Vol. 46, №8. – P. 910-916.
2. Walczak-Jedrzejowska R. The role of oxidative stress and antioxidants in male fertility / R. Walczak-Jedrzejowska, J.K. Wolski, J. Slowikowska-Hilczer // Cent European J Urol. – 2013. –Vol. 66, №1. – P. 60-67.

3. Visioli F. Antioxidants to enhance fertility: role of eNOS and potential benefits / F. Visioli, T.M. Hagen // Pharmacol Res. – 2011. – Vol. 64, № 5. – P. 431-437.
4. Agarwal A. Carnitines and male infertility / A.Agarwal // Reproductive Bio-Medicine Online. – 2004. – Vol. 8, № 4. – P. 376-384.
5. Agarwal A. Varicocele and male infertility: current concepts and future perspectives / A. Agarwal, S.C.Esteves // Asian J Androl. – 2016. – Vol. 19, №1. – P. 682-694.

ПРОГНОЗИРУЕМЫЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНО ПОДТВЕРЖДЕННЫЕ ОСОБЕННОСТИ ГЛИКОПРОТЕИНОВ А И В СИСТЕМЫ КРОВИ АВ0В ФОРМИРОВАНИИ ВАРИАБЕЛЬНОСТИ МЕТАБОЛИЗМА

Ф.Н. Гильмиярова[1], В.М. Радомская[1], Е.А. Рыскина[2], Н.А. Колотьева[1], Г.М. Баишева[1], Ю.В. Первова[1]
ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Самара, кафедра фундаментальной и клинической биохимии с лабораторной диагностикой (1)
ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов», Минобрнауки России, г. Москва, кафедра биохимии им. академика Т.Т. Березова (2)

Резюме. В исследованиях insilico с использованием программы Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS), установлено, что пируват и лактат обладают множественными эффектами, обуславливающие многообразнейшее влияние на жизнедеятельность организма. В модельных экспериментах, на антиген-антительной системы АВ0 показано, что пируват избирательно модифицируя гликопротеины А и В, меняет интенсивность и скорость агглютинации эритроцитов. Аргументируется регуляторная роль низкомолекулярных метаболитов в управлении метаболизмом через белок-лигандные взаимодействия.

Ключевые слова: пируват, лактат, биологическая активность, белок-лигандные взаимодействия, АВ0 система, регуляторная роль метаболитов.

Актуальность. Успехи фундаментальных наук определили возможность выяснения наряду с каноническими новых функций высоко- и низкомолекулярных соединений в организме человека, что приближает нас к пониманию молекулярной логики живого. Определение биологической активности соединений, выяснение наличия или отсутствия взаимодействия между молекулами, изучение механизмов ферментативных реакций – эти области науки уже не могут обходиться без компьютерного моделирования. В литературе мало освещены вопросы понимания роли низкомолекулярных метаболитов, как лигандов для множества соединений.

Материалы и методы исследования. Для определения потенциально возможных биологических активностей пирувата и лактата нами ис-

пользовалась программа молекулярного моделирования Prediction of Activity Spectra for Substances (PASS) версии 1.917. Для изучения биологического действия пирувата на антиген-антительные взаимодействия была использована цельная кровь 312 практически здоровых лиц, из них мужчин – 100, женщин – 214, средний возраст обследуемых составил 26,83±1,46 лет. Распределение по групповой принадлежности крови было следующим: лиц с А(II) группой крови – 142, с В(III) группой крови – 108, с АВ(IV) группой крови – 62. Группу крови определяли методом прямой агглютинации с использованием ЭРИТРОТЕСТ – Цоликлонов Анти-А, Анти-В и на автоматическом анализаторе для проведения иммуногематологических исследований «Хемос СП II» фирмы BIO-Rad с использованием реактивов TransClone Anti-AB01 (A), TransClone Anti-AB02 (B), TransClone Anti-AB03 (AB) (BIO-Rad, США). Материалом для исследования служила цельная кровь, в качестве консерванта использовался раствор ЭДТА в концентрации 1 мг/мл. Перед постановкой реакции гемагглютинации эритроцитыА(II), В(III) и АВ(IV) групп крови (100 мкл) инкубировали с 20 мкл пирувата в конечной концентрации 2 мМ в течение 5 минут, далее проводили реакцию гемагглютинации с анти-А и анти-В моноклональными антителами.Степень агглютинации подсчитывали по W. Marsh (от 1 до 12). Результаты обрабатывали параметрическим методом, различия оценивали по критерию Стьюдента, считая их достоверными при $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Программа PASS позволяет по структурной формуле вещества оценивать вероятность наличия (Pa) или отсутствия (Pi) около 2800 видов биологической активности соединений [1].Полученные результаты прогнозируемого спектра биологической активности с помощью статистики многоуровневых окрестностей атомов – MNA-дескрипторов, показывают разнообразные и многопрофильные биологические эффекты лактата и пирувата.

Лактату присуще различные фармакологические эффекты и механизмы влияния на активность факторов, регулирующих обмен веществ. Предсказаны антацидный (Pa 0,930) иммуномодулирующий (Pa 0,788), антигипоксический (Pa 0,739), фибринолитический (Pa 0,692),диуретический (Pa 0,668), антинейротоксический (Pa 0,639), цитопротекторный (Pa 0,528) фармакологические эффекты.Обращает на себя внимание наличие способности у лактата влиять на процессы созревания клеток, стимулировать лейкопоэз (Pa 0,803) и эритропоэз (Pa 0,673), оказывать противовирусное действие в отношении арбовирусов (Pa 0,753), риновирусов (Pa 0,623), пикорнавирусов (Pa 0,558) и папилломавирусов (Pa 0,542). Противовирусная активность лактата предположительно связана с тем, что при закисление среды вирус теряет инфекционную активность, так как нарушается природа межмолекулярных взаимодействий внутри вирусной частицы и ее воспроизведение приостанавливается [2]. Интересными представляются данные о способности лактата проявлять мембранопротекторное (Pa 0,544) и вазопротекторное действие (Pa 0,681). В исследованиях Ярцева В.Н. и со-

автор. (2014) впервые установлен феномен парадоксального действия ацидоза на повышение нейрогенного тонуса кровеносных сосудов [3]. Иммуномодулирующий эффект (Pa 0,811) лактата, вероятно, реализуется через молекулярный механизм действия – ингибирование активности IgA-специфической металлоэндопептидазы (Pa 0,898) и IgA-специфической сериновой эндопептидазы (Pa 0,749) [4]. Предсказана способность лактата влиять на процессы тканевого дыхания, посредством угнетения активности убихинол-цитохром с-редуктазы (Pa 0,861) и НАДН цитохром с- редуктазы (Pa 0,862). В исследованиях Lu et.al. (2015) показано, чтолактат влияет на энергетический обмен клеток, регулируя активность митоген-активируемой протеинкиназы, АМФ-активируемой протеинкиназы и цитохром с-редуктазы [5].

Спрогнозировано влияние лактата на метаболизм углеводов, в частности угнетение активности L-лактатдегидрогеназы (Pa 0,892), пируватдегидрогеназы (Pa 0,892), глюкозооксидазы (Pa 0,889), транскетолазы (Pa 0,798), малатдегидрогеназы (Pa 0,78), инозитол-трифосфат-3-киназы (Pa 0,756), и пируваткиназы (Pa 0,633). Очевидно, модулирующее влияние лактата, как на специфические метаболические пути углеводов, так и на общиепути катаболизма, свойственные всем органическим биомолекулам.

Проведенное нами широкомасштабное тестирование с помощью программы PASS, позволило выявить разнообразные многочисленные биологические эффекты лактата. Можно предположить, что лактат выступает в качестве посредника, регулирующего функции макромолекул, реализующих различные физиологические эффекты.

Анализ данных прогноза биологических эффектов пирувата показал, что он с высокой степенью вероятности проявляет мембранотропный (Pa 0,929), антинеопластический (Pa 0,901), антиишемический (Pa 0,771), цитопротекторный (Pa 0,673), нейропротекторный (Pa 0,648), противовоспалительный (Pa 0,533) фармакологические эффекты.Показано влияние пировиноградной кислоты на процессы созревания клеток – стимулировать лейкопоэз (Pa 0,724), угнетать тромбоцитопоэз (Pa 0,519) и быть антагонистом апоптоза (Pa 0,655). Антиишемический эффект пирувата изучали Nguyen A.Q. et.al. (2014) и выявили несколько механизмом действия малой молекулы [6]. Они установили, что при моделируемой ишемии мозга пируват ингибирует активность каспазы-3 и активирует поли(АДФ-рибоза)-полимеразу, тем самым подавляет апоптоз и поддерживает сложные процессы репарации повреждений ДНК. Sharma P. et.al. (2010) исследовали нейропротекторные и противоспалительные свойства пирувата и показали, что они связаны со способностью пирувата усиливать процессы биологического окисления и синтеза АТФ, а также ингибировать синтез цитокинов [7,8].

Спрогнозированные биологические активности пирувата, позволили нам предположить возможность его влияния на один из ключевых и универсальных механизмов организма – белок-белковое взаимодействие. В качестве модели впервые выбраны антиген-антительные взаимодействия

системы АВ0, наиболее распространенные в организме человека и животных. С помощью реакции агглютинации, основными показателями которой, являются, степень и время начала агглютинации в секундах, мы оценили степень воздействия минорного метаболита пирувата. Нами установлено, что предварительная инкубация с пируватом эритроцитов А(II) и В(III) групп крови с антигенами А и В на поверхности мембраны, не влияла на степень агглютинации эритроцитов и составила 12 pt, как и в контрольных образцах. На присутствие пирувата реагируют как антиген А, так и антиген В АВ (IV) группы крови, что проявляется в снижение интенсивности агглютинации на 8,6% и 7,9% соответственно. Обращает на себя внимание тот факт, что под влиянием пирувата эритроциты АВ (IV) группы крови, на поверхности которых присутствуют сразу оба антигены, слабее вступали во взаимодействие с антителами, чем эритроциты А(II) группы крови только с антигеном А и эритроциты В (III) группы крови только с антигеном В на поверхности мембраны эритроцитов [9].

Как известно, факторами, определяющими характер белок-белкового взаимодействия являются величина водородного показателя среды (pH) и сдвиги уровня метаболитов – регуляторов. Колебания пирувата в жидких средах организма характерны для многих синдромов, а его кислотность и заряженность могут быть причиной, влияющей на структуру и функцию белков [10]. Скорость агглютинации, преимущественно зависит от величины отрицательного заряда поверхности эритроцитов, при его повышении, скорость агглютинации замедляется, так как увеличивается действие сил, способствующих отталкиванию эритроцитов друг от друга, и уменьшается вероятность их взаимодействия [11]. Несмотря на кажущуюся простоту антигенной системы АВО, включающей два антигена А и В и два антитела, огромную роль в ее функционирование играет конформационная специфичность белок-белковых взаимодействий и ближайшее окружение молекул с различными свойствами и функциями [12].

Выводы. Оценка результатов проведенного нами исследования, позволила прийти к заключению, что пируват, оказывает значительное влияние на процесс узнавания и взаимодействие антигена с антителом. Полученные данные свидетельствуют о возможности использования биогенной молекулы низкой молекулярной массы – пирувата в качестве молекулярного зонда для изучения антиген-антительных взаимодействий, вследствие возможности количественной оценки этого процесса.

Списоклитературы

1. Poroikov V. Computer-aided prediction of biological activity spectra. Application for finding and optimization of new leads / V. Poroikov, D. Filimonov // Rational Approaches to Drug Design / eds.: H.-D. Holtje, W. Sippl. – Barcelona: ProusScience, 2001. – P. 403-407.
2. Жирнов О.П. pH-зависимые перестройки в структуре вируса гриппа / О.П. Жирнов, А.А. Маныкин // Вопросы вирусологии. – 2014. – Т. 59,

№3. – С. 41-46.
3. Ярцев В.Н. Парадоксальное действие ацидоза на нейрогенный тонус кровеносных сосудов в условиях низкой температуры / В.Н. Ярцев // Биомед. радиоэлектрон. – 2014. – №4. – С. 84-85.
4. Клонирование и экспрессия генов IgA-специфичных протеаз Neisseria meningitides / В.Г. Хоменков [и др.] // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2007. – №1. – С. 30-35.
5. Lu J. Lactate's effect on human neuroblastoma cell bioenergetic fluxes. / J. Lu, J.M. Burns, R.H. Swerdlow // Biochem Pharmacol. – 2015. – pii: S0006-2952(15)00711-X.
6. Erythropoietin: powerful protection of ischemic and post-ischemic brain / A.Q. Nguyen [et al.] // Exp Biol Med (Maywood). – 2014. – Vol. 239, № 11. – P. 1461-1475.
7. Sharma P. Hypertonic sodium pyruvate solution is more effective than Ringer's ethyl pyruvate in the treatment of hemorrhagic shock / P. Sharma, P.D. Mongan // Shock. – 2010. – Vol. 33, № 5. – P. 532-540.
8. Gray L.R.Regulation of pyruvate metabolism and human disease / L.R. Gray, S.C. Tompkins, E.B. Taylor // Cell Mol. Life Science. – 2014. – Vol. 1, № 14. – P. 2577-2604.
9. Aoki-Yoshida A. Protective effect of pyruvate against UVB-induced damage in HaCaT human / A. Aoki-Yoshida, R. Aoki, Y. Takayama // J. Bioscience Bioengineering. – 2013. – Vol. 115, № 4. – P. 442-448.
10. The Effect of Pyruvate on Antibody Interaction with Group Specific Erythrocyte Antigens / F.N. Gylmiyarova [et al.] // Bio-chemistry (Moscow) Supplement Series B: Bio-medical Chemistry. – 2014. – Vol. 8. – P. 260-266.
11. Шамратова В.Г. Электро-кинетические свойства эритроцитов человека при психо-эмоциональном напряжении и патологии / В.Г. Шамратова, Р.М. Баширова, Е.М. Гареев. – Уфа: БГУ, 1995. – С. 8-39.
12. Отличительные признаки антигенов системы АВ0 – основа индивидуального ответа на различные стимулы / Ф.Н. Гильмиярова [и др.] // Клиническая лабораторная диагностика. – 2011. – № 10. – С. 3.

ИНФОРМИРОВАННОСТЬ СТУДЕНТОК 1 КУРСА ПЕДИАТРИЧЕСКОГО ФАКУЛЬТЕТА О ГРУДНОМ ВСКАРМЛИВАНИИ

Л.А. Каминская
ГБОУ ВПО УГМУ Минздрава России, г. Екатеринбург

Резюме. У студенток педиатрического факультета медицинского вуза на 1 курсе нет сформированного взгляда на необходимость грудного вскармливания, и его надо формировать в процессе обучения. В решении проблемы важная роль принадлежит знанию девушек о том, как происходило их собственное вскармливание на первом году жизни. Прослежена

обратная связь между длительностью грудного вскармливания и качеством здоровья респондентов.

Ключевые слова: студенты-медики, анкетирование, грудное вскармливание, качество здоровья.

Актуальность. Грудное вскармливание – важнейший фактор для формирования физического и нервно-психического здоровья ребенка. Минимальная продолжительность грудного вскармливания, рекомендованная ВОЗ для полноценного развития детей, равна шести месяцам. По данным статистики только 40,5% российских детей вскармливаются грудью в течение такого периода. Отмечено, что в целом каждый следующий месяц грудного вскармливания оказывал положительное влияние, но наиболее значимо было, кормили ли ребенка до 6 месяцев и более, или нет [1]. А.П. Ильницкий отмечает [2], что в Журнале национального института рака (США) опубликованы результаты исследования, показавшего уменьшение риска заболеть острым лейкозом у детей, вскармливавшихся грудью более 6 месяцев в сравнении с детьми, находившимися на искусственном вскармливании или получавшими молоко матери менее 6 месяцев. Через грудное вскармливание осуществляется метаболическое и иммунологическое программирование [3], которое сохраняет свое действие и в дальнейшие периоды развития ребенка.

Цель работы: провести анализ отношения студентов 1 курса педиатрического факультета к проблеме грудного вскармливания, выяснить их информированность о режиме их собственного вскармливания на первом году жизни, выявить у анкетируемых на основании данной ими субъективной оценки качества здоровья, имеются ли отличия в связи с различными сроками грудного вскармливания.

Материалы и методы исследования. Проведено анкетирование 128 студенток 1 курса педиатрического факультетав апреле месяце 2014 г. Предложена разработанная нами анкета из пяти вопросов с закрытым типом ответов.

Результаты и их обсуждение. Добровольное анкетирование проводилось на кафедре биохимии при изучении одного из раздела учебной дисциплины по выбору для студентов педиатрического факультета «Супрамолекулярная химия (Медицинская протеомика – биополимеры организма человека)». В дисциплинарном модуле обсуждаются физико-химические свойства грудного молока как биологической жидкости, особенности состава, строения, свойств биополимеров молока. Дальнейшее изучение важной в создании компетенций врача-педиатра темы «Биохимия лактации, регуляция, синтез компонентов грудного молока» предусмотрено в дисциплине «Биохимия», которая изучается также на нашей кафедрена 2 курсе. Уважаемый коллектив медиков, которые провелив 2010-2011 гг. ретроспективное многоцентровое исследование знаний будущих врачей о грудномвскармливании,такжеотмечает, что базовые знания по питанию младенцев закладываются, начиная с младших курсов [4].

Первый вопрос, на который отвечали респонденты, касался знания о том, как их вскармливали в раннем детстве: «Моя мама… а) кормила меня грудью» – утвердительно ответили 91% опрошенных, б) не кормила грудью – 7%,г) на смешанное вскармливание указали -2%.*Второй вопрос*был о продолжительности времени грудного вскармливания наших респондентов. В зависимости от содержания ответов были сформированы4 группы, которые послужили основой для обсуждения результатов дальнейшего анкетирования:1 группа – мама кормиладо 3 мес – указали 12% опрошенных, 2 группа – мама кормила до 6 мес. – 21%, 3 группа – мама кормила до 9 мес. – 25%, 4 группа –знают, что мама кормила., но не знают длительность кормления– 37%. Отметим, что более одной трети девушек, будущих детских врачей, оказались не информированными о своих первых месяцах жизни.Для решения проблемы, можно ли проследить в группе анкетированных студенток связь между временем их грудного вскармливания и состоянием здоровья в данный момент, было предложено отметить, имеются ли у респондентокнарушения здоровья: головные боли, частые простудные явления, заболевания печени, почек, желудочно-кишечного тракта, анемия, нарушениезрения. Выбраны респонденты, которые отметили наличие 3 и более нарушений.

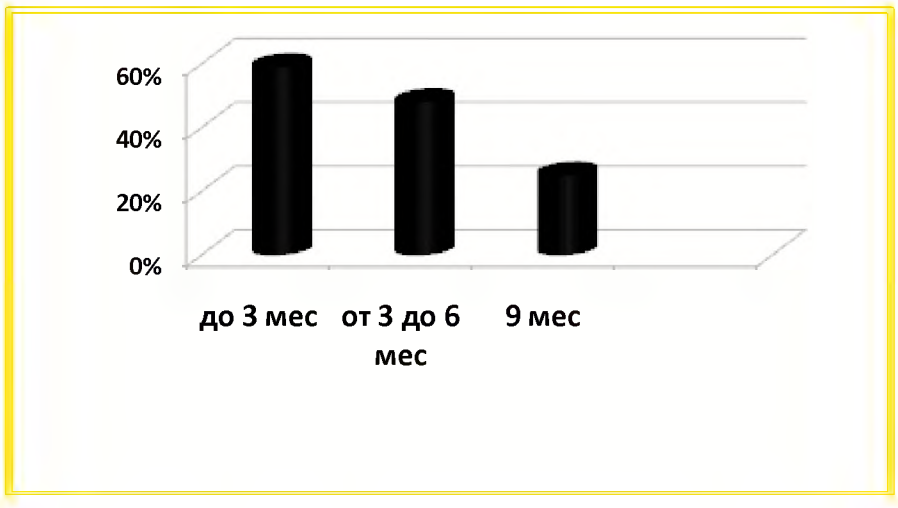


Рис.1. Обратная связь: длительность грудного вскармливания и состояние здоровья респондентов

Среди тех, кого мамы кормили грудью не более 3 месяцев, наличие трех симптомов отметили 59% опрошенных, если вскармливание продолжалось 3-6 месяцев, симптомы отметили 48%, если срок кормления достигал 6-9 месяцев, то три симптома наблюдались только у 25%. Конечно, наша выборка не может претендовать на полную достоверность, но тем не менее, получен интересный результат: доля, отметивших наличие 3 и более симптомов, изменяется обратно пропорционально длительности грудного вскармливания (рис. 1).

Третий вопрос: «Надо ли обязательно кормить ребенка грудью?» – ставил перед студентками пока отвлеченную для них проблему, но основанную на знаниях из их небольшого жизненного опыта и учебных знаний. Были предложены ответы: А) надо кормить обязательно долго; Б) надо кормить первые три месяца; В) грудное молоко можно заменить смесями; Г) не знаю.

Таблица 1

Результаты ответов в группах на вопрос анкеты «Надо ли обязательно кормить ребенка грудью?»

Варианты ответов		% ответов в группах			
		гр. 1	гр. 2	гр. 3	гр. 4
А	кормить обязательно долго	50	58	53	25
Б	надо кормить первые три месяца	50	37	43	66
В	грудное молоко можно заменить смесями	-	5	4	2
Г	не знаю	-			7

Ответы оценивали внутри каждой из вышеназванных 4 групп, результаты представлены в таблице 1.

От 50 до 57% респондентов 1 -3 групп ответили, что кормить надо долго. Среди студенток 4 группы, которые не знали о своем вскармливании на первом году жизни, только 25% отметили, что надо кормить долго, зато среди них подавляющее большинство в количестве 66% уверены, что достаточно 3 месяцев грудного кормления.

Четвертый вопрос касался мнения анкетируемых студенток:«Как Вы сами поступите с грудным вскармливанием, когда станете мамами?» Предложены ответы: Д) не буду кормить грудью ребенка; Е) буду стараться кормить долго; Ж) думаю, достаточно 2 -3 мес.; З) пока не знаю(табл. 2).

Таблица 2

Результаты ответов в группах на вопрос анкеты «Как Вы сами поступите с грудным вскармливанием, когда станете мамами?»

Варианты ответов		% ответов в группах			
		гр. 1	гр. 2	гр. 3	гр. 4
Д	не буду кормить грудью ребенка	-	-	4	-
Е	буду стараться кормить долго	59	48	64	34
Ж	думаю, достаточно 2 -3 мес	12	38	25	55
З	пока не знаю	-	14	7	21

Вновь ответы оценивали внутри каждой из вышеназванных 4 групп (рис.3). Ответ практически не прозвучал. «Буду стараться кормить долго»,- вновь ответили подавляющее большинство анкетированных. В группе 3 64 % студенток высказали мнение, что тоже будут долго кормить грудью своего ребенка (мамы респондентов этой группы кормили грудью до 9 мес.).В этой группе также наименьшее подтверждение мнения, что достаточно кормить 3 месяца–всего 25%. На ответы студенток в группах 1 -3 вполне может оказать действие обсуждение этой проблемы в семье, а ответы в группе 4 (достаточно многочисленной, 37% от общего числа респон-

дентов) можно считать наиболее несформированным. Напомним, что респонденты этой группы ничего не знают о своем вскармливании в грудничковый период.Именно в этой группе 55 % опрошенных считают, что для ребенка достаточным является грудное вскармливание до 3 мес. и 21% не имеют сложившегося мнения.

Выводы. Проведенное нами анкетирование показывает, что длительность грудного вскармливания сохраняет влияние на качество здоровья даже в возрасте 18-19 лет. У студенток медицинского вуза на 1 курсе в этом возрасте нет сформированного взгляда на необходимость грудного вскармливания, и его надо формировать в процессе обучения. В решении проблемы важная роль принадлежит знанию девушек о том, как происходило их собственное вскармливание на первом году жизни.Более одной трети девушек, будущих детских врачей, оказались не информированными о способе их вскармливания в грудничковый период.

Список литературы

1. Долгосрочные последствия грудного вскармливания для психического здоровья детей и подростков / Wendy H. Oddy [et al.]. – URL: http://www.jpeds.com/article/S0022-3476%2809%2901036-1/abstract.
2. Ильницкий А.П. Грудное вскармливание – не меньше 6 месяцев [Электронный ресурс] / А.П. Ильницкий**. –** Режим доступа: http://www.vmpr.ru /index.php?option=com_content&view=article&id=208&Itemid=500A**.**
3. Значение грудного вскармливания в профилактике отдаленных нарушений метаболизма : обзор литературы / И.А. Беляева [и др.] // Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12, № 1. – С. 52-58.
4. Грудное вскармливание: результаты ретроспективного многоцентрового исследования уровня знаний будущих врачей / Я.Я. Яковлев [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2011. – Т. 10, № 5. – С. 10-16.

БИОХИМИЧЕСКИЕ ПАРАМЕТРЫ РОТОВОЙ ЖИДКОСТИ В ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЛЕЧЕНИЯ ГЕРПЕТИЧЕСКОГО СТОМАТИТА

С.Э. Реук, Н.А. Терехина

ГБОУ ВПО Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России, г. Пермь, кафедра биохимии

Резюме. В ротовой жидкости и плазме крови 28 детей больных острым герпетическим стоматитом в динамике заболевания спектрофотометрическиопределяли содержание кальция, магния, меди, цинка. Контролем служили смешанная слюна и плазма крови 45 здоровых детей.Выявлены возрастные особенности содержания минеральных веществ в ротовой жидкости здоровых детей. Разработан неинвазивный, быстрый способ объективной оценки эффективности лечения детей при остром герпетическом стоматите по биохимическому анализу ротовой жидкости.

Ключевые слова: минеральные вещества, герпетический стоматит, ротовая жидкость.

Актуальность. Более 80% всех заболеваний слизистой оболочки полости рта у детей приходится наострый герпетический стоматит [1-4]. Несмотря на применение в детской стоматологии новых противовирусных препаратов, у каждого 7-10-го ребенка острый герпетический стоматит рано переходит в хронический рецидивирующий герпетический стоматитс преобладанием тяжелой формы заболевания[1]. Для диагностики и прогнозирования рецидива герпетической инфекции используется биохимический анализ слезы и слюны[5,6,7]. На состав биологических жидкостей влияет метод сбора[8]. Концентрация большинства электролитов и микроэлементов в смешанной слюне сопоставима с их содержанием в крови. Соотношение метаболитов ротовая жидкость (РЖ)/сыворотка крови для многих показателей является стабильной константой[9]. Исследование слезы и РЖ вместо традиционного анализа крови имеет первостепенное значение в виду возможности отбора большого количества биоматериала, многократного нестрессогенного получения проб, что особенно актуально в педиатрической практике. Поэтому актуальной задачей является разработка способа, позволяющего оценить эффективность лечения острого герпетического стоматита, по анализу смешанной слюны у детей.

Цель – разработать способ оценки эффективности лечения острого герпетического стоматита по биохимическому анализу ротовой жидкости.

Материалы и методы. РЖ собирали по методу Ю.А. Петровича [2]. В РЖ и плазме крови28 детей больных острым герпетическим стоматитом в динамике заболевания определяли содержаниекальция по [10], магния по [11], меди по [12], цинка по[13].Контролем служили смешанная слюна и плазма крови45 здоровых детей. Исследуемые группы были сопоставимы по возрастным и гендерным признакам.

Результаты и их обсуждение. Уровень меди в РЖ и плазме крови здоровых детей оказался практически одинаковым. Содержание кальция и магния в плазме крови почти на порядок выше, чем в РЖ здоровых детей. Содержание в смешанной слюне здоровых детей цинка в 3-4 раза меньше, чем в плазме крови. С возрастом содержание всех изученных минеральных веществ в РЖ увеличивается (рис. 1). Это, вероятно, обусловлено морфологической незрелостью гистогематических барьеров, тонким эпителиальным покровом и низкой дифференцировкой структур соединительной ткани слизистой оболочки полости рта у детей младшего возраста.

Избирательная способность вируса простого герпеса к первичной инвазии в клетки эпидермиса и слизистых оболочек определяет высокую вирулентность герпетической инфекции. В ходе эволюции у вируса простого герпеса выработалась и закрепилась особая стратегия внутриклеточ ного инфицирования: вирус активирует ферменты, стимулирует синтез нуклеиновых кислот, ускоряет распад генетических структур клетки. Полученный генетический материал вирус использует для построения своей

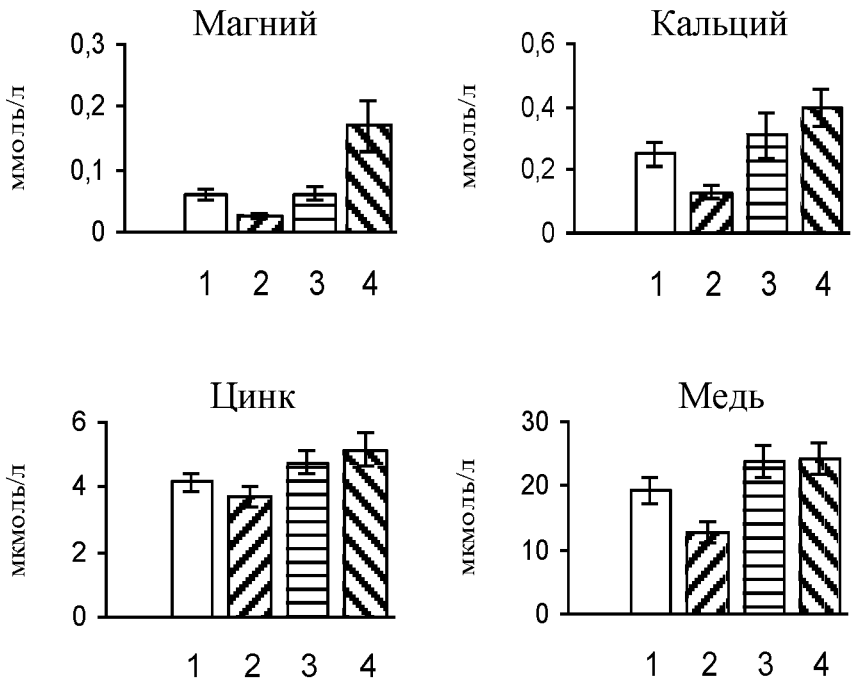


Рис. 1. Содержание минеральных веществ
в ротовой жидкости здоровых детей:
1 – здоровые дети, 2 – дети до 3-х лет, 3 – дети 5 – 7 лет, 4 – подростки

ДНК, вирусспецифических белков и одновременно сдерживает синтез тех клеточных ферментов, которые препятствуют этому процессу [14].При остром герпетическом стоматитевРЖ детей уровень магния увеличивается почти на порядок, содержание цинка и меди достоверно повышается в 2 раза, а кальция – в 5 раз по сравнению с контролем ($p<0,001$) (рис. 2). Выявлены достоверные изменения содержания изученных элементов в РЖ при остром герпетическом стоматите у детей в зависимости от глубины поражения слизистой оболочки полости рта.Наибольшее увеличение содержания цинка, кальция, магниянаблюдается при тяжелом и средней степени тяжести герпетическом стоматите ($p<0,05$) (рис. 2). Содержание меди в РЖ и плазме крови детей при легкой и средней степени тяжести герпетического поражения слизистой рта увеличивается почти в 2-3 раза, а при тяжелом герпетическом стоматите достоверно снижается в 1,5-2 раза по сравнению с контролем ($p<0,05$) (рис. 2).Ранее было показано, что в РЖ, слезе и плазме крови детей при герпетической инфекции содержание белка – переносчика меди – церулоплазмина достоверно увеличивается более чем в 2 – 3 раза по сравнению с контролем [2,3,15].

В плазме крови детей при остром герпетическом стоматите содержание кальция и магния не изменяется, а концентрация цинка снижается в 1,5 раза по сравнению с контролем.

При выписке детей после среднего и тяжелого острого герпетического стоматита содержание изученных элементов в РЖ остаётся повышенным у 40-70% пациентов. Отсутствие нормализации содержания изученных минеральных веществ в РЖ детей свидетельствует о незавершенности

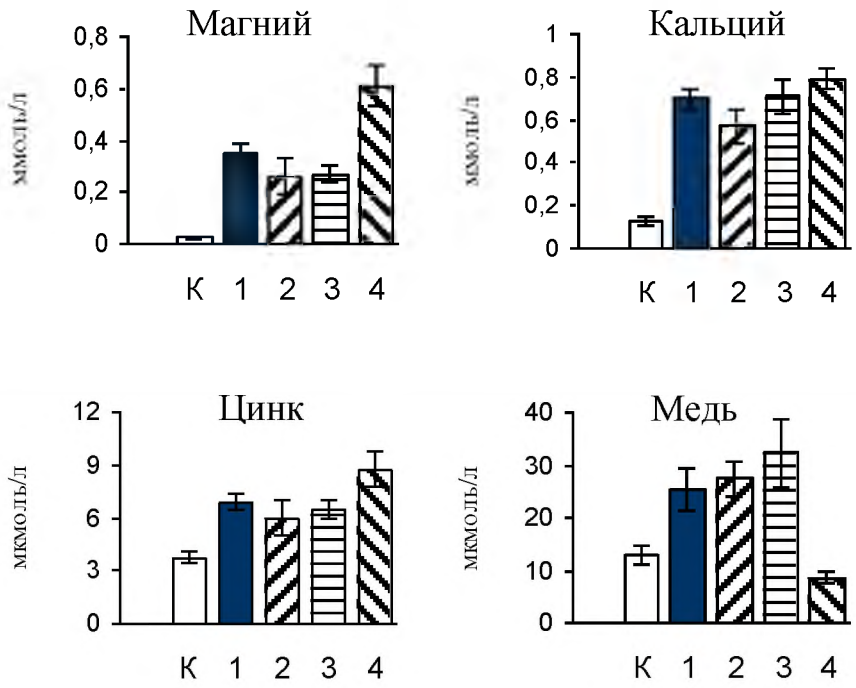


Рис. 2. Содержание минеральных веществ в ротовой жидкости детей при остром герпетическом стоматите:
К – контроль, 1 – острый герпетический стоматит, 2 – легкая степень герпетического стоматита, 3 –герпетический стоматит средней степени тяжести, 4 – тяжелый герпетический стоматит

воспалительного процесса при остром герпетическом стоматите и необходимости продолжения лечения.

Для оценки эффективности лечения острого герпетического стоматита у детей предложен коэффициент соотношения содержания Cu/Ca в РЖ [16]. Значение этого показателя в РЖ здоровых детей составляет 94 – 104. При герпетическом стоматите средней степени тяжести коэффициент Cu/Ca меньше 30, а при тяжелом герпетическом поражении слизистой полости рта – меньше 10. О неэффективности терапии герпетического стоматита свидетельствует коэффициент Cu/Ca в РЖ равный или ниже 45.

Выводы. Таким образом, установлены возрастные особенности содержания минеральных веществ в ротовой жидкости здоровых детей. Разработан неинвазивный,простой, атравматичный, быстрый способ оценки эффективности лечения детей при остром герпетическом стоматите по биохимическому анализу ротовой жидкости.

Список литературы

1. Дроботько Л.Н. Острый герпетический стоматит у детей / Л.Н. Дроботько, С.Ю. Страхова // Российская стоматология. – 2009. – № 1. – С. 26-29.
2. Прооксиданты, мексидол и другие антиоксиданты при герпетическом стоматите, гингивостоматите и хроническом генерализованном пародонтите / Ю.А. Петрович [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2010. – № 3. – С. 29-33.

3. Белки острой фазы воспаления в слюне детей при герпетическом стоматите и гингивостоматите/ Н.А. Терехина [и др.] // Российский стоматологический журнал. – 2010. – №4. – С. 17-19.
4. Терехина Н.А. Влияние герпетической инфекции на минеральный состав биологических жидкостей / Н.А. Терехина, С.Э. Реук, Л.И. Соловьева // Современная лаборатория. – 2012. – № 3. – С. 16-18.
5. Терехина Н.А. Прогнозирование рецидивов герпетического кератита с помощью определения активности дегидрогеназ слезы / Н.А. Терехина, Ю.А. Петрович, Н.Г. Гольдфельд // Вестник офтальмологии. – 1988. – № 6. – С. 42-45.
6. Терехина Н.А. Использование ферментного анализа слезной жидкости для прогнозирования рецидива герпетического кератита у детей / Н.А. Терехина, С.Э. Реук, Ю.А. Петрович // Вестник офтальмологии. – 2007. – № 4. – С. 23-24.
7. Malamud D. Saliva as a Diagnostic Fluid / D.Malamud, I.R. Rodriguez-Chavez // Dent. Clin. North. Am. Jan. – 2011. – Vol. 55, № 1. – P. 159-178.
8. Терехина Н.А. Влияние метода сбора слезной жидкости на ее состав/ Н.А. Терехина, Ю.А. Петрович, Р.А. Батуева // Клиническая лабораторная диагностика. – 1989. – № 6. – С. 27.
9. Петрович Ю.А. Гематосаливарный барьер (обзор литературы) / Ю.А. Петрович, Р.П. Подорожная, С.М. Киченко // Российский стоматологический журнал. – 2004. – № 4. – С. 39-45.
10. Barnett R.N. Performance of 'kits' used for clinical chemical analysis of calcium in serum / R.N.Barnett, S.B. Skodon, M.H. Goldberg // Am. J. Clin. Path. – 1973. – Vol. 59. – P. 836-845.
11. Mann C.K. Spectrophotometric determination of magnesium with sodium 1-azo-2-hydroxy-3-(2,4-dimethylcarboxanilido)-naphthalene-1-(2-hydroxybenzene-5-sulfonate) / C.K. Mann, J.H. Yoe // Anal Chem. – 1956. – Vol. 28. – P. 202-205.
12. Landers J.W. Determination of serum copper and iron in a single small sample / J.W. Landers, B. Zak // Am. J. Clin. Path. – 1958. – Vol. 29, № 6. – P. 590-592.
13. Homsher R. Spectrophotometric investigation of sensitive complexing agents for the determination of zinc in serum / R. Homsher, B. Zak // Clin. Chem. – 1985. – Vol. 31, № 8. – P. 1310-1313.
14. Петрович Ю.А. Ферментная стратегия вируса простого герпеса / Ю.А. Петрович, Н.А. Терехина // Успехи современной биологии. – 1990. – Т. 51, № 1. – С. 77-89.
15. Терехина Н.А. Сравнительный анализ содержания церулоплазмина в биологических жидкостях при герпетической инфекции / Н.А. Терехина, С.Э. Реук, Т.И. Атаманова // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94, № 5. – С. 752-754.
16. Патент 2566070RU. Способ оценки эффективности лечения острого герпетического стоматита у детей / С.Э. Реук, Н.А. Терехина, Т.И. Атаманова // Бюллетень. – 2015. – № 29.

РАЗДЕЛ 3
БИОХИМИЧЕСКИЕ МАРКЕРЫ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИИ В ДИАГНОСТИКЕ ЗАБОЛЕВАНИЙ И ОЦЕНКЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТЕРАПИИ

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ МОДУЛЯЦИИ АКТИВНОСТИ АЛЬДЕГИДДЕГИДРОГЕНАЗЫ В МЫШЦЕ КРЫС

Амжад Хамдаллах
Харьковский национальный университет имени В.Н. Каразина, г. Харьков

Резюме. Целью работы явилось изучение особенностей модуляции альдегиддегидрогеназной активности в постмитохондриальной фракции скелетной мышцы крыс разного возраста под влиянием различных факторов, возникающих в клетках при стрессе. Исследования показали, что NAD^+-зависимая АлДГ из постмитохондриальной фракции бедренной мышцы взрослых половозрелых и старых животных проявляет большую чувствительность к понижению pH среды, чем энзим из мышцы крыс пубертатного возраста.

Ключевые слова: альдегиддегидрогеназа, оксидативный стресс, скелетная мышца.

Актуальность. В процессе онтогенеза происходит изменение устойчивости организма к стрессу, что лежит в основе формирования возрастной патологии [1]. Одной из причин этого может быть модуляция чувствительности тканей к стрессорной стимуляции свободнорадикальных процессов [2], которая связана, помимо прочего, с изменением состояния процессов катаболизма цитотоксических карбонильных продуктов обмена [3]. Важную роль в утилизации эндогенных альдегидов в тканях играют альдегиддегидрогеназы [4, 5].

В условиях стресса в тканях возникают различные факторы, которые оказывают влияние на функционирование этих ферментов. К ним относятся тканевая гипоксия и метаболический ацидоз, повышение концентрации кальция в цитоплазме и понижение уровня энергетического обеспечения клеток, накопление продуктов свободнорадикального окисления и др.[6-9]. Все они могут оказывать существенное воздействие на каталитические свойства различных представителей семейства альдегиддегидрогеназ. Учитывая это, можно предположить, одной из причин формирования возрастных особенностей в чувствительности мышцы к действию негативных факторов стресса и возникновению саркопении может быть неодинаковая лабильность альдегиддегидрогеназ скелетных мышц к действию регуляторных факторовна разных этапах онтогенеза. В этой связи, целью работы явилось изучение особенностей модуляции альдегиддегидрогеназной активно-

сти в постмитохондриальной фракции скелетной мышцы крыс разного возрастаразличными факторами, возникающими в клетках при стрессе.

Материалы и методы. В работе использовали 30 крыс самцов линии Вистар 1,5-, 12- и 24-месячного возраста. В постмитохондриальной фракции бедренной мышцы, которую выделяли при помощи дифференциального центрифугирования, определяли активность НАД-зависимой альдегиддегидрогеназы (АлДГ) [10]. С этой целью использовали реакционную смесь, содержащую: (конечные концентрации): 0,05 М пирофосфатного буфера (pH 9,0), 0,005 М ротенона, 0,01 М пиразола, 0,0001 М окисленного НАД и 0,01 М глутарового альдегида. В специальных экспериментах в качестве субстрата использовали 0,01 М пропионового альдегида, а также проводили измерение активности при понижении pH реакционной смеси с 9,0 до 8,5.Содержание белка определяли по Лоури.

Полученные результаты подвергали статистической обработке с использованием пакетов прикладных программ Excel и «SPSS Statistics 17,0», с помощью непараметрического метода Wilcoxon-Mann-Witney. Различия между данными считали достоверными при $P<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Исследования показали, что у крыс исследованных возрастных групп не выявляется существенных различий в уровне базальной активности НАД-зависимой альдегиддегидрогеназы в постмитохондриальной фракции бедренной мышцы. Однако этот факт, сам по себе,еще не дает оснований для заключения о том, что скорость окислительных превращений альдегидов в скелетноймышце крыс разных возрастных групп в условиях усиления свободно-радикальных процессов тоже будет одинаковой.

Известно, что в тканях внутренних органов существует целое семейство ферментов, катализирующих окисление карбонильных продуктов свободнорадикального окисления [4,5]. Все они обладают различными каталитическими, кинетическими и регуляторными свойствами. Поэтому даже при равнойсуммарной базальной величине их активности в условиях изменения химического состава внутренней среды клеток, скорость утилизации эндогенных альдегидов может существенно модулироваться. Особое значение при этом приобретает возможность модуляции активности ферментов при стимуляции свободнорадикальных процессов (при оксидативном стрессе), т.е. в условиях, при которых в клетках начинает генерироваться большое количество разных цитотоксических карбонильных продуктов метаболизма. Учитывая это, далее было проведено исследование активности НАД-зависимой альдегиддегидрогеназы в постмитохондриальной фракции бедренной мышцы при использовании разных альдегидов, как субстратов окисления, а также при понижении pH среды инкубации.

Результаты проведенных исследований представлены на рис.1. Из него следует, что НАД-зависимая АлДГ проявляет примерно одинаковую активность при использовании разных альдегидов (глутарового и пропионового) в качестве субстрата ($P>0,05$).Однако при этом в постмитохондриальной фрак-

ции бедренной мышцы крыс 1,5-месячного возраста выявляется выраженная тенденция к понижению альдегиддегидрогеназной активности при использовании пропионового альдегида в качестве субстрата окисления, что не характерно для крыс других возрастных групп животных.

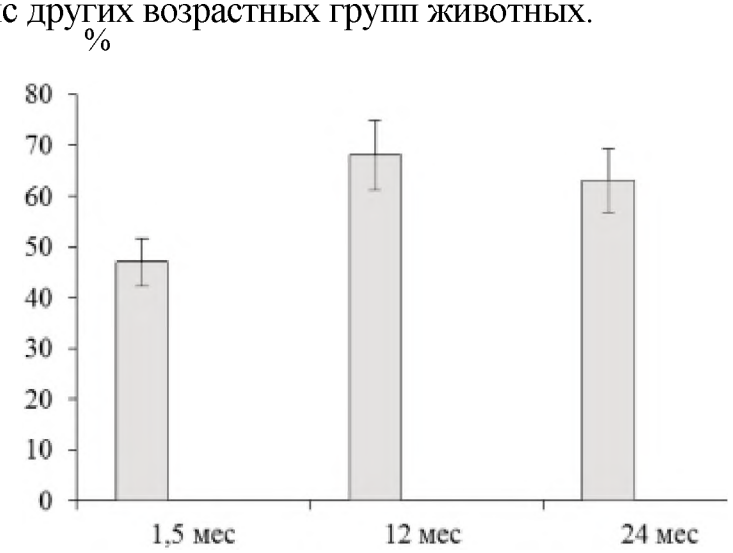


Рисунок 1. Изменение активности НАД-зависимой АлДГ из постмитохондриальной фракции бедренной мышцы при использовании эквимолярных концентраций глутарового и пропионового у интактных крыс разного возраста (по результатам исследований на 6 животных в каждой возрастной группе). Активность фермента при использовании глутарового альдегида в качестве субстрата принята за 100 %

При понижении pH реакционной смеси с 9,0 до 8,5 у крыс 1,5-месячного возраста не происходит существенного изменения альдегиддегидрогеназной активности постмитохондриальной фракции бедренной мышцы (рис. 2). В тоже время у 12- и 24-месячных животных при этом регистрируется ее двух кратное понижение, по сравнению с контрольным уровнем этого показателя.

Представленные данные указывают на то, что,несмотря на поддержание стабильной величины суммарной базальной альдегиддегидрогеназной активности, в постмитохондриальной фракции крыс в процессе онтогенеза происходит изменение свойств НАД-зависимой альдегиддегидрогеназы. У животных пубертатного возраста (1,5-месяцев) выявляются изменения в чувствительности альдегиддегидрогеназной реакции к субстрату и понижению pH среды, по сравнению с таковыми у взрослых (12 месяцев) и старых (24 месяца) животных.

Одной из причин появления обнаруженного феномена может быть изменение изоферментного спектра альдегиддегидрогеназ в постмитохондриальной фракции мышечной ткани в процессе онтогенеза. Наиболее характерно его проявление на этапе полового созревания животных (1,5-месячный возраст). Его причиной может быть индукция определенных изоферментов НАД-зависимых альдегиддегидрогеназ под влиянием поло-

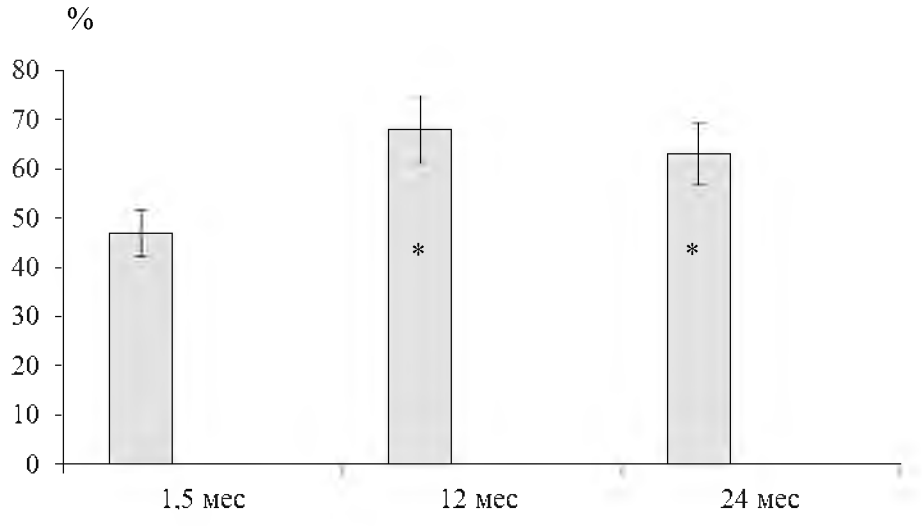


Рисунок 2. Влияние понижения pH реакционной смеси на активность НАДН-зависимой АлДГпостмитохондриальной фракции бедренной мышцы интактных крыс разного возраста (по результатам исследований на 6 животных в каждой возрастной группе). Выражено в % от исходного уровня. Исходная величина активности фермента принята за 100 %.
Примечание: * – P< 0,05 к исходному уровню

вых гормонов, секреция которых резко возрастает на данном этапе онтогенеза [11]. Можно предположить, что в изоферментном спектре у крыс 1,5-месячного возраста увеличивается доля ферментов, имеющих иную величину pH-оптимума и проявляющих большую чувствительность к понижению pH среды.

Появление указанных возрастных особенностей со стороны свойств альдегиддегидрогеназ формирует метаболические предпосылки для модуляции скорости окисления цитотоксических карбонильных продуктов метаболизма в миоплазме мышечных клеток в условиях усиления их образования при оксидативном стрессе. Все это может лежать в основе изменении возрастной устойчивости скелетных мышц к стрессорному повреждению. Однако высказанное предположение требует экспериментальной проверки, связанной с выяснением возрастных особенностей состоянияизоферментного спектра альдегиддегидрогеназ мышц.

Выводы. Исследования показали, что NAD^+-зависимая АлДГ из постмитохондриальной фракции бедренной мышцы взрослых половозрелых и старых животных проявляет большую чувствительность к понижению pH среды, чем энзим из мышцы крыс пубертатного возраста.

Список литературы

1. Фролькис В.В. Старение и экспериментальная возрастная патология сердечно-сосудистой системы / В.В. Фролькис, В.В. Безруков, О.К. Кульчицкий. – К.: НауковаДумка, 1994. – 320 с.

2. Volkova Y.V. Activity of the first line antioxidant defense enzymes in the liver of pubertal rats during stress / Y.V. Volkova, L.L. Sukhova, V.V. Davydov // Biochemistry (Moscow). Supplement Series B: Biomedical Chemistry. – 2011. – Vol. 5, № 4. – P. 389-391.
3. Davydov V.V. Possible role of aldehydes scavenger enzymes during aging / V.V. Davydov, N.M. Dobaeva, A.I. Bozhkov // Exp.Gerontol. – 2004. – Vol. 39. – P. 11-16.
4. Давыдов В.В. Физиологическая и патофизиологическая роль эндогенных хальдегидов / В.В. Давыдов, А.И. Божков, О.К. Кульчицкий. – Saarbrucken: Palmarium Academic Publishing, 2012. – 240 с.
5. Aldehyde dehydrogenases and cell proliferation / G. Muzio [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2012. – Vol. 52, № 3. – P. 735-746.
6. Aldehyde dehydrogenases in cellular responses to oxidative/electrophilic stress / S. Singh [et al.] // Free Radic. Biol. Med. – 2013. – Vol. 56. – P. 89-101.
7. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З. Меерсон. – М.: Медицина, 1984. – 270 с.
8. Davydov V.V. Age-dependent differences in the stimulation of lipid peroxidation in the heart of rats during immobilization stress / V.V. Davydov, V.N. Shvets // Exp. Gerontol. – 2003. – Vol. 38, № 6. – P. 693-698.
9. Davydov V.V. Lipid peroxidation in the heart of adult and old rats during immobilization stress / V.V. Davydov, V.N. Shvets // Exp. Gerontol. – 2001. – Vol. 36. – P. 1155-1160.
10. Пирожков С.В. Роль альдегиддегидрогеназ в метаболизмемалонового диальдегида в печеникрыс / С.В. Пирожков, Л.Ф. Панченко // Биохимия. – 1988. – Т. 53, № 9. – С. 1443-1448.
11. Davydov V.V. Interrelation shipbetween test oster one level and aldo-ket or eductase activity in the blood of different agesrats / V.V. Davydov, E.R. Grabovetskaya // Advances in Biological Chemistry. – 2014. – Vol. 2, № 3. – P. 40-44.

ЭНДОТЕЛИЙЗАВИСИМАЯ ВАЗОДИЛАТАЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ И НЕЙРОИШЕМИЧЕСКОЙ ФОРМАМИ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ В КОЖЕ КИСТИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МЕТОДАМИ КЛЕТОЧНОЙ И ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

А.А. Коцлова [1,2]

ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ имени академика И.П. Павлова»,
кафедра патофизиологии с курсом клинической патофизиологии (1)
СПб ГБУЗ «Городская больница №14», отделение лечения хирургических осложнений сахарного диабета, г. Санкт-Петербург (2)

Резюме. Исследование эндотелизависимой вазодилатации проводилось дистально в коже тыльной поверхности кисти с использованием лазерной доплеровской флуометрии и фармакологической пробы с 0,3% раствором ацетилхолина. Обследовано 128 пациентов с нейропатической и нейроише-

мической формами синдрома диабетической стопы. Пациенты были распределены на 5 групп методом случайных чисел. В каждой группе определялись подгруппы по форме СДС: нейроишемической (НИ) и нейропатической (НП). Группа 1 (сравнения) – производилось стандартное лечение СДС. Группа 2 (ДЭ) – лечение диабетических язв с использованием культуры фибробластов человека (дермальный эквивалент). Группа 3 (МФКАКМ) – с использованием моноклональной фракции клеток аутологичного костного мозга. Группа 4 (НВ) с использованием препарата «Неоваскулген» генно-инженерный препарат с использованием плазмиды VEGF. Группа 5 (СОС) – с использованием эндоваскулярных вмешательств. Мы предполагаем, что взаимное комбинирование клеточных методов (ДЭ+МФКАКМ) и генных технологий в лечении синдрома диабетической стопы усиливает процесс восстановления микроциркуляторного кровообращения в дистальных отделах при различных формах синдрома диабетической стопы.

Ключевые слова: синдром диабетической стопы, клеточная терапия, генная терапия.

Актуальность. Вторая половина XX века является «историческим» периодом в развитии синдрома диабетической стопы и методом лечения сахарного диабета 2 типа, так, как и осложнений было длительное голодание. В 2014 году уровень заболеваемости диабетом составила 9% среди взрослого населения 18 лет и старше [5]. В мире происходит глобальная эпидемия сахарного диабета (СД). Диабетическая стопа как самостоятельная нозологическая единица не определена в МКБ 10, которая используется в настоящее время. Но еще в 1987г. на женевской международной конференции по сахарному диабету она была выделена как самостоятельное осложнение наряду с диабетической нефро-, офтальмо-, нейро- и ангиопатией. Синдром диабетической стопы (СДС) – патологическое состояние при сахарном диабете, возникающие на фоне поражения периферической нервной системы, артериального и микроциркуляторного русла с вовлечением в патологический процесс мягких тканей и костно-суставного аппарат стопы и проявляющееся деструктивно-дегенеративными и гнойно-некротическими процессами[4]. Язвенно-некротические поражения у пациентов с СД связаны с патологическим изменениями периферической нервной системы, сосудистой системы (артериального и микроциркуляторного русла) [1,2]. А также с развитием инфекционного процесса и снижением реактивности организма [6]. Оценить состояние регионарного кровообращения у пациентов с нейропатической (НП) и нейроишемической (НИ) формами СДС при лечении методами клеточной терапии: дермальным эквивалентом (ДЭ) и моноклональной фракцией клеток аутологичного костного мозга (МФКАКМ); генным препаратом «Неоваскулген» (НВ).

Материалы и методы. Обследовали 128 пациентов. По данным клинического и физикального обследования, подтверждено наличие СДС. Больные распределены на 5 групп методом случайных чисел. В каждой группе определялись подгруппы по форме СДС: нейроишемической (НИ) и

нейропатической (НП). Группа 1 (сравнения) – производилось стандартное лечение СДС: НИ – 20 чел., НП – 20 чел. Группа 2 (ДЭ) – лечение диабетических язв с использованием культуры фибробластов человека (дермальный эквивалент): НИ – 20 чел., НП – 5 чел. Группа 3 (МФКАКМ) – с использованием моноклональная фракция клеток аутологичного костного мозга: НИ – 15 чел., НП – 5 чел. Группа 4 (НВ) с использованием препарата «Неоваскулген» генно-инжереный препарат с использованием плазмиды VEGF: НИ – 8 чел., НП – 5 чел. Группа 5 (СОС) – с использованием эндоваскулярных вмешательств: НИ – 14 чел., НП – 5 чел. Половой и возрастной состав пациентов в каждой группе был практически идентичен. По Техасской классификации степень поражения СДС – DII-DIII, а по Вагнеру 2-4 ст. Оценка язв производились до лечения (2-3 день госпитализации), через 2 недели и через 3 месяца после применения лечебных манипуляций. Исследование эндотелийзависимой вазодилатации проводилось при помощи лазерной доплеровской флуометрии и фармакологической пробы с 0,3% раствором ацетилхолина. Оценка эндотелиальной дисфункции проводилась в коже тыльной поверхности кисти. Пациентам по показаниям проводилась ангиохирургическая коррекция [3]. Статистическая обработка данных выполнялась с использованием определения распределения на «нормальность» (тест Колмогорова-Смирнова). Если данные, не соответствовали нормальному распределению, они логарифмировались. Статистическая достоверность определялась для четырех независимых выборок при помощи непараметрического критерия Краскелла-Уоллиса. Сравнение между тремя точками исследования (до, 2 нед., 3 мес.) для каждой группы и между подгруппами (НИ и НП) проводилось при помощи непараметрического критерия Вилкоксона. Достоверными считались значения $M \pm \sigma$, при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Тканевая перфузия при проведении фармакологической пробы с 0,3% раствором ацетилхолина в коже тыльной поверхности кисти. Ионофорез АХ сопровождался увеличением кровотока у испытуемых контрольной группы, в коже тыльной поверхности кисти увеличение тканевой перфузии составило 122,3%, на 3-й минуте после начала исследования. Максимальная амплитуда реакции для НИ наблюдалась на 2-й минуте и составила 33,9%, а для НП – на 3-й минуте была 86,2%. Наблюдалось достоверное увеличение тканевой перфузии у пациентов в группе НВ при НИ форме СДС 135,3±19,2 %, при НП 125,9±7,2 % по сравнению со стандартным лечением НИ 33,9±1,3 % и НП 86±3,5 %. В группе ДЭ НИ 127,0±8,3 %, ДЭ НП – 98±5,7 %. А при использовании МФКАКМ НИ – 212±36,2 %, НП – 174±24,7 % ($p \leq 0,05$) наблюдалось наиболее выраженное увеличение тканевой по сравнению со всеми исследовательскими группами. Однако, в группе СОС НИ 209±22,3 %, СОС НП 157±24,5 % ($p \leq 0,05$), практически идентично МФКАКМ.

Выводы. Использование МФКАКМ в дополнение к стандартному лечению синдрома диабетической стопы как нейропатической, так и нейроишемической формы, достоверно улучшает состояние регионарного

кровообращения и микроциркуляции. Предполагаем, что взаимное комбинирование клеточных методов (ДЭ+МФКАКМ) и генных технологий с эндоваскулярным вмешательством в лечении синдрома диабетической стопы усиливает процесс восстановления микроциркуляторного русла дистально при различных формах синдрома диабетической стопы.

Список литературы

1. Лобов Г.И. Микроциркуляторный кровоток в тканях кисти у пациентов с терминальной почечной недостаточностью, получающих лечение гемодиализом: зависимость от шунтового кровотока по артериовенозной фистуле / Г.И. Лобов, А.С. Гурков // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №6. – С. 988.
2. Меншутина М.А. Нарушение вазодилататорных реакций как проявление дисфункции эндотелия / М.А. Меншутина // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2004. – №11(3). – С. 14-18.
3. Лечебно-диагностический алгоритм при синдроме диабетической стопы: стандарты и новые технологии / В.Н. Оболенский [и др.] // РМЖ. Хирургия. – 2012. – №12. – С. 585-598.
4. Синдром диабетической стопы в клинической практике / В.Н. Оболенский [и др.] // РМЖ. Хирургия. – 2010. – Т. 18, №2. – С. 45-54.
5. Нарушение механизмов вазодилатации у больных сахарным диабетом 2 типа при проведении контралатеральной холодовой пробы / Е.Н. Смирнова [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т. 11, №1(41). – С. 30-34.
6. Хирургические инфекции: руководство / под ред. И.А. Ерюхина, Б.Р. Гельфанда, С.А. Шляпникова. – СПб.: Питер, 2003. – Гл. 15. – С. 779-790. – (Сер. «Спутник врача»).
7. Global status report on noncommunicable diseases. – Geneva: World Health Organization, 2014.
8. Higashi Y. Assessment of endothelial function: History, Methodological Aspects, and Clinical Perspectives / Y. Higashi // Int Heart J. – 2015. – Vol. 56, № 2. – P. 125-134.
9. Roustit M. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation / M.Roustit, Jean-Luc Crasowski // Trents in pharmacological Sciences. – 2013. – Vol. 34, № 7. – P. 373-382.

ФУНКЦИОНАЛЬНАЯ ВЗАИМОСВЯЗЬ АКТИВНОСТИ ТРАНСПОРТА КИСЛОРОДА И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ И ЛИПИДОВ МЕМБРАН ЭРИТРОЦИТОВ У СПОРТСМЕНОВ ЦИКЛИЧЕСКИХ ВИДОВ СПОРТА

А.Ф. Марцинкевич, А.С. Осочук
УО «Витебский государственный медицинский университет», г. Витебск,
кафедра общей и клинической биохимии

Резюме. Активность массопереноса кислорода эритроцитами в значительной степени зависит от функционального состояния мембранных белков и физико-химических свойств липидного бислоя, что наиболее выражено в случае интенсивных физических нагрузок, в частности у спортсменов циклических видов спорта. Вместе с тем, в предыдущих исследованиях нами не было обнаружено взаимосвязи между показателями окислительной модификации белков и липидов, что позволяет предположить наличие нелинейной многомерной системы нескольких процессов. В результате проведенной работы построена графическая вероятностная модель, отражающая взаимосвязь активности отдачи кислорода и показателей окислительной модификации белков и липидов мембран эритроцитов у спортсменов циклических видов спорта.

Ключевые слова: мембрана эритроцита, окислительная модификация белков, перекисное окисление липидов, спорт.

Актуальность. Ранее нами было показано влияние регулярных физических нагрузок на окислительную модификацию белков (ОМБ) и липидов мембран эритроцитов у спортсменов циклических видов спорта [1]. Установлено, что активность отдачи кислорода эритроцитами венозной крови имеет положительную корреляционную взаимосвязь с микрополярностью аннулярного (прибелкового) и общего липидного пула мембран эритроцитов. Однако взаимосвязи между показателями ОМБ и микрополярностью мембран эритроцитов выявлено не было. Тем не менее, учитывая, что показатели ОМБ у спортсменов были повышены в сравнении с лицами, не занимающимися регулярными физическими нагрузками, а также то, что трансмембранный транспорт кислорода осуществляется специфическими белками-переносчиками, аквапоринами-1, можно предположить наличие многомерной системы нескольких взаимосвязанных процессов. Классические методы статистического анализа данных не предоставляют инструментов для обнаружения подобных зависимостей, поэтому для решения поставленной задачи использовалась графическая вероятностная модель на основе сети доверия Байеса. Вместе с тем, уточнение особенностей трансмембранного транспорта кислорода и его взаимосвязь с показателями ОМБ видится нам многообещающим фронтом для исследований, так как позволит, в перспективе, разработать способы повышения работоспособности и нефармакологической коррекции функционального состояния мембран эритроцитов у спортсменов циклических видов спорта.

Материалы и методы исследования. Для достижения поставленной цели была сформирована опытная группа, состоящая из спортсменов обоего пола со спортивной квалификацией от 1 взрослого разряда до мастера спорта в возрасте 18,2±1,1 года. В группу сравнения включены здоровые молодые люди обоего пола, не занимающиеся регулярными физическими упражнениями (возраст 19,0±2,1 года). Венозную кровь забирали в утренние часы, натощак, из локтевой вены в вакутайнеры с цитратом натрия. Эритроциты отмывали в буферном (150 мМ NaCl+5 мМ фосфат Na, pH 8,0) растворе.

Интенсивность отдачи кислорода эритроцитами венозной крови определяли при помощи электрода Кларка на аппаратном комплексе Record4 (Россия). Выделение мембран эритроцитов проводили по методу Доджа [2]. Очищенные мембраны стандартизовали по белку до конечной концентрации 100 мг/мл и на спектрофлуориметре «Солар» СМ 2203 (Беларусь) оценивали окислительную модификацию белков по активности флуоресценции их продуктов свободнорадикальной модификации (битирозины, тритофанилы и конъюгаты лизина с продуктами ПОЛ) [3]. Активность флуоресценции битирозинов определяли при λ 325 нм возбуждения и регистрации 415 нм, тритофанилов – при λ 295 возбуждения и регистрации 325 нм, конъюгатов лизина при λ 365 возбуждения и регистрации 440 нм [4 – 6]. Об окислительной модификации билипидного слоя мембран эритроцитов судили по его микрополярности после титрования пиреном [4], рассчитанной как отношение испускания первого вибронного пика к третьему пику мономеров пирена [7].

Статистический анализ результатов проводили при помощи вычислительной среды R 3.2.3 и пакета для построения байесовских сетей доверия bnlearn. Структуру сети определяли при помощи гибридного алгоритма MMHC («Max-Min Hill Climbing»).

Результаты и их обсуждение. Полученная графическая вероятностная модель для спортсменов циклических видов спорта имела следующий вид (рис. 1).

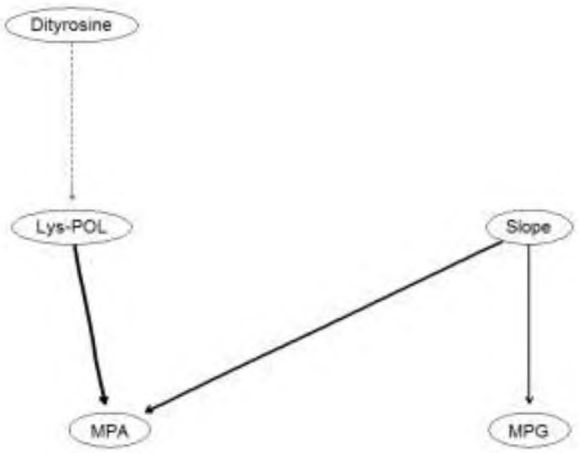


Рисунок 1. Графическое представление полученной модели

где Dityrosine – количество дитирозиновых групп, Lys-POL – количество конъюгатов лизина, MPA и MPG – микрополярность аннулярного и общего липидного пула, соответственно, Slope – интенсивность отдачи кислорода эритроцитами венозной крови

Очевидно, что показатели ОМБ оказывают совместное влияние на микрополярность аннулярного липидного пула, что вполне закономерно, так как интенсификация транспорта кислорода, приводящая к повреждению белковых молекул, неминуемо должна изменять и прибелковое липидное окружение. Вместе с тем, можно отметить, что активность отдачи кислорода также оказывает существенное влияние на микрополярность липидных пулов, вероятно, вследствие высокой подверженности перекисному окисление (табл. 1).

Таблица 1

Характеристика силы ребер полученной модели

Ребро	**Уровень значимости**
Lys-POL ~ MPA	0.0212
Slope ~ MPA	0.0318
Slope ~ MPG	0.0494
Dityrosine ~ Lys-POL	0.0591

Ребро Dityrosine ~ Lys-POL не является значимым при заданных параметрах, что тем не менее, не отменяет его факта включения в модель. Возможно, при увеличении выборки влияние количества дитирозина будет статистически значимо.

Чрезвычайно интересно то, что построение аналогичной модели для лиц контрольной группы не выявило каких-либо закономерностей. Вероятно, в данном случае возможно говорить о влиянии физической нагрузки как факторе, комплексно связывающем активность отдачи кислорода, окислительную модификацию белков и липидов мембран эритроцитов.

Выводы

1. Построена графическая вероятностная модель, отображающая функциональную взаимосвязь активности транспорта кислорода, окислительной модификации белков и липидов мембран эритроцитов у спортсменов циклических видов спорта.

2. Для лиц контрольной группы какого-либо взаимодействия изученных показателей получено не было.

Список литературы

1. Осочук С.С. Окислительная модификация белков и липидов мембран эритроцитов спортсменов циклических видов спорта [Текст] / С.С. Осочук, А.Ф. Марцинкевич // Вестник БГУ. Серия 2. – 2015. – № 2. – С. 47-52.
2. Dodge J. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin free ghosts of erythrocytes / J. Dodge, C. Mithchell, D. Hanahan // Arch. Biochem. Biophys. – 1963. – Vol. 100. – №1. – P. 119-130.

3. Тиньков А.А. Пероксидное повреждение белков и липидов сыворотки крови индуцированное солями железа и меди питьевой воды / А.А. Тиньков, М.Н. Рогачева, А.А. Никоноров // Вестник ОГА. – 2012. – №6. – С. 191-194.
4. Добрецов Г. Е. Флуоресцентные зонды в исследовании клеток, мембран и липопротеинов / Г.Е. Добрецов. – М.: Наука, 1989. – 277 с.
5. Giulivi C. Dityrosine: a marker for oxidatively modified proteins and selective proteolysis / C.Giulivi, K.J. Davies // Methods Enzymol. – 1994. – P. 363-371.
6. Fluorescence analysis of lipoprotein peroxidation / N. Dousset [et al.] // Methods Enzymol. – 1994. – P. 459-469.
7. Влияние плеторического введения перфторана на параметры структурно-функционального состояния мембран эритроцитов / Н.Б. Кармен [и др.] // Перфторуглеродные соединения в медицине и биологии. – 2003. – С. 122-126.

ВЛИЯНИЕ СОРБЕНТОВ НА ПОКАЗАТЕЛИ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ АЛКОГОЛЬНОЙ ИНТОКСИКАЦИИ

Е.В. Жидко[1], *Н.А. Терехина*[1], *Г.А. Терехин*[2]
ГБОУ ВПО ПГМУ им. акад. Е.А. Вагнера Минздрава России,
г. Пермь, кафедра биохимии (1)
ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, г. Пермь,
кафедра экстремальной медицины и товароведения (2)

Резюме. Исследование выполнено на 99 белых крысах. Моделировали острую интоксикацию этанолом на интактных животных и на фоне предварительной алкоголизации. Острое отравление вызывали внутрижелудочным введением 40% раствора этанола в дозе 0,5 LD_{50}. Предварительную алкоголизацию крыс проводили в течение месяца путем ежедневного внутрижелудочного введения 40% раствора этилового спирта в дозе 1/3 LD_{50}. Сорбенты (полисорб, литовит и сапропель) вводили в дозе 3000 мг/кг через 30 минут после введения этанола. Спектрофотометрически определяли в эритроцитах крови содержание восстановленного глутатиона, в плазме крови церулоплазмина и трансферрина. При остром отравлении этанолом увеличивается содержание церулоплазмина и восстановленного глутатиона, а содержание трансферрина не изменяется. При остром отравлении этанолом на фоне предварительной алкоголизации остается повышенным уровень церулоплазмина, достоверно снижается содержание восстановленного глутатиона и трансферрина. Выявлено корригирующее влияние сорбентов при алкогольной интоксикации на показатели антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: церулоплазмин, трансферрин, глутатион, алкогольная интоксикация, сорбенты.

Актуальность. Окислительному стрессу принадлежит ведущая роль в формировании цитотоксических эффектов этанола [1, 2, 3, 4]. Известно, что содержание восстановленного глутатиона в организме меняется при заболеваниях гепатобилиарного тракта [5]. Основная причина развития алкогольного цирроза печени – хроническая интоксикация алкоголем [6].Установлена избирательная антитоксическая активность сорбентов к липофильным ксенобиотикам [2, 7, 8].Достоверное уменьшение токсичности этанола наблюдали при введении полисорба, СУМС-1, карбактина, активированного угля, сапропеля и литовита [2, 7].Полисорб при остром отравлении этанолом имеет наиболее выраженный антитоксический эффект, сокращает период полувыведения этанола и восстанавливает физическую выносливость животных [2, 7]. Острая интоксикация этанолом изменяет состояние антиоксидантной защиты организма [2, 5, 7, 9].

Цель работы – оценить влияние сорбентов на показатели антиоксидантной защиты при алкогольной интоксикации.

Материалы и методы. Исследование выполнено на 99 белых нелинейных крысах массой 150-220 г. Животные содержались на смешанном сбалансированном по белкам, жирам, углеводам рационе вивария со свободным доступом к воде. При проведении экспериментов соблюдались положения Хельсинской декларации о гуманном отношении к животным. Моделировали острую интоксикацию этанолом на интактных животных и на фоне предварительной алкоголизации. Острое отравление интактных и предварительно алкоголизированных животных вызывали внутрижелудочным введением 40% раствора этанола в дозе 0,5 LD_{50}. Предварительную алкоголизацию крыс проводили в течение месяца путем ежедневного внутрижелудочного введения 40% раствора этилового спирта в дозе 1/3 LD_{50}. Исследуемые сорбенты (полисорб, литовит и сапропель) вводили в дозе 3000 мг/кг через 30 минут после введения этанола. Крысам с острой интоксикацией этанолом сорбенты вводили однократно, а в группах с предварительной алкоголизацией животных сорбенты начинали вводить с 15 дня исследования в течение двух недель. Забор крови производился через 24 часа после введения этанола. В качестве контроля использовали кровь 43 здоровых животных. 15 здоровым крысам сорбенты вводили в течение двух недель для изучения влияния сорбентов на показатели антиоксидантной системы.

В плазме крови животных спектрофотометрически определяли содержание церулоплазмина по методу [10] и трансферрина по [11]. В эритроцитах крови крыс определяли содержание восстановленного глутатиона по методу [12].

Результаты и их обсуждения. Содержание глутатиона в эритроцитах крови крыс при остром отравлении этанолом повышается в 2 раза по сравнению с контролем (рис. 1). При активации процессов свободнорадикального окисления изменяется проницаемость эритроцитарных мембран [9]. Этанол повреждает биологические мембраны, в том числе мембраны эритроцитов и гепатоцитов [1]. Выход из эритроцитов восстановленного

глутатионазатруднен из-за снижения проницаемости эритроцитарных мембран и увеличения их жесткости при остром отравлении этанолом. При острой интоксикации этанолом на фоне предварительной алкоголизации содержание глутатиона в эритроцитах крови снижается в 1,5 раза по сравнению с контролем (рис. 1).

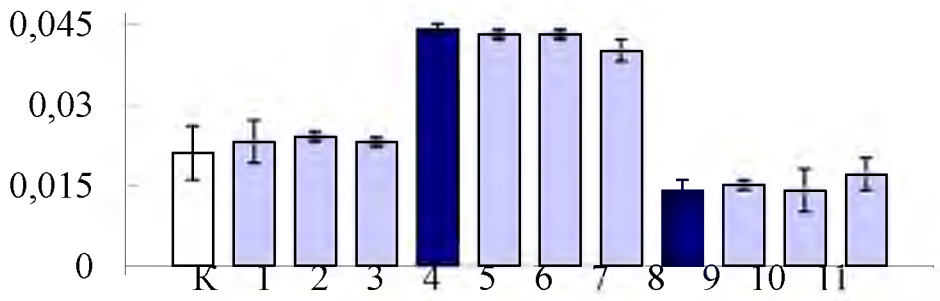


Рисунок 1. Содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах крови крыс при алкогольной интоксикации. По оси абсцисс: К – контроль (здоровые животные), 1 – здоровые животные + полисорб, 2 – здоровые животные + литовит, 3 – здоровые животные + сапропель, 4 – острое отравление этанолом, 5 – острое отравление этанолом + полисорб, 6 – острое отравление этанолом + литовит, 7 – острое отравление этанолом + сапропель, 8 – острое отравление этанолом на фоне предварительной алкоголизации, 9 – острое отравление этанолом на фоне предварительной алкоголизации + полисорб, 10 – острое отравление этанолом на фоне предварительной алкоголизации + литовит, 11 – острое отравление этанолом на фоне предварительной алкоголизации + сапропель. По оси ординат – содержание восстановленного глутатиона в мкмоль/гHb

Сорбенты не оказали влияния на содержание восстановленного глутатиона в эритроцитах крови крыс при остром отравлении этанолом. Введение сорбентов в течение двух недель при остром отравлении этанолом на фоне предварительной алкоголизации способствовало нормализации содержания глутатиона.

Содержание церулоплазмина при остром отравлении этанолом и на фоне предварительной алкоголизации увеличивается почти в 1,5 раза по сравнению с контролем ($P<0,01$). При использовании исследуемых сорбентов содержание церулоплазмина в плазме крови при остром отравлении этанолом нормализуется [2].

При остром отравлении этанолом на фоне предварительной алкоголизации остается повышенным уровень церулоплазмина. Выявлено корригирующее влияние полисорба, литовита и сапропеля на содержание в плазме крови церулоплазмина при острой интоксикации этанолом на фоне предварительной алкоголизации [9].

В плазме крови церулоплазмин совместно с трансферрином образуют антиоксидантную систему, регулирующую концентрацию восстановленных ионов железа. Основная роль этих белков – торможение железоин-

дуцированного перекисного окисления компонентов внеклеточного окружения, осуществляемое благодаря оксидазной активности церулоплазмина и железосвязывающей способности трансферрина.

Содержание трансферрина в плазме крови крыс при остром отравлении этанолом достоверно не отличается от контроля (рис. 2). Введение сорбентов не оказало влияние на содержание трансферрина при остром отравлении этанолом.

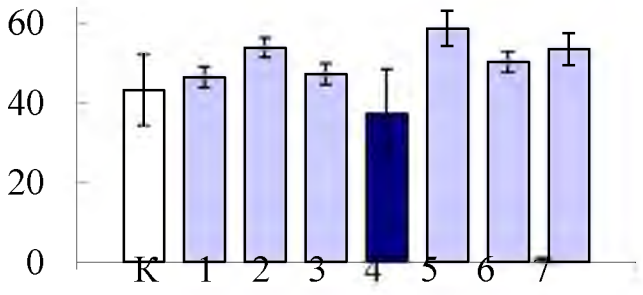


Рисунок 2. Содержание трансферрина в плазме крови крыс при алкогольной интоксикации. По оси абсцисс: К – контроль, 1 – литовит, 2 – полисорб, 3 – сапропель, 4 – острое отравление этанолом, 5 – острое отравление этанолом + полисорб, 6 – острое отравление этанолом + литовит, 7 – острое отравление этанолом + сапропель. По оси ординат – содержание трансферрина в мг/дл

Синтезирующая функция печени при остром отравлении этанолом на фоне предварительной алкоголизации нарушается и содержание трансферрина в плазме крови снижается [9]. Выявлено корригирующее влияние сорбентов (полисорба или литовита) на содержание в плазме крови трансферрина при острой интоксикации этанолом на фоне предварительной алкоголизации.

Двухнедельное введение исследуемых сорбентов не оказало достоверного влияния на содержание церулоплазмина, глутатиона и трансферрина в крови интактных животных (рис. 1, 2).

Выводы. При остром отравлении этанолом на фоне предварительной алкоголизации выявлено корригирующее влияние полисорба, литовита и сапропеля на показатели антиоксидантной защиты организма: церулоплазмин, трансферрин и восстановленный глутатион. Полученные результаты обосновывают использование сорбентов при алкогольной интоксикации.

Список литературы

1. Высокогорский В.Е. Роль гидроперекисей в окислительном стрессе при алкоголизации на фоне экспериментального сахарного диабета / В.Е. Высокогорский, О.Ю. Жукова, Л.Ф. Панченко // Наркология. – 2007. – №12. – С. 41-45.
2. Экспериментальное обоснование использования энтеросорбентов при остром отравлении этанолом / А.Г. Орбиданс [и др.] // Патол. физиоло-

гия и эксперим. терапия. – 2009. – №4. – С. 29-30.
3. Albano E. Oxidative mechanisms in the pathogenesis of alcoholic liver disease / E. Albano // Mol Aspects Med. – 2008. – Vol. 29, №1-2. – P. 9-16.
4. Острые отравления этанолом и его суррогатами / Ю.Ю. Бонитенко [и др.]. – СПб.: ЭЛБИ-СПб, 2005. – 224 с.
5. Нарушение обмена глутатиона при алкоголизме/ В.Е. Высокогорский [и др.] // Омский научный вестник. – 2011. – Т. 104, №1. – С. 9-12.
6. Павлов А.И. Лабораторная диагностика интоксикации алкоголем у лиц с алкогольной болезнью печени / А.И. Павлов, А.И. Хазанов // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2010. – Т. 20, №1. – С. 44-51.
7. Терехин Г.А. Антитоксическая активность сорбентов при остром отравлении этанолом / Г.А. Терехин, А.Г. Орбиданс, Н.А. Терехина // Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. – 2012. – №5. – С. 67.
8. Терехина Н.А. Влияние сапропелевых грязей на показатели окислительного стресса и антиоксидантной защиты при остром отравлении карбофосом / Н.А. Терехина, М.Г. Зорин, Г.А. Терехин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2007. – №1. – С. 6-8.
9. Влияние сорбентов на содержание меди, железа и транспортирующих их белков при алкогольной интоксикации / Н.А. Терехина [и др.]// Казанский медицинский журнал. – 2015. – Т. 96, №5. – С. 868-871.
10. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: справочник: в 2-х т. / В.С. Камышников. – Минск: Интерпрессервис, 2003. – Т.2 . – 463 с.
11. Dati F. Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470) / F. Dati, G. Schumann, L. Thomas // Eur J Clin Chem Clin Biochem. – 1996. – Vol. 34, №6. – P. 517-520.
12. Beutler E. Red cell metabolism a manual of biochemical methods / E. Beutler. – Orlando: Grune & Stration, 1990. – P. 131-134.

ЭНДОТЕЛИЙЗАВИСИМАЯ ВАЗОДИЛАТАЦИЯ У ПАЦИЕНТОВ С НЕЙРОПАТИЧЕСКОЙ И НЕЙРОИШЕМИЧЕСКОЙ ФОРМАМИ СИНДРОМА ДИАБЕТИЧЕСКОЙ СТОПЫ В НИЖНЕЙ ТРЕТИ ГОЛЕНИ ПРИ ЛЕЧЕНИИ МЕТОДАМИ КЛЕТОЧНОЙ И ГЕННОЙ ТЕРАПИИ

А.А. Коцлова[1,2]

ГБОУ ВПО «ПСПбГМУ имени академика И.П. Павлова»,
кафедра патофизиологии с курсом клинической патофизиологии (1)
СПб ГБУЗ «Городская больница №14», отделение лечения хирургических осложнений сахарного диабета, г. Санкт-Петербург (2)

Резюме. Исследование эндотелизависимой вазодилатации проводилось с использованием лазерной доплеровской флуометрии и фармакологической пробы с 0,3% раствором ацетилхолина. Обследовано 128 пациентов с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы. Пациенты были распределены на 5 групп методом случайных чисел. В каждой группе определялись подгруппы по форме СДС: нейроишемической (НИ) и нейропатической (НП). Группа 1 (сравнения) – производилось стандартное лечение СДС. Группа 2 (ДЭ) – лечение диабетических язв с использованием культуры фибробластов человека (дермальный эквивалент). Группа 3 (МФКАКМ) – с использованием мононуклеарной фракции клеток аутологичного костного мозга. Группа 4 (НВ) с использованием геннотипированногопрепарата «Неоваскулген» генно-инженерный препарат с использованием плазмидыVEGF. Группа 5 (СОС) – с использованием эндоваскулярных вмешательств. Мы предполагаем, что взаимное комбинирование клеточных методов (ДЭ+МФКАКМ) и генных технологий в лечении синдрома диабетической стопы усиливает процесс репарации язвенных дефектов и восстановления микроциркуляторного кровообращения при различных формах синдрома диабетической стопы.

Ключевые слова. Сахарный диабет, диабетическая стопа, эндотелийзависимаявазодилатация, дермальный эквивалент, мононуклеарная фракция клеток аутологичного костного мозга, VEGF, нейропатическая форма синдрома диабетической стопы, нейроишемическая форма синдрома диабетической стопы, репарация, диабетические язвы, клеточная терапия, генная терапия, лазерная доплеровская флуометрия.

Актуальность. Вторая половина XX века является «историческим» периодом в развитии синдрома диабетической стопы и методом лечения сахарного диабета 2 типа, так, как и осложнений было длительное голодание. В 2014 году уровень заболеваемости диабетом составила 9% среди взрослого населения 18 лет и старше[5]. В мире происходит глобальная эпидемия сахарного диабета (СД). Диабетическая стопа как самостоятельная нозологическая единица не определена в МКБ 10, которая используется в настоящее время. Но еще в 1987г. на женевской международной конференции по сахарному диабету она была выделена как самостоятельное осложнение наряду с диабетической нефро-, офтальмо-, нейро-, и ангиопа-

тией. Синдром диабетической стопы (СДС) – патологическое состояние при сахарном диабете, возникающие на фоне поражения периферической нервной системы, артериального и микроциркуляторного русла с вовлечением в патологический процесс мягких тканей и костно-суставного аппарат стопы и проявляющееся деструктивно-дегенеративными и гнойно-некротическими процессами[4].Язвенно-некротические поражения у пациентов с СД связаны с патологическим изменениями периферической нервной системы, сосудистой системы (артериального и микроциркуляторного русла)[1,2].А также с развитием инфекционного процесса и снижением реактивности организма [6].Оценить состояние регионарного кровообращенияу пациентов с нейропатической (НП) и нейроишемической(НИ) формами СДС при лечении методами клеточной терапии: дермальным эквивалентом (ДЭ) и мононуклеарной фракцией клеток аутологичного костного мозга (МФКАКМ); генным препаратом «Неоваскулген» (НВ).

Материалы и методы. Обследовали 128 пациентов.По данным клинического и физикального обследования, подтверждено наличие СДС. Больные распределены на 5 групп методом случайных чисел. В каждой группе определялись подгруппы по форме СДС: нейроишемической (НИ) и нейропатической (НП). Группа 1 (сравнения) – производилось стандартное лечение СДС: НИ – 20 чел., НП – 20 чел. Группа 2(ДЭ) – лечение диабетических язв с использованием культуры фибробластов человека (дермальный эквивалент): НИ – 20 чел., НП – 5 чел. Группа 3 (МФКАКМ) – с использованием мононуклеарная фракция клеток аутологичного костного мозга: НИ – 15 чел., НП – 5 чел. Группа 4 (НВ) с использованием препарата «Неоваскулген» генно-инжереный препарат с использованием плазмидыVEGF: НИ – 8 чел., НП – 5 чел. Группа 5 (СОС) –с использованием эндоваскулярных вмешательств: НИ – 14 чел., НП – 5 чел. Половой и возрастной состав пациентов в каждой группе был практически идентичен. По Техасской классификации степень поражения СДС – DII-DIII, а по Вагнеру 2-4 ст. Оценка язв производились до лечения (2-3 день госпитализации), через 2 недели и через 3 месяца после применения лечебных манипуляций. Исследование эндотелийзависимойвазодилатации проводилось при помощи лазерной доплеровской флуометрии и фармакологической пробы с 0,3% раствором ацетилхолина. Оценка эндотелиальной дисфункции проводилась в коже нижней третиголени. Пациентам по показаниямпроводиласьангиохирургическая коррекция[3]. Статистическая обработка данных выполнялась с использованием определения распределения на «нормальность» (тест Колмогорова-Смирнова). Если данные, не соответствовали нормальному распределению, они логарифмировались. Статистическая достоверность определялась для четырех независимых выборок при помощи непараметрического критерия Краскелла-Уоллиса. Сравнение между тремя точками исследования (до, 2 нед., 3 мес.) для каждой группы и между подгруппами (НИ и НП) проводилось при помощи непараметрического критерия Вилкоксона. Достоверными считались значения $M \pm \sigma$, при $p \leq 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Тканевая перфузия при проведении фармакологической пробы с 0,3% раствором ацетилхолина в коже нижней трети голени. Ионофорез АХ сопровождался увеличением кровотока у испытуемых контрольной группы, в коже нижней трети голени увеличение тканевой перфузии составило 118,4% на 3-й минуте после начала исследования. Происходило увеличение кровотока (+34%) на 2-й минуте для НИ, и на 3-й минуте НП (+68,5%) Наблюдалось достоверное увеличение тканевой перфузии у пациентов в группе НВ при НИ форме СДС195,3±29,2%, при НП 175,9±37,2%по сравнению со стандартным лечением НИ 118,4±21,3% и НП 116±23,5%. В группе ДЭ НИ 157,0±28,3%, ДЭ НП – 148±25,7%. А при использовании МФКАКМ НИ – 312±46,2%, НП – 202±14,7%($p \leq 0,05$) наблюдалось наиболее выраженноеувеличение тканевой по сравнению со всеми исследовательскими группами. Однако, в группе СОС НИ 229±21,3%, СОС НП 187±22,5 %($p \leq 0,05$), практически идентично МФКАКМ.

Выводы. Использование МФКАКМ в дополнение к стандартному лечению синдрома диабетической стопы как нейропатической, так и нейроишемической формы, достоверно улучшает состояние регионарного кровообращения и микроциркуляции. Предполагаем, что взаимное комбинирование клеточных методов (ДЭ+МФКАКМ) и генных технологий с эндоваскулярным вмешательством в лечении синдрома диабетической стопы усиливает процесс восстановления микроциркуляторного русла и репарацию язвенных дефектов при различных формах синдрома диабетической стопы.

Список литературы

1. Лобов Г.И. Микроциркуляторный кровоток в тканях кисти у пациентов с терминальной почечной недостаточностью, получающих лечение гемодиализом: зависимость от шунтового кровотока по артериовенозной фистуле / Г.И. Лобов, А.С. Гурков // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – №6. – С. 988.
2. Меншутина М.А. Нарушение вазодилататорных реакций как проявление дисфункции эндотелия / М.А. Меншутина // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. – 2004. – №11(3). – С. 14-18.
3. Лечебно-диагностический алгоритм при синдроме диабетической стопы: стандарты и новые технологии / В.Н. Оболенский [и др.] // РМЖ Хирургия. – 2012. – №12. – С. 585-598.
4. Синдром диабетической стопы в клинической практике / В.Н. Оболенский [и др.] // РМЖ. Хирургия. – 2010. – Т. 18, №2. – С. 45-54.
5. Нарушение механизмов вазодилатации у больных сахарным диабетом 2 типа при проведении контралатеральной холодовой пробы / Е.Н. Смирнова [и др.] // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2012. – Т. 11, №1(41). – С. 30-34.
6. Хирургические инфекции: руководство / под ред. И.А. Ерюхина, Б.Р. Гельфанда, С.А. Шляпникова. – СПб.: Питер, 2003. – Гл. 15. – С. 779-790. – (Сер. «Спутник врача»).

7. Global status report on noncommunicable diseases. – Geneva: World Health Organization, 2014.
8. Higashi Y. Assessment of endothelial function: History, Methodological Aspects, and Clinical Perspectives / Y. Higashi // Int Heart J. – 2015. – Vol. 56, №2. – P. 125-134.
9. Roustit M. Assessment of endothelial and neurovascular function in human skin microcirculation / M.Roustit, Jean-Luc Crasowski// Trents in pharmacological Sciences. – 2013. – Vol. 34, №7. – P. 373-382.

ВЛИЯНИЕ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СТРЕССА НА НАРУШЕНИЕ ТВЕРДЫХ ТКАНЕЙ ЗУБА

Н.Ю. Масюк
ВГМУ, г. Витебск, кафедра нормальной физиологии

Резюме. В данной работе проведено исследование корреляции стресса и состояния твёрдых тканей зуба. Выявлены основные механизмы воздействия стрессорных факторов на эмаль и дентин и сопровождающие данные процессы метаболические нарушения.

Ключевые слова: стресс, твердые ткани зуба, кариесрезистентность

Актуальность. Каждый современный человек независимо от его социального и материального положения подвержен стрессу.

На сегодняшний день доказано, что стрессорное воздействие играет роль в патогенезе зубочелюстной патологии. Ряд клинических наблюдений за людьми, работа которых происходит в экстремальных условиях, показал, что у них в 2 раза чаще возникают деструктивные процессы в тканях периодонта, снижается кариесрезистентность твердых тканей зуба по сравнению с работающими в обычных условиях людьми [1].

Но, несмотря на имеющиеся работы, посвящённые проблемам стресса, его значение в патогенезе стоматологических заболеваний ещё недостаточно изучено.

Цель исследования – выявить наличие взаимосвязи между стрессорными воздействиями и патологией твёрдых тканей зуба.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели был использован аналитический метод – анализ монографий, диссертаций, авторефератов диссертаций; результатов, опубликованных в стоматологических и физиологических журналах, учебных пособиях, а также на интернет – ресурсах.

Результаты и их обсуждение. Согласно современным представлениям, основными условиями возникновения и развития кариеса зубов являются:

- кариесвосприимчивость зубной поверхности,
- кариесогенные бактерии,
- ферментируемые углеводы в полости рта,

• продолжительность воздействия кариесогенных факторов.

Кариесвосприимчивость зубной поверхности зависит от:

• формы анатомической поверхности зуба: глубины естественных фиссур и протяженности промежутков между зубами;

• насыщенности эмали зуба фтором, кальцием, фосфором;

• гигиены полости рта;

• диеты: мягкая, богатая углеводами пища способствует образованию зубного налёта;

• качества и количества слюны: небольшое количество и повышенная вязкость слюны способствуют прикреплению бактерий к пелликуле и образованию зубного налёта. Важное влияние на кариесрезистентность эмали оказывают буферные свойства слюны и количество в ней иммуноглобулинов и других факторов защиты;

• генетической предрасположенности;

• интенсивности перекисного окисления липидов и протеолиза в слюне и пульпе зуба;

• общего состояния организма [2].

Установлено нарушение состояния твердых тканей зуба при следующих видах стресса:

- воздействие вибрации (экспозиция крыс-самок на вибростенде в течение 60 минут в период с 9 по 18 сутки беременности, т.е. в период фолликулярного развития зубов) приводит к нарушению раннего дентиногенеза, угнетению эктодермальных структур зачатков зубов. Клинически это проявляется развитием системной гипоплазии эмали, очаговой деминерализацией твердых тканей, и, как следствие, кариесом [3];

- эмоционально-холодовой стресс (погружение крыс в ванну с холодной (+ 4°С) водой на 10 минут один раз в день в течение 4-х дней) вызывает изменение метаболических процессов в пульпе зубов, активности окислительно-восстановительных ферментов, супероксиддисмутазы, увеличение содержания малонового диальдегида, свидетельствующее об активации свободно-радикального окисления;

- эмоционально-холодовой стресс (воздействие в указанном режиме в течение 30-ти дней) провоцирует изменение фосфорно-кальциевого обмена в пульпе зубов крыс, снижение активности щелочной фосфатазы в 2,5 раза, уменьшение содержания аннексина V (кальций-зависимого белка, связывающегося с анионными фосфолипидами) в 3 раза, вследствие чего нарушаются процессы обезыствления дентина. Происходит вакуолизация и гибель одонтобластов [4];

- скученное содержание в одной клетке крыс-самцов линии Осборн-Мендель в течение 56 дней приводит к увеличению образования кариозных полостей [5];

- ограничение свободного перемещения 21-дневных крысят линии Осборн-Мендель в течение 9 дней [6] характеризуется повышением интенсивности появления деструктивных процессов в зубах, а их нахождение в

течение 120 дней под воздействием электрического тока способствует быстрому развитию кариеса [7].

Выявлены следующие механизмы воздействия стресса на твердые ткани зуба: 1) ингибирование синтеза белков, в результате чего формируются малоустойчивые к воздействиям внешней и внутренней среды твердые ткани; 2) морфологические изменения в слюнных железах, что приводит к снижению объема выделяемой слюны, уменьшению активности секретируемых ферментов, количественным и качественным изменениям белкового состава слюны, падению ее реминерализирующего потенциала; 3) активация перекисного окисления липидов и стимуляция протеолиза в ротовой жидкости и пульпе; 4) нарушение иммунитета [3-7].

Выводы. Выявлено, что стрессорные стимулы снижают устойчивость твердых тканей зуба к кариесогенным бактериям, изменению содержания кальция, фтора и фосфора в ротовой жидкости и пульпе, консистенции слюны, наличию ферментируемых углеводов. Основными факторами, повышающими декальцинацию эмали и дентина зубов, могут быть активация свободно-радикальных процессов, изменение количественного и качественного состава белков смешанной слюны, что способствует деминерализации твердых тканей зубов, угнетение защитных свойств слюны, а также нарушение функционального состояния клеток пульпы зуба, обеспечивающих трофику твёрдых тканей.

Список литературы

1. Зырянов Б.Н. Иммунитет полости рта в механизмах развития кариеса зубов у рабочих-нефтяников севера Томской области / Б.Н. Зырянов, Р.Г. Гамзатов,Т.Ф. Соколова // Институт стоматологии. – 2013. – № 4. – С.78-79.
2. Стоматология детей и подростков: пер. с англ. / под ред. Р.Е. Мак Дональда, Д.Р. Эйвери. – М.: Мед. информ. агентство, 2003. – 636 с.
3. Апраксина Е.Ю. Морфологические изменения околоушных слюнных желез, зубных зачатков и поверхностных шейных лимфатических узлов при воздействии вибрации промышленной частоты на систему "мать – плод": дис. … канд. мед. наук / Е.Ю. Апраксина. – Новосибирск, 2006. – 109 с.
4. Островская И.Г. Влияние стресса на метаболические процессы в пульпе зуба: дис. … канд. мед. наук / И.Г. Островская. – М., 2008. – 149 с.
5. Stress and dental caries in the rat / M. Borysenko[et al.] // Journal of Behavioral Medicine. – 1980. – Vol. 3, Is. 3. – P. 233-243.
6. Steiman R. Comparison of Caries Incidence in Exercised and Immobilized Rats / R. Steiman, M. Brussett, P. Tartaryn // Journal of Dental Research. – 1961. – Vol. 40. – P. 218.
7. Reyna J. Leo. Psychological Stress and Experimental Caries / Leo J. Reyna, Alberto Di Mascio, Norman Berezin // Psychosomatics. – 1967. – Vol. 8, Is. 3. – P. 138-140.

ДИНАМИКА БИОХИМИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ДИСФУНКЦИИ ЭНДОТЕЛИЯ КАК КРИТЕРИЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ ЭНДОТЕЛИОТРОПНОЙ ТЕРАПИИ ПРИ АРТЕРИАЛЬНЫХ РЕКОНСТРУКЦИЯХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ СИНТЕТИЧЕСКИХ ЗАПЛАТ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

Р.Е. Калинин, И.А. Сучков, А.А. Герасимов, М.В. Мнихович, А.С. Пшенников, Н.В. Архипкина, Е.В. Киселева
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра ангиологии, сосудистой, оперативной хирургии
и топографической анатомии

Резюме. Используя модельL-NAME-индуцированной эндотелиальной дисфункции в сочетании с проведением реконструктивной операции на аорте лабораторного животного, проведен анализ динамики уровня биохимических маркеров на фоне коррекции препаратами различных фармакологических групп и их комбинации. Проведена оценка морфологических изменений сосудистой стенки в зоне оперативного вмешательства при использовании различных видов синтетических материалов.

Ключевые слова: эндотелиальная дисфункция, L-NAME, оксид азота, С-реактивный белок, гиперплазия интимы.

Актуальность. Неудовлетворительныерезультаты реконструктивных вмешательств на магистральных артериях обуславливают довольно высокую потребность в повторных операциях – приблизительно 25%. Закономерным последствием операций на магистральных артериях являются процессы гиперплазии интимы (ГИ) с формированием рестеноза в послеоперационном периоде. В настоящее время, одной из основных причин развития гиперплазия интимы является эндотелиальная дисфункция (ЭД). Коррекция эндотелиальной дисфункции в реконструктивной хирургии магистральных артерий может привести к снижению частоты развития гиперплазии интимы и улучшению отдаленных результатов данных вмешательств.

Цель: оценить биохимический статус и характер морфологических изменений в зоне артериальной реконструкции при использовании различных видов синтетических заплат на фоне экспериментальной эндотелиальной дисфункции.

Материалы и методы. Исследование проведено на 48 беспородных котах массой 3-4 кг. Животные были разделены на 3 группы: контрольная и 2 опытных. Контрольной группе эндотелиотропная терапия не проводилась. В 1 опытной группе в качестве эндотелиотропной терапии применялась комбинация розувастатина с L-аргинином, во второй – мелоксикам. Для моделирования эндотелиальной дисфункции у всех животных использовали L-NAME, который вводили ежедневно 1 р/д внутрибрюшинно в дозе 25 мг/кг в течение 7 дней. На 10 день от начала эксперимента под нарко-

зом выполнялось оперативное вмешательство – аллопластика брюшного отдела аорты. В пределах группы (n=16) в качестве материала для аллопластики использовались заплаты из дакрона (n=8) и политетрафторэтилена (PTFE) (n=8). Для оценки ФСЭ осуществляли забор крови с целью определения метаболитов оксида азота (II), индуцибельнойNO-синтазы (iNOS), С-реактивного белка (СРБ). Через 6 месяцев проводилась эвтаназия животного, с последующим забор участка аорты в зоне оперативного вмешательства для проведения морфологического исследования.

Результаты и их обсуждение. В контрольной группе отмечено достоверное ($p<0,05$) стойкое снижение уровня оксида азота (II) в течение всего периода наблюдения (8-10 день – 8,68±1,37 мкмоль/л, 6 мес. – 10,62±1,33), что говорит о выраженном угнетении функционального состояния эндотелия. Имеет место повышение концентрации СРБ, в ответ на операционную травму, значение которого превышает дооперационный уровень в 2 раза (постановка модели – 29,41±3,05 мг/л, 6 мес. – 51,81±3,85 мг/л). Возрастает активность iNOS, с максимумом к 1 мес. (28,75±0,48 пг/мл). На фоне роста содержания iNOS – наиболее активного представителя NO-синтаз, отмечено стойкое снижение уровня оксида азота (II). Данное явление можно объяснить тем, что на фоне оксидативного стресса наиболее выраженно протекает реакция между NO и активными формами кислородных радикалов с образованием пероксинитрита ($ONOO^-$). Вышеописанный биохимический статус находит свое отражение в морфологической картине в виде неравномерно утолщенной, рельефной интимы с выраженными явлениями гиперплазии (средняя толщина интимы 87.8±3.1 мкм). Клеточная реакция на протез со стороны адвентиции выраженная, проявляющаяся в виде выраженной диффузной полиморфноклеточной инфильтрации. В 1 опытной группе значение NO в послеоперационном периоде увеличивается в течение всего периода наблюдения и достигает максимума к 6 мес. (19,26±2,37 мкмоль/мл). Значение индуцибельнойNO-синтазы в раннем послеоперацинном увеличивается, достигая к 1 мес. – 28,7±0,98 пг/мл, в дальнейшем уровень маркера постепенно достоверно снижается к 6 мес. – 23,74±,63 пг/мл. Уровень СРБ увеличивается в послеоперационном периоде и сохраняет свое значение на протяжении всего эксперимента (8-10 дней – 49,59±4,67 мг/л, 1 мес. – 56,71±3,45 мг/л, 6 мес. – 56,59±1,93 мг/л). При морфологическом исследовании интима, как в области прилежащей к протезу, так и на всем протяжении сосуда ровная, гладкая, плотная, явления отека не обнаруживается. Признаки гиперплазии не выражены. Интима покрыта на всем протяжении эндотелием. Средняя толщина интимы – 72,1±3,7 мкм. В адвентиции и средней оболочке воспалительной инфильтрации не обнаруживается. В зоне протезирования, определяется очаговая макрофагально-плазмоцитарная инфильтрация. Во 2 опытной группе уровень NO на различных сроках наблюдения сопоставим с уровнем NO контрольной группы и достоверно не отличаются, что свидетельствует об отсутствии эндотелиопротективного эффекта со стороны

мелоксикама. iNOS резко возрастает уже к 8-10 суткам (30,81±0,97 пг/мл) и сохраняет свое значение в течение всего эксперимента (1 мес. – 32,49±1,06 пг/мл, 6 мес. – 31,35±0,75 пг/мл). Уровень СРБ, как интегральный индикатор воспаления, незначительно возрастает относительно постановки модели (30,55±2,88 мг/л и 28,67±3,48 мг/л) и сохраняет относительно низкое значение на протяжении всего эксперимента (1 мес. – 32,63±3,11 мг/л: 6 мес. – 33,06±3,61 мг/л). При этом уровень СРБ достоверно отличается от аналогичных значений в контрольной и опытных группа, что свидетельствует о выраженном противовоспалительном действии мелоксикама. При морфологическом исследовании в месте прилежания ткани протеза к меди и интиме, четко определяется умеренно выраженная гиперплазированная интима (средняя толщина интимы – 80,8±6,2 мкм). На фоне умеренно гиперплазированной интимы, определяются колбовидные утолщения интимы, покрытые уряженным слоем эндотелия, которые вдаются в просвет сосуда. Клеточная реакция на ткань протеза умеренно выраженная. Следует отметить, что характер морфологических изменений артериальной стенки не зависит от характера использованного синтетического материала (дакрон или политетрафторэтилен). Не было выявлено достоверных различий в тканевых реакциях и специфичности изменений при использовании данных материалов.

Выводы

1. Коррекция дисфункции эндотелия при применении препаратов различных фармакологических групп сопряжена с увеличением уровня стабильных метаболитов оксида азота (II), снижению уровняС-реактивного белка и iNOS.

2. Использование комбинации лекарственных препаратов (розувастатин + L-аргинин) с целью коррекции ЭД более эффективно чем монотерапия (мелоксикам).

3. Характер морфологических изменений артериальной стенки не зависит от характера использованного синтетического материала (дакрон или политетрафторэтилен).

Список литературы

1. Эффективность L-аргинина в лечении атеросклероза артерий нижних конечностей и профилактике рестеноза зоны реконструкции / Р.Е. Калинин [и др.] // Вестник Ивановской медицинской академии. – 2013. – Т. 18, №2. – С. 18-21.
2. Калинин Р.Е. Методы стимуляции секреции оксида азота у больных облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей с позиции коррекции эндотелиальной дисфункции / Р.Е. Калинин, А.С. Пшенников // Вестн. нац. медико-хирургического центра им. Н.И. Пирогова. – 2011. – Т. 6, №3. – С. 12-15.
3. Калинин Р.Е. Эндотелиальная дисфункция: роль в хирургии атеросклероза артерий нижних конечностей / Р.Е. Калинин. – Saarbrucken

(Deutschland): LambertAcad. Publ., 2011. – 241 с.
4. Динамика некоторых биохимических показателей у больных с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей в различные сроки после реконструктивных операций / Р.Е. Калинин [и др.] // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2012. – №1. – С. 41-44.
5. Медикаментозная коррекция функционального состояния эндотелия у пациентов с облитерирующим атеросклерозом артерий нижних конечностей / Р.Е. Калинин [и др.] // Казанский медицинский журнал. – 2013. – Т. 94, №2. – С. 181-185.
6. Киричук В.Ф. Дисфункция эндотелия / В.Ф. Киричук, А.И. Глыбочко. – Саратов: Изд-во СГМУ, 2008. – 110 с.
7. Клиническая ангиология: руководство в 2-х т. / под ред. А.В. Покровского. – М.: Медицина, 2004.
8. Курьянов П.С. Гиперплазия интимы в зоне сосудистого анастомоза / П.С. Курьянов, А.С. Разуваев, В.Н. Вавилов // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2008. – Т. 14, №4. – С. 146-151.
9. Сучков И.А. Коррекция эндотелиальной дисфункции: современное состояние проблемы (обзор литературы) / И.А. Сучков // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2012. – №4. – С. 151-157.
10. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд. – М.: Медицина. 2005. – 832 с.
11. Antoniades C. Rapid, directeffectsofstatintreatmentonarterialredoxstateandnitricoxidebioavailabilityinhumanatherosclerosisviatetrahydrobiopterin-mediatedendothelialnitricoxidesynthasecoupling / C. Antoniades, C. Bakogiannis, P. Leesonetal // Circulation. – 2011. Vol. 124, № 3. – P. 335-345.
12. Nussmeier N.A. ComplicationsoftheCOX-2 inhibitorsparecoxibandvaldecoxibaftercardiacsurgery / N.A. Nussmeier, A.A. Whelton, M.T. Brownetal // N Engl J Med. – 2005. Vol. 352, №11. – P. 1071-1080.

ОКИСЛИТЕЛЬНЫЙ И КАРБОНИЛЬНЫЙ СТРЕСС ПРИ АТЕРОСКЛЕРОЗЕ И ДИАБЕТЕ

В.З. Ланкин, А.К. Тихазе
ФГБУ «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Минздрава РФ, г. Москва

Развитие атеросклероза, как было установлено нами ранее, сопровождается возникновением окислительного стресса, сопровождающегося накоплением липогидропероксидов в крови [1], причем окисленные ЛНП приобретают способность интенсивно накапливаться в клетках стенки сосудов (преимущественно, в моноцитах-макрофагах), вызывая предатерогенные (липоидозные) повреждения интимы. Нами установлено, что окис-

ление фосфолипидов наружного слоя частиц ЛНП С-15 животной липоксигеназой до соответствующих ацилгидроперокси-производных не приводит к увеличению их захвата культивируемыми макрофагами человека, тогда как ЛНП, модифицированные вторичным продуктом свободнорадикального окисления липидов – МДА, весьма активно поглощаются этими клетками [2]. Исследования, проведенные нами на независимых репрезентативных выборках пробандов из Москвы и Таллинна показали, что атерогенные (обогащенные холестерином) ЛНП являются одновременно и МДА-модифицированными [3].

В то же время, окисленность ЛНП у больных сахарным диабетом типа 2 с нарушениями углеводного обмена значительно выше, чем окисленность ЛНП у больных атеросклерозом [4,5], причем глюкоза в диапазоне концентраций 12,5-100 мМ стимулирует свободнорадикальное окисление ЛНП плазмы крови человека invitro. На основании исследования кинетических параметров окисления ЛНП установлено, что интенсификация ПОЛ вызвана образованием радикальных интермедиатовавтоокисления глюкозы при ее соокислении с полиеновыми фосфолипидами наружного слоя частиц ЛНП [4,5]. Действительно, как было установлено, глюкоза в исследованном диапазоне концентраций стимулирует окисление липосом из яичногофосфатидилхолина при инициации азо-инициатором AIBN. Доказано, что при соокислении глюкозы и полиеновых липидов в составе ЛНП или липосом происходит генерирование супероксидныханион-радикалов, поскольку свободнорадикальные реакции практически полностью подавляются при введении СОД в среду инкубации. Обнаружено, что нормализация уровня глюкозы в крови больных сахарным диабетом типа 2 в процессе сахароснижающей терапии сопровождается также существенным снижением окисленности ЛНП [5]. Накопление интермедиатов окислительного метаболизма глюкозы – низкомолекулярных α-оксоальдегидов, таких как глиоксаль и метилглиоксаль, провоцирует возникновение карбонильного стресса, причем эти дикарбонилы, также как МДА, вызывают атерогенную модификацию ЛНП. Нами показано, что глиоксаль-модифицированные ЛНП захватываются культивируемыми макрофагами человека с существенно большей эффективностью по сравнению с МДА-модифицированными ЛНП, т.е. являются более атерогенными [4,6]. Кроме того обнаружено, что при реакции концевых аминогрупп апобелка ЛНП с метилглиоксалем может происходить вторичное генерирование супероксидныханион-радикалов [7]. В соответствии с этим, при терапии метформином, способным связывать и утилизировать метилглиоксаль, окисление ЛНП больных сахарным диабетом invivo ингибируется в большей степени, чем при терапии другими сахароснижающимилекарственными препаратами [5]. Показано, что invitro природные дикарбонилы, способные накапливаться в процессе окислительного стресса при атеросклерозе (МДА) или карбонильного стресса при сахарном диабете (глиоксаль, метилглиоксаль), весьма существенно ингибируют активность антиоксидантных ферментов

– каталазы, Cu,Zn-СОД и Se-содержащей GSH-пероксидазы из эритроцитов. После инкубации эритроцитов человека в присутствии 10 мМ исследуемых дикарбонилов также было выявлено снижение активности внутриклеточной Cu,Zn-СОД [8]. Активность эритроцитарнойCu,Zn-СОД была существенно снижена у больных сахарным диабетом типа 2 с нарушениями углеводного обмена, тогда как эффективная сахароснижающая терапия сопровождалась увеличением активности этого фермента. При терапии больных сахарным диабетом типа 2 с использованием метформина, способного утилизировать метилглиоксаль, активность эритроцитарнойCu,Zn-СОД возрастала в значительно большей степени, чем при традиционной сахароснижающей терапии [8]. Полученные результаты свидетельствуют о том, что нарушения углеводного обмена при диабете могут стимулировать развитие карбонильного стресса и интенсификацию атерогенной модификации ЛНП. Это объясняет известный факт прогрессирования атеросклероза при наличии диабета, причем, в соответствии с полученными нами данными, можно высказать гипотезу о едином молекулярном механизме повреждения стенки сосудов при атеросклерозе и сахарном диабете с участием карбонил-модифицированных ЛНП [5].

Работа выполнена при финансовой поддержке гранта Российского научного фонда № 14-15-00245.

Списоклитературы

1. Lankin V., Tikhaze A. NATO Science Series 2003, 344: 218-231.
2. Lankin VZ, Tikhaze AK, Kumskova EM.Mol Cell Biochem.2012 ;365(1-2):93-98.
3. ViigimaaM, AbinaJ, ZemtsovskayaG, TikhazeA, KonovalovaG, KumskovaE, LankinV. BloodPressure 2010;19(3):164-168.
4. LankinV. etal., in: HandbookofLipoproteinRes.2010, NovaSci.Pub., 85-107.
5. LankinVZ, KonovalovaGG, TikhazeAK, ShumaevKB, KumskovaEM, ViigimaaM. MolCellBiochem 2014; 395(1-2): 241-252.
6. LankinVZ, TikhazeAK, Kapel'koVI, Shepel'kovaGS, ShumaevKB, PanasenkoOM, KonovalovaGG, BelenkovYN.Biochemistry (Mosc).2007, 72(10):1081-90.
7. Shumaev KB, GubkinaSA, KumskovaEM, ShepelkovaGS, RuugeEK, LankinVZ. Biochemistry (Mosc). 2009,74(4):461-6.
8. Lankin VZ, Konovalova GG, Tikhaze AK, Shumaev KB, Kumskova EM, Viigimaa M. J.Diabetes 2015,May 19. doi: 10.1111/1753-0407.12309. [Epubaheadofprint].

ОНКОЛОГИЯ: ЭТИОЛОГИЯ, РАСПРОСТРАНЕНИЕ, ПРЕПАРАТЫ, МЕТОДЫ ЛЕЧЕНИЯ В ПРИДНЕСТРОВСКОЙ МОЛДАВСКОЙ РЕСПУБЛИКЕ (ОБЗОР)

О.О. Наумова, А.А. Иримеску
НУ ОВППО «ТМУ» Приднестровье, г. Тирасполь, кафедра «Фармация»

Резюме. Статья посвящена изучению вопроса онкологии в Приднестровской молдавской республике: ее этиологии, распространенности, гендерные различия онкобольных, рассматриваются методы лечения данного заболевания доступные в Приднестровье.

Ключевые слова: Онкология, этиология заболевания, канцерогенез.

Обращение к проблеме изучения онкологии в Приднестровье не является случайностью, а обусловлена ростом числа онкологических заболеваний в наше республике. Онкология является второй по значимости (после сердечно-сосудистых заболеваний) причиной смертности в нашей стране.

Гиппократ, сочетавший наблюдения с перспективным мышлением, написал серию замечательных трактатов, откуда мы можем узнать о болезнях того времени. Среди его работ есть трактат под названием «О карцинозе». В нем, по-видимому, описан рак молочной железы: «…у женщины из Абдеры развилась карцинома груди, и через сосок выделялась серозно-кровянистая жидкость; когда выделения прекратились, она умерла». Древние римляне дали латинское название «cancer» (рак) неизлечимой разрастающейся язве, напоминающей по форме краба. Термин «карцинома» используется теперь для описания рака покровных тканей, а суффикс «ома» означает припухлость. Для описания опухолей Гиппократ применял также термин «onkos», и хотя он, по-видимому, не ограничивал его исключительно описанием рака, от него произошло слово «онкология», в буквальном смысле означающее изучение опухолей, но в настоящее время, используемое как название всех дисциплин, изучающих рак.

Интерес к проблеме онкологических патологий с каждым годом возрастает все больше и больше. Данные заболевания не щадят ни одну страну, ни детей ни стариков. Онкология считается одной из самых трагичных отраслей медицины, потому что эта отрасль характеризуется неуклонным ростом заболеваемости и низкой результативностью лечения (высокая смертность, тяжелое течение, весьма скромные успехи в разработке действенных лекарственных средств), а также экономическими и неблагоприятными социально – психоэмоциональными аспектами проблемы. Клинические наблюдения свидетельствуют, что возникновению злокачественных новообразований, как правило, предшествуют длительно протекающие хронические процессы, сопровождающиеся гиперпластическими и неопластическими изменениями тканей. Несвоевременно диагностируемые, длительно протекающие предраковые заболевания предшествуют онкологическим заболеваниям.

Около 80% случаев рака у людей – результат воздействия факторов окружающей среды, под которыми понимают стиль жизни, пищевые про-

дукты, заболевания, увеличивающие риск развития опухолей, и наследственными изменениями в геноме.

Агенты, стимулирующие возникновение опухолей (канцерогены), можно разделить на три большие группы: излучение, химические соединения, вирусы.

Излучения. Установлено, что УФО, x – и γ – лучи оказывают мутагенное и канцерогенное действие. Так, в Австралии и Новой Зеландии, где высока интенсивность УФО солнечных лучей, у части населения возникают карциномы и меланомы. Отмечено увеличение случаев заболевания лейкозами у жителей Японии после взрыва на их территории атомных бомб. Учащение случаев рака лёгких наблюдают у шахтёров, работающих с радиоактивными рудами.

Химический канцерогенез. Канцерогенным действием обладает огромное количество различных по химическому строению веществ. В печени большинство из этих веществ проканцерогены – соединения, не взаимодействующие с генетическим аппаратом клеток. После дополнительной метаболической модификации они превращаются в канцерогены, способные реагировать с молекулами нуклеиновых кислот и белков, нарушать работу регуляторных механизмов клеток и вызывать рост опухолей.

ДНК- и РНК-содержащие вирусы. Данные о роли вирусов в развитии опухолей были получены в начале XX столетия. Так, в 1908 г. лейкоз у кур удалось вызвать под действием бесклеточного экстракта из опухолевых клеток, а в 1910 г. Р. Раус описал первый онкогенный вирус, способный инициировать саркому у кур. В 1968 г. российским учёным Л.А. Зильбером была сформулирована вирусно-генетическая теория возникновения опухолей под действием онкогенных вирусов. Хотя вирусный канцерогенез первоначально был описан только у птиц и животных, но в последнее время получены данные об участии вирусов в развитии некоторых опухолей у человека. Так, ДНК-содержащий вирус Эпштейна-Барр вызывает развитие лимфомы Бёркитта, ДНК вируса папилломы – развитие рака кожи и гениталий, РНК-содержащий вирус иммунодефицита человека – возникновение сарком.

К ДНК-содержащим онковирусам относят также вирус герпеса, аденовирус, вирус ветряной оспы. Как правило, эти вирусы вызывают инфекционные болезни и лишь в одном из миллиона случаев – злокачественную трансформацию. С другой стороны, ДНК-содержащий вирус гепатита В является причиной рака печени, от которого в мире умирает ежегодно около 500 000 человек. При этом инфицирование пациентов происходит, как правило, за 20-25 лет до возникновения опухоли.

Наследственная предрасположенность. Наследственные изменения в геноме играют важную роль в канцерогенезе. Так, у детей предрасположенность к ретинобластоме (злокачественная опухоль сетчатки глаза) наследуется как аутосомно-доминантный признак, и примерно 40% случаев заболевания имеют семейный характер. Также наследуется предрасположенность к множественному полипозу толстой кишки, и практически во всех случаях в зрелом возрасте у пациентов образуются аденокарциномы.

Общей причиной злокачественного роста является недостаточность системы антибластомной резистентности (системы противоопухолевой защиты), основными элементами которой являются (1) ферменты репарации ДНК, (2) антионкогены и (3) ЕК-клетки (естественные киллерные клетки).

К недостаточности системы антибластомной резистентности приводят следующие факторы:

- Интенсивное канцерогенное воздействие

1. Иммунодефицитные состояния

- Недостаточность ферментов репарации ДНК и функции антионкогенов (например, при пигментной ксеродерме или синдроме Ли – Фраумени)

1. Рубцовое уплотнение ткани («рак в рубце»).

Различают травматический, термический, радиационный, химический и вирусный варианты канцерогенеза.

1. Травматический канцерогенез – появление злокачественной опухоли в месте травмы (например, хроническая травма красной каймы губ может привести к развитию рака).

2. Термический канцерогенез – развитие злокачественной опухоли в местах длительного дозированного воздействия высокой температуры (в местах ожогов), например, рак слизистой оболочки полости рта и пищевода у любителей горячей пищи.

3. Радиационный канцерогенез – возникновение опухоли под влиянием ионизирующих или неионизирующих излучений в канцерогенной дозе. Основным природным канцерогеном для лиц европеоидной и монголоидной рас является солнечный ультрафиолет, поэтому привычка загорать на солнце способствует развитию злокачественных новообразований кожи.

4. Химический канцерогенез – развитие злокачественных опухолей под влиянием химических канцерогенов (канцерогенных веществ). Из экзогенных химических канцерогенов основную роль играют канцерогены табачного дыма, являющиеся основной причиной развития рака лёгкого и рака гортани. Среди эндогенных химических канцерогенов важное значение имеют эстрогенные гормоны (высокий уровень которых приводит к развитию рака молочных желёз, яичников, эндометрия) и канцерогенные метаболиты холестерола, образующиеся в толстой кишке под влиянием микроорганизмов и способствующие развитию рака толстой кишки.

5. Вирусный канцерогенез – индукция злокачественных опухолей вирусами (онкогенными вирусами). Онкогенными называют только те вирусы, которые непосредственно вызывают малигнизацию клетки, привнося в её геном онкогены (вирусные онкогены). Некоторые вирусы способствуют развитию злокачественных опухолей косвенно, обусловливая фоновый патологический процесс (например, вирусы гепатитов B, C, D, не являясь онкогенными, способствуют развитию рака печени, вызывая цирроз).

В нашей стране вследствие близости с Чернобыльской АЭС онко заболевания, появившиеся вследствие радиационного канцерогенеза, встречаются чаще, чем вызванные другими видами канцерогенеза.

Согласно прогнозам ВОЗ, заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований в мире к 2020 г., по сравнению с 1999 г., возрастет в два раза и достигнет 20 млн. новых случаев и 12 млн. регистрируемых смертей в год. Причем, основной прирост, вследствие недостаточной ранней выявляемости и неэффективности применяемых методов терапии, придется на развивающиеся страны. Свою лепту, за счет увеличения продолжительности жизни и связанного с этим роста численности пожилого населения, внесут и развитые страны.

Распространенность злокачественных опухолей в органах можно представить рисунок 1.

Рисунок 1. Распространенность разных видов рака среди мужчин и женщин [1]

Из представленных на рис. 1 статистических данных можно сделать вывод, что мировое женское и мужское население подвержено одним и тем же онкологическим заболеваниям, практически в одном и том же процентном соотношении.

По данным МЗ ПМР (министерства здравоохранения Приднестровской молдавской республики) интенсивность онкологических заболеваний имеет региональные различия. На территории Приднестровья зонами риска по заболеваемости населения злокачественными новообразованиями являются г. Тирасполь, г. Рыбница, г. Днестровск [2, с. 30]. Это объясняется тем, что данные города являются крупно населенными промышленными центрами. Ежегодно в нашей стране регистрируется около 704 новых случаев онкологических больных. По распространенности ведущее место занимают злокачественные новообразования щитовидной железы, молочной железы и органов ЖКТ. В 2014 г. на диспансерном учете состояло 704 пациентов, умерло от онкологических заболеваний более 31 больных.

Своеобразие клинического течения злокачественных новообразований, особенности их лечения, ограниченный потенциал восстановления

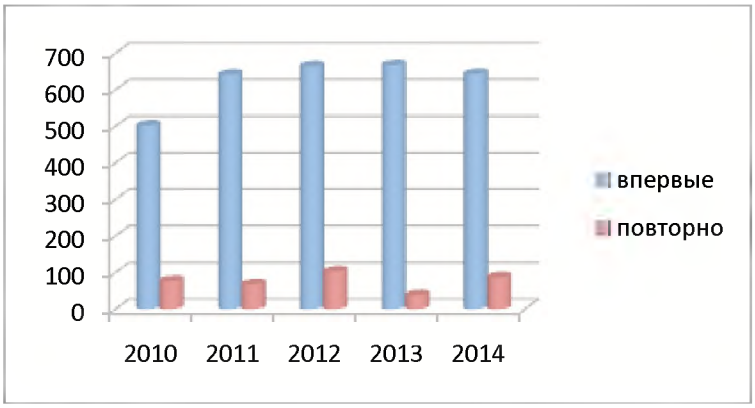


Рисунок 2. Количество населения впервые и повторно поступившие на лечение в онкоотделение

здоровья сопровождаются высоким уровнем инвалидизации и смертности. В целом по Приднестровью пятилетний рубеж дожития после обнаружения онкологического заболевания преодолевают немногим более 50 % больных. Из статистических данных МЗ ПМР по распределению умерших от онко патологий по полу и возрасту следует, что в возрасте от 0 до 29 лет смертность выше на 25 – 50% среди мужского населения, в возрасте от 30 до 49 лет – выше на 25 -30% среди женского населения, в возрасте от 50 до 74 лет – выше на 10,5 – 39% среди мужского населения, в возрасте от 75 – выше на 44% среди женского населения. Преобладание онкобольных женского пола в возрасте от 75 лет объясняется тем, что большую часть населения Приднестровья в возрасте от 75 лет составляют женщины. Динамика регистрации онкобольных по половому признаку (рис. 3).

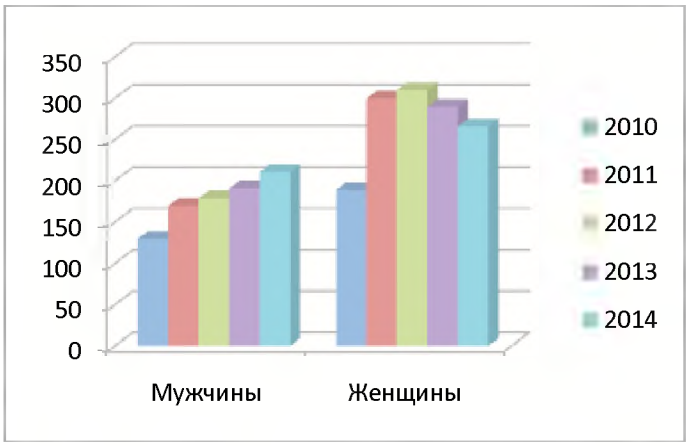


Рисунок 3. Количественное соотношение женщин и мужчин поступивших на онкоучет

Несмотря на серьёзные и разносторонние исследования последних лет, в области онкологии остаётся много проблем, которые в первую очередь связаны с ранней диагностикой и лечением отдельных нозологических форм заболевания.

Мировой опыт показывает, что ранняя диагностика онкозаболеваний и их своевременное лечение инновационными препаратами дают весьма хорошие результаты. Выявление онкозаболеваний на различных стадиях в Приднестровье представлено на рис. 4.

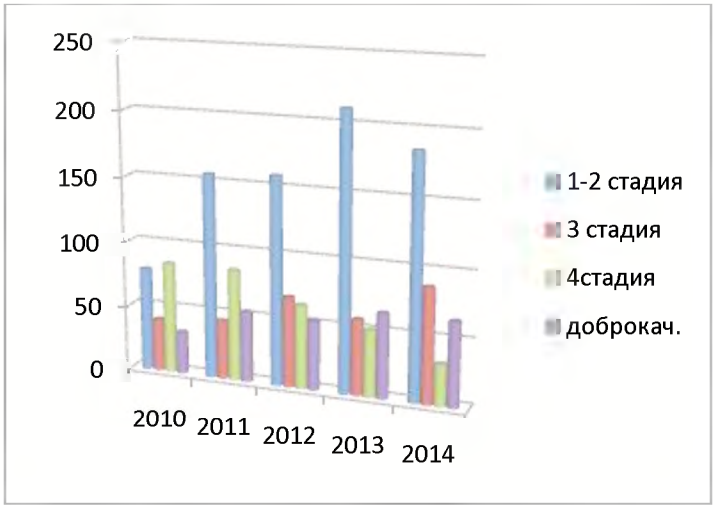


Рисунок 4. Количественное соотношение граждан
по стадиям развитиям онкопатологий

Из рис. 4 видно, что ранняя выявляемость онкозаболеваний с 2010 по 2013 года растет и вместе с тем процент выявляемости заболевания на четвертой стадии уменьшается. Это связано с усовершенствованием методов диагностики, появлением нового оборудования, повышением квалификации медицинского персонала.

Более 10% людей с уже установленным диагнозом в нашей стране, отказываются от лечения в связи с отсутствием средств.

Около 20% людей подозревающих у себя онко заболевания, и возможно имеющие шанс на успешное лечение при обнаружении его на ранней стадии, боятся идти к врачам. Боятся до последнего. Судя по некоторым источникам, обладатели второй группы крови получают диагноз – рак на 32% чаще, чем обладатели первой группы. Люди с четвертой группой крови слышат этот диагноз чаще на 51%, люди с третей группой крови еще чаще на 72%.

К лечебным мероприятиям прибегают при обнаружении опухоли или на более поздних стадиях, используя химио-, радиотерапию и симптоматическое лечение. Важное условие успешного лечения – радикальное хирургическое удаление опухоли. Тактика лечения должна удовлетворять двум основным требованиям: оказывать цитостатический (предотвращающий пролиферацию) и цитотоксический (уничтожающий опухолевые клетки) эффекты. Однако химиотерапия прекращает синтез ДНК и клеточное деление по механизмам, общим для всех клеток, отсюда её токсичность и многочисленные побочные эффекты на здоровые, быстро пролиферирую-

щие клетки: фолликулы волос, клетки кроветворной системы и кишечника. Успешность лечения связана с большей чувствительностью неопластических клеток к лекарствам по сравнению с нормальными, неизменёнными клетками и отражает компромисс между эффективностью в отношении опухоли и токсичностью для здоровых тканей. Лекарственные препараты, используемые в химиотерапии, включают алкилирующие агенты, повреждающие ДНК, антиметаболиты, которые ингибируют синтез нуклеиновых кислот, антибиотики, гормоны и природные соединения, оказывающие разнообразные эффекты.

Несмотря на существенные успехи в области новых препаратов и подходов к лечению опухолей, химиотерапия во многих случаях остаётся малоэффективной.

Главным фактором, ограничивающим успешность применения противоопухолевых средств, является лекарственная устойчивость, которая может быть:

- первичной и, следовательно, свойственной злокачественным клеткам до начала лечения определёнными препаратами;
- вторичной, которая развивается в ответ на введение лекарства.

В последнем случае в начале лечения наблюдается положительная динамика, но через некоторое время она исчезает. Высокая изменчивость опухолевых клеток и постоянно действующий отбор на большую злокачественность приводят к тому, что первоначально с помощью препаратов удаётся уменьшить размер опухоли. Позже оставшаяся субпопуляция клеток становится резистентной сразу к целой группе лекарств, развивается так называемая множественная лекарственная устойчивость (МЛУ), сопровождающаяся рецидивами болезни и метастазами. Так, при лечении, например, винкристином, может возникнуть устойчивость опухолевых клеток не только к самому винкристину, но и к другим препаратам, которые не сходны по структуре и функциям с использованным лекарством, таким как доксорубицин и этопозид. Существуют разные механизмы возникновения МЛУ.

Основу лечения онкологических заболеваний в Приднестровье, помимо лучевого и хирургического методов, составляет лекарственная терапия. Протоколы лечения злокачественных новообразований на территории Приднестровья включают более 60 наименований лекарственных средств. Широко применяются химиотерапевтические, противоопухолевые гормональные средства, иммуномодуляторы и другие группы препаратов.

В большинстве развитых стран существуют госпрограммы, финансирующие закупку препаратов, в том числе современных, для онкобольных. Причина осуществления госпрограммы заключается в сверхвысокой стоимости такого лечения. Современная медикаментозная противоопухолевая терапия для подавляющего большинства онкобольных еще долго будет оставаться недоступной. Эффективные импортные инновационные препараты, находящихся под патентной защитой, очень дороги, а ожидать появления отечественных аналогов в обозримом будущем вряд ли стоит. Доступность лече-

ния снижается также потому, что производители дорогостоящих эффективных лекарственных средств заинтересованы в присутствии на рынке только при гарантированном сбыте продукции. Поэтому в отсутствие достаточного финансирования онкобольные остаются без некоторых современных инновационных препаратов, которые присутствуют за рубежом.

На территории Приднестровья также осуществляется государственная поддержка онкобольных: закупаются онкопрепараты, оплачивается лечение онкобольных на территории других государств, при отсутствии возможного лечения на территории Приднестровья. При помощи и поддержки Российской федерации осуществляется строительство республиканского онкологического центра с новейшим оборудованием.

Немаловажным для выздоровления онкобольных является и социальная реабилитация после любого вида лечения. Ведь большинство, услышав диагноз «Рак», сразу же падают духом. По статистическим данным, более половины больных, перенесших здоровьесберегающие операции, обладают средним или ослабленным реабилитационным потенциалом и нуждаются в психотерапевтической или фармакологической помощи.

Сохранение профессиональной активности способствует повышению жизненного тонуса, поддержанию уверенности больного в восстановлении здоровья. Наиболее существенные изменения социального статуса происходят в социально-трудовой сфере: более половины онкологических больных (50,8 %) прекращают работу еще до заболевания в связи с достижением пенсионного возраста, почти каждый пятый (19,3 %) увольняется по инвалидности, лишь часть больных (23,1 %) продолжают работать на прежнем месте или переходят на более легкую работу [3, с. 101–110].

В социально-бытовой сфере важным фактором для эффективной социальной реабилитации является наличие условий для самообслуживания, наличие изолированного жилья и коммунальных удобств. Более половины больных (55 %) считают, что для выздоровления и возвращения к нормальной жизни после выписки из больницы потребуются дополнительные расходы, при этом 20 % отмечают проблемы материальной обеспеченности.

После выписки из больницы реабилитанты, прежде всего планируют наведение порядка в домашнем хозяйстве, традиционные формы социокультурной адаптации для них пока не являются актуальными.

На основе субъективной оценки больных уточнялась роль различных социальных институтов в восстановлении сил, здоровья.

Для многих пациентов специфической формой психологической защиты является обращение к религии, к Богу, ибо только он дает им исцеление и спасение. Борьба за снижение боли физической и духовной подвигла известного санкт-петербургского врача-психотерапевта А. В. Гнездилова к открытию в 1990 году под Санкт-Петербургом первого российского хосписа, где абсолютное большинство врачей и обслуживающего персонала были людьми верующими, а сам основатель хосписа позднее принял сан священника. Наибольшие надежды на помощь в борьбе с неду-

гом и восстановление своего социального статуса онкологические больные возлагают на семью и ближайших родственников (86 %), при этом 20 % указали на отдаленность проживания от детей и близких родственников. Несмотря на то, что выполнение комплекса реабилитационных мероприятий в значительной степени возлагается на семью, негативное отношение к реабилитанту в семье является исключением. Весьма ограниченные надежды в социальной реабилитации больные возлагают на профсоюз по месту работы (16 %), отделы социальной защиты населения (8 %).

Статистические данные по медико-социальному обследованию онкологических больных позволило сделать следующие выводы.

1. Исследование показало, что у онкологических больных в послеоперационном периоде с объективной необходимостью меняется привычный образ жизни, проблемой становится освоение новых социальных ролей.

2. Высокий уровень бытовой неустроенности и бедности населения ограничивает реабилитационный потенциал онкологических больных, а общество не всегда способно обеспечить им достойное качество жизни.

3. Среди различных социальных институтов семья имеет наибольшее значение в социальной реабилитации онкологических больных.

Вывод. Еще недавно онкологический диагноз звучал как приговор. Сегодня это не так, современная онкология позволяет излечивать многие опухоли в 100% случаев. В онкологии очень важна ранняя диагностика – чем быстрее выявлена опухоль и начато лечение – тем лучше результаты. Современные методы диагностики в онкологии (ультразвуковая диагностика, рентгеновская и магниторезонансная томография, лапароскопия, биопсия, современные лабораторные методы) позволяют выявить онкологические болезни на ранних стадиях и проводить их эффективную профилактику и лечение.

На наш взгляд лечение онкопатологий является очень трудоемким и дорогостоящим процессом, который требует огромных знаний в этой области. Купить их могут лишь немногие, и не секрет, что порой для этого продают недвижимость, влезают в долги. На современном фармацевтическом рынке представлен широкий ассортимент онкопрепаратов и с каждый поколением онкопрепараты становятся все более «щадящими» к организму больного.

Список литературы

1. Северин Е.С. Биохимия / Е.С. Северин. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2003. – 779 с.
2. Здоровье населения Приднестровской Молдавской республики и деятельность учреждений здравоохранения в 2010-2014 годах.
3. Сидоров П.И. Медико-социальная реабилитация в онкологии / П.И. Сидоров, А.Н. Великолуг. – Архангельск: Северный гос. мед. ун-т, 2006. – 96 с.

ОЦЕНКА РЕЗЕРВНО-АДАПТАЦИОННОГО ПОТЕНЦИАЛА СОСУДИСТОЙ СТЕНКИ ИНТАКТНОЙ ВЕНЫ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ВЕНОЗНОМ ТРОМБОЗЕ

Н.В. Короткова, М.А. Фомина, И.В. Матвеева
Рязанский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань,
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО

Резюме. Изучены процессы спонтанной и индуцированной по реакции Фентона окислительной модификации белков при экспериментальном моделировании венозного тромбоза. Отмечено повышение резервно-адаптационного потенциала в гомогенатах интактных вен на 3-и сутки.

Ключевые слова: окислительная модификация белков, резервно-адаптационный потенциал, острый венозный тромбоз.

Актуальность. Главными мишенями для свободных радикалов являются белки вследствие своей высокой чувствительности к активным формам кислорода и азота [1] и широкой распространенности в биологическом материале [2]. Карбонильные производные белков, образующиеся в результате их окислительной модификации, являются стабильными продуктами, в связи с чем используются как маркёры оксидативного стресса (ОС) [3,11,12].

В настоящее время рассматриваются два механизма окислительной модификации белков (ОМБ): агрегация и фрагментация белковых молекул. Альдегид-динитрофенилгидразоны (АДНФГ) являются маркёрами фрагментации и свидетельствуют о ранних стадиях ОС. Кетон-динитрофенилгидразоны (КДНФГ) являются маркёрами агрегации белковых молекул, указывают на более позднюю стадию развития ОС [4].

Вновь образовавшийся пул повреждённых белков активирует протеолиз. Отмечено, что ОМБ, приводящая к изменению их физико-химических свойств, патогенетически тесно связана с эндотелиальной дисфункцией, поэтому может явиться одним из неотъемлемых звеньев в патогенезе такого заболевания, как острый венозный тромбоз.

Цель – оценка резервно-адаптационного потенциала в стенке интактных сосудов крыс в динамике экспериментального венозного тромбоза.

Материалы и методы. В эксперименте использованы 3 – 4-х месячные конвенциональные половозрелые крысы-самки линии Wistar массой 200 – 400 г в количестве 24-х штук.

Содержание и выведение животных из эксперимента осуществлялось в соответствии с «Международными рекомендациями по проведению медико-биологических исследований с использованием животных» (1985) и Приказом МЗ-РФ №267 от 19.06.2003 «Об утверждении правил лабораторной практики».

Воспроизведение тромбоза у экспериментальных животных осуществляли путём лигирования общей подвздошной вены одной конечности

[5]. Материалом для исследования у каждого животного служили гомогенаты интактных вен. В качестве контроля использовались гомогенаты участков общей подвздошной вены интактных животных, сопоставимых по возрасту, массе и условиям содержания с экспериментальными особями.

Концентрацию белка в материале определяли по методу Лоури [6].

Оценка интенсивности окислительной модификации белков в тканях проводилась по методу R.L. Levine [7] в модификации Е.Е. Дубининой [8]. Оценка резервно-адаптационного потенциала производили путём подсчёта соотношения количества карбонильных производных белков при спонтанном и металлкатализируемом окислении. Полученные величины АДНФГинд. и КДНФГинд. принимали за 100% и рассчитывали процентное соотношение для АДНФГ и КДНФГ основного и нейтрального характера [9].

Статистическая значимость выявленных изменений оценивали с использованием U-критерия Манна-Уитни, значимыми считались отличия при значениях $p<0,05$.

Результаты и их обсуждение. Изучение процессов ОМБ в стенке интактных вен крыс в динамике экспериментально моделированного тромбоза позволило нам выявить следующие тенденции.Общее количество белка в стенке интактных вен крыс отличалось достоверным снижением по сравнению с контрольной группой, что согласуется с данными литературы [4].

На первые сутки отмечалось повышение ОМБ, и наибольшее повышение демонстрировали КДНФГ основного характера в случае спонтанной ОМБ, и АДНФГ нейтрального характера в случае индуцированного окисления белка (Таблица 1). Повышение интенсивности ОМБ может рассматриваться, как компенсаторная реакция организма, направленная на повышение резерва системы антиоксидантной защиты (АОЗ).

Известно, что активированные лейкоциты выделяют ряд протеолитических ферментов, которые и способствуют активному очаговому отторжению эндотелия; это указывает на активацию процессов протеолиза в цитоскелете эндотелия и развитие эндотелиальной дисфункции [10].

На третьи сутки моделирования венозного тромбоза мы отметили достоверное по сравнению с первыми сутками снижение АДНФГ и КДНФГ нейтрального характера при спонтанном окислении, что может свидетельствовать о включении факторов АОЗ.

В то же время ОМБ, индуцированная по реакции Фентона, демонстрировала значительный подъём. К пятым суткам венозного тромбоза отмечалось относительное снижение уровня ОМБ, которое, однако, не достигало уровня контрольных значений.

Показано, что окисленные белки демонстрируют повышенную восприимчивость к агрегации и адсорбции на поверхности клеток крови, что может привести к нарушению реологических свойств крови и генерализации процессов окислительного стресса. Возможно, в связи с этим мы и наблюдали изменения процессов ОМБ в интактных венах.

Таблица 1

Изменение спонтанной и металлкатализируемой окислительной модификации белков в стенке интактных вен крыс в динамике экспериментального тромбоза на 1-е, 3-и и 5-е сутки, ед.опт. пл./мг белка, (M±s)

Длина волны, группы	**λ 356**	**λ 370**	**λ 430**	**λ 530**
	АДНФГн	КДНФГн	АДНФГо	КДНФГо
Контрольная группа, спонтанная n=6	0,56 ± 0,54	0,61 ± 0,51	0,40 ± 0,34	0,27 ± 0,26
Контрольная группа, металлкатализ. n=6	0,58 ± 0,48	0,63 ± 0,51	0,55 ± 0,38	0,37 ± 0,27
1 сутки, спонтанная, n=6	2,04 ± 1,33*	2,01 ± 1,3*	1,47 ± 1,0*	1,14 ± 0,72*
1 сутки, металлкатализ, n=6	2,46 ± 1,58*	2,45 ± 1,39*	1,26 ± 1,13	1,26± 1,13
3 сутки, спонтанная, n=6	1,1 ± 1,0	1,15 ± 0,73	1,42 ± 1,18*	1,76 ± 1,09*
3 сутки, металлкатализ, n=6	8,17 ± 3,45*	7,82 ± 3,61*	6,03 ± 2,1*	4,76 ± 1,17*
5 сутки, спонтанная, n=6	1,13 ± 0,9	1,22 ± 1,07*	0,85 ± 0,83	0,33 ± 0,27
5 сутки, металлкатализ, n=6	1,36 ± 0,6*	1,52 ± 0,66*	1,21 ± 0,32*	0,36 ± 0,22
Примечание: * – статистически значимые отличия от контрольной группы (p<0,05).				

При изучении резервно-адаптационного потенциала (рис. 1-2) мы отметили, что соотношение АДНФГ/АДНФГ инд. нейтрального и основного характера, соотношение КДНФГ/КДНФГинд.нейтрального и основного характера максимально снижаются в интактной вене на третьи сутки. Всё это может свидетельствовать о повышении резервно-адаптационных возможностей в интактной вене на третьи сутки.

Выводы

1. Уровень значений спонтанной и индуцированной по реакции Фентона окислительной модификации белков в интактных венах на 1, 3, 5-е сутки экспериментального венозного тромбоза превышает уровень контрольных значений, что может быть связано с активацией протеолиза в эндотелии сосуда.

2. Процентное соотношение АДНФГ/АДНФГ инд. нейтрального и основного характера, КДНФГ/КДНФГ инд.нейтрального и основного характера снижаются и имеют наименьшие значения в интактной вене на третьи сутки венозного тромбоза, что может свидетельствовать о повышении резервно-адаптационного потенциала в указанные сроки.

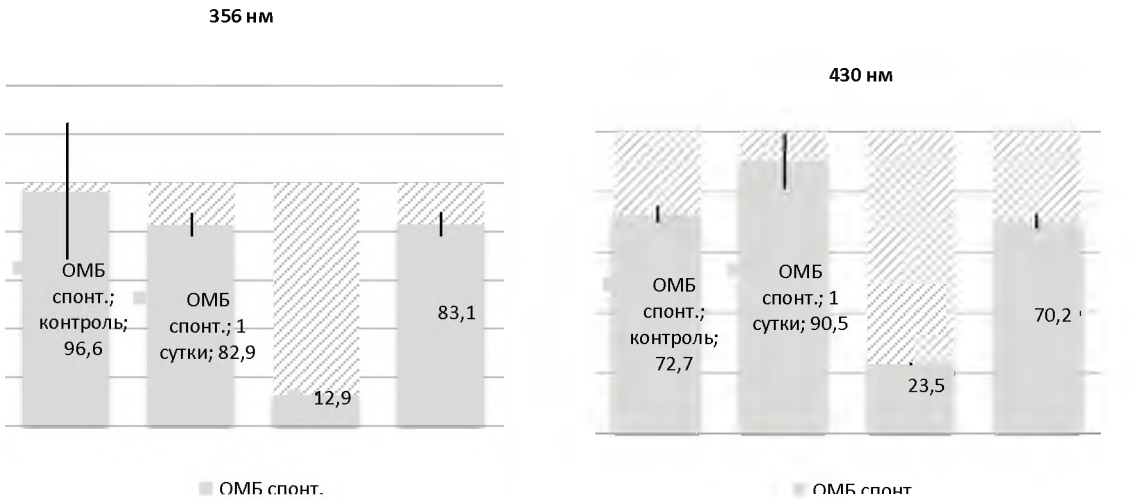


Рисунок 1. Отношение значений АДНФГ нейтрального (слева) и основного (справа) характера, полученных при спонтанном окислении, к значениям, полученным при индуцированном окислении белка в интактной вене

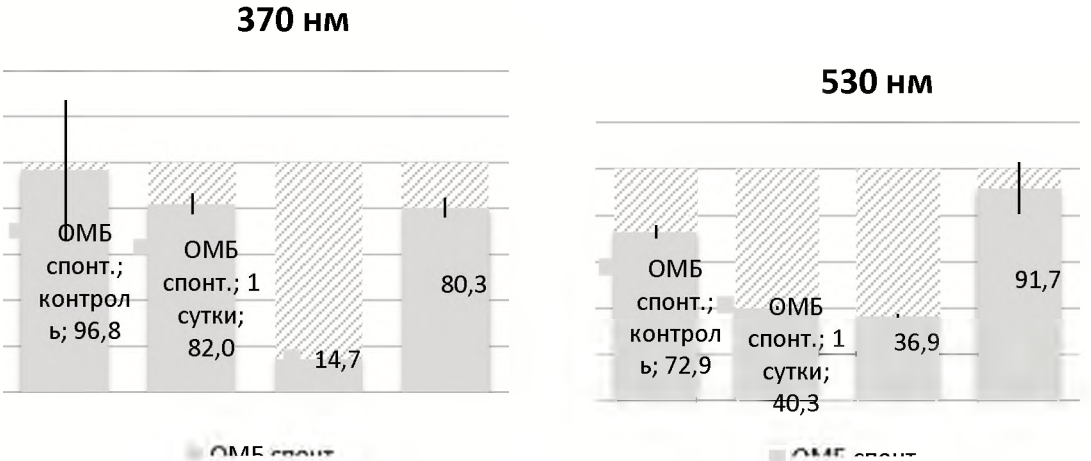


Рисунок 2. Отношение значений КДНФГ нейтрального (слева) и основного (справа) характера, полученных при спонтанном окислении, к значениям, полученным при индуцированном окислении белка в интактной вене

Список литературы

1. Čolak E. New markers of oxidative damage to macromolecules / E. Čolak // JMB. – 2008. – P. 1-16.
2. Hawkins Clare L. Quantification of protein modification by oxidants / Clare L.Hawkins, Philip E. Morgan, Michael J. Davies // Free Radical Biology & Medicine. – 2009. – Vol. 46. – P. 965-988.
3. Лущак В.И. Свободнорадикальное окисление белков и его связь с функциональным состоянием организма / В.И. Лущак // Биохимия. – 2007. – Т. 72, вып. 8. – С. 995-1017.
4. Токсикологические последствия окислительной модификации белков при различных патологических состояниях (обзор литературы) / Ю.И. Губский [и др.] // Пробл. токсикологии. – 2005. – № 3. – С. 20-27.

5. Структурные изменения сосудистой стенки при экспериментальном моделировании венозного тромбоза / Ю.С. Небылицин [и др.] // Медицинский журнал. – 2007. – № 4. – С. 82-86.
6. Protein measurement with the Folin Phenol Reagent / O.H. Lowry [et al.] // J. Biol. Chem. – 1951. – №193. – P. 265-275.
7. Levine R.L. Carbonyl modified proteins in cellular regulation, aging, anddisease / R.L. Levine // Free Radic. Biol. Med. – 2002. – Vol. 32. – P. 790-796.
8. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения / Е.Е. Дубинина [и др.] // Вопросы мед. химии. – 1995. – Т. 41, № 1. – С. 24-26.
9. Никитина Ю.В. Изменение окислительных процессов в ткани головного мозга и крови крыс в раннем онтогенезе / Ю.В. Никитина, И.В. Мухина // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2009. – №6(1). – С. 124-131.
10. Маркауцан П.В. Структурная организация стенки вены при замедлении кровотока и тромбозе в эксперименте: автореф. дис. канд. мед.наук / П.В. Маркауцан. – Минск, 2004.
11. Окислительная модификация белков: проблемы и перспективы исследования /Л.Е. Муравлёва [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2010. – № 1. – С. 74-78.
12. Теплов С.А. Влияние ультрадисперсных порошков меди на окислительную модификацию белков сердца крыс / С.А. Теплов, Ю.В. Абаленихина, Ю.Н. Иванычева // Наука молодых. – 2015. – № 1. – С. 18-24.

ОСОБЕННОСТИ КАТАБОЛИЗМА ЭНДОГЕННЫХ АЛЬДЕГИДОВ ПРИ СТРЕССЕ

Ю.А. Марсянова
ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань,
кафедра биологической химии с курсом КЛД ФДПО

Резюме. При стрессе интенсивно протекают свободнорадикальные процессы, что является причиной развития патологий. Одним из повреждающих факторов является образование альдегидов.

Ключевые слова: альдегиды, стресс, альдегидредуктаза, глутатионтрансфераза.

Роль стресса в возникновении целого ряда заболеваний установлена исследованиями как зарубежных, так и отечественных авторов.

Одним из центральных неспецифических звеньев патогенеза стрессорного повреждения внутренних органов является стимуляция в них свободнорадикальных процессов (возникновение “оксидативного стресса”) [1]. По результатам собственных экспериментальных исследований, Ф.З. Меерсон предложил использование антиоксидантов для лечения и профилактики стрессорных поражений сердца и других внутренних органов [2].

Этот подход в клинической практике позволил добиться положительных сдвигов в комплексной терапии ряда заболеваний. Однако к настоящему времени в литературе все чаще говорится о том, что использование антиоксидантов в лечении внутренних заболеваний стрессорной этиологии, не дает желаемого эффекта, что вызывает вопрос о причинах несоответствия представлений о роли свободных радикалов в патогенезе и недостаточной клинической эффективностью использования антиоксидантов.

Согласно данным литературы, свободнорадикальные процессы принимают участие не только в патогенезе, но и в адаптации тканей внутренних органов к негативному эффекту стрессоров. [3, 4].

Поэтому, стимуляция свободнорадикальных процессов в тканях внутренних органов приобретает важную роль в их защите от стрессорного повреждения. В процессе реализации данного адаптивного сдвига, в клетках накапливаются цитотоксические карбонильные продукты превращения свободнорадикальных метаболитов. Как следствие того, в клетках формируется состояние, которое определяется термином “карбонильный стресс” [5, 6]. Именно он может выступает в качестве универсального звена повреждения при заболеваниях, возникающих на фоне стресса.

Основные пути образования карбонильных веществ в клетках

Карбонильный стресс – состояние, которое сопровождается увеличением содержания карбонильных продуктов свободнорадикального окисления в организме. К ним относятся альдегиды, кетоны и др. Наиболее широкое распространение среди карбонильных веществ в клетках имеют альдегиды [7].

В организме синтезируются различные альдегиды. Распространёнными представителями являются 4-гидроксиноненаль, малоновый диальдегид, глиоксаль, метилглиоксаль, акролеин и др. [8, 9] (рис. 1).

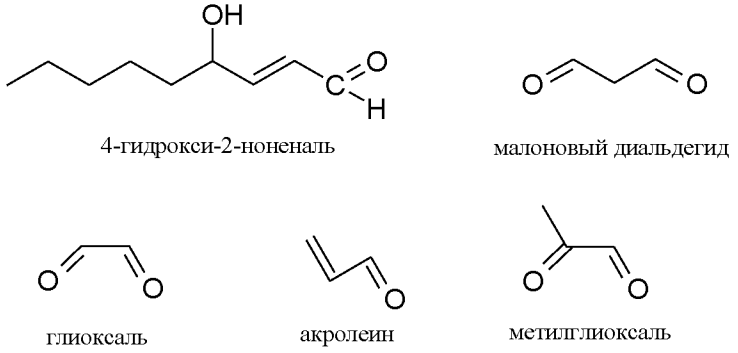


Рис. 1. Наиболее распространенные альдегиды

Известно много метаболических путей, приводящих к образованию альдегидов, среди них синтез карбонильных продуктов метаболизма в процессе свободнорадикального (перекисного) окисления липидов. В этом процессе синтезируется ряд альдегидов, среди которых особое место занимают малоновый диальдегид, 4-гидроксиноненаль и многие другие [9]. Так же альдегиды синтезируются при участии аминокислот и моносахаридов.

Реакции, в которых происходит синтез альдегидов, либо протекают с участием свободных радикалов, либо связаны с использованием метаболитов свободнорадикального окисления – активных форм хлора и др. [7].

Таким образом, при оксидативном стрессе в клетках интенсивно происходит синтез альдегидов. На основании этого можно предположить, что существует причинно-следственная связь между оксидативным и карбонильным стрессом.

Механизмы повреждающего действия карбонильных веществ

Наличие карбонильной группы в молекуле альдегида обуславливает их высокую реакционную способность. За счет высокой электрофильности карбонильной группы альдегиды имеют возможность реагировать с нуклеофильными молекулами, например, с аминокислотами, азотистыми основания нуклеотидов, углеводами. Поэтому альдегиды способны взаимодействовать с различными компонентами клетки. Например, реагируя со свободными амино- и сульфгидрильными группами радикалов аминокислот, они образуют аддукты с внутриклеточными белками, которые, вследствие этого меняют свои свойства [10]. Это отражается в изменении каталитических свойств ферментов, сродства рецепторов к их лигандам и др. Подобные сдвиги формируют предпосылки для изменения состояния метаболических потоков в клетках [7].

Бифункциональные альдегиды (малоновый, глутаровый и др.) обладают свойством образовывать поперечные сшивки между полипептидными цепями [11]. За счет этого происходит агрегация внутриклеточных белков, что приводит к уменьшению их растворимости и изменению свойств.

Нуклеиновые кислоты образуют аддукты с азотистыми основаниями мононуклеотидов. Это даёт начало возникновению точечных мутаций, хромосомных аббераций, способствует возникновение поперечных сшивок. Результатом этих процессов является изменение скорости репликации и транскрипции [12].

Свойство эндогенных альдегидов образовывать аддукты с белками, нуклеиновыми кислотами и углеводами [7, 8] предопределяет их цитотоксическое и генотоксическое действие (рис. 2). Карбонильные вещества являются стабильными метаболитами, что усиливает их побочное действие на клетки.

Учитывая существование цитотоксических и генотоксических свойства альдегидов, следует заметить, что их реализация в клетках зависит от сочетанного целого ряда факторов. Особое роль играют те из них, которые направлены на утилизацию (обезвреживание) карбонильных веществ.

Механизмы обезвреживания карбонильных веществ

Избавляясь от карбонильных продуктов свободнорадикального окисления, клетка защищается себя от повреждений, возникающих при оксидативном стрессе. Существуют три основных пути катаболизма альдегидов, связанные со следующими ферментами: альдегиддегидрогеназа, альдокеторедуктаза и глутатионтрансфераза (рис. 4) [8].

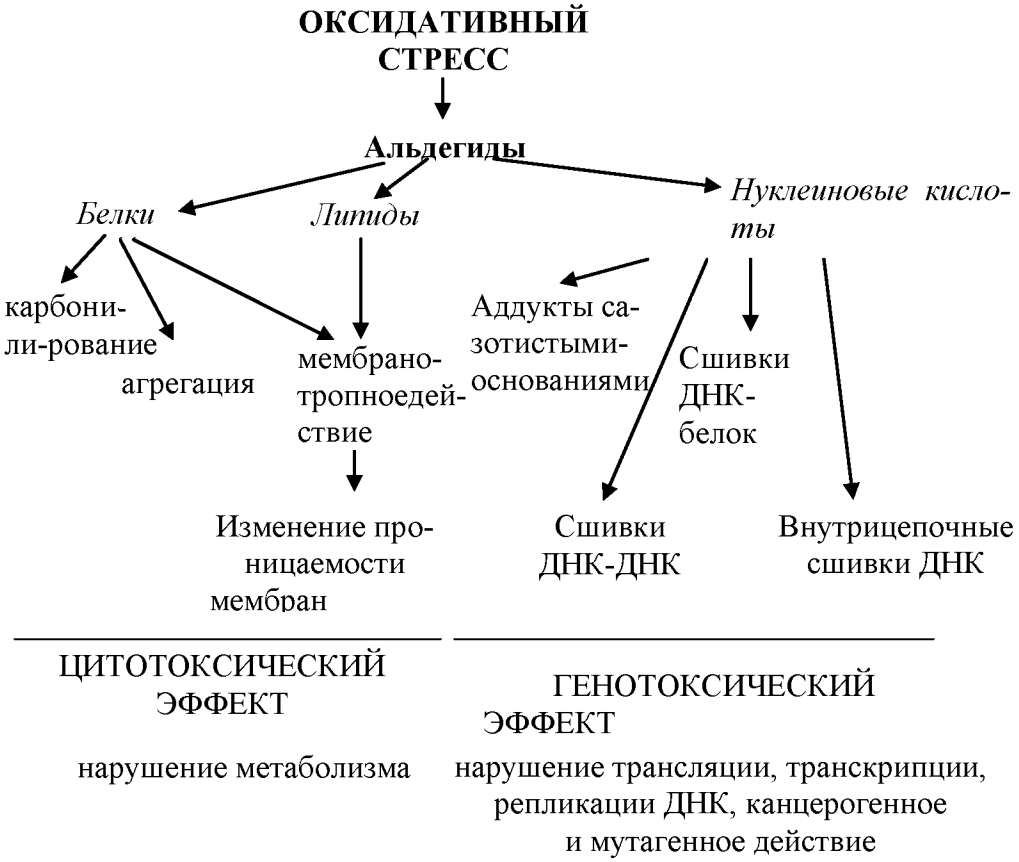


Рис. 2. Механизмы цитотоксического и генотоксического эффекта альдегидов

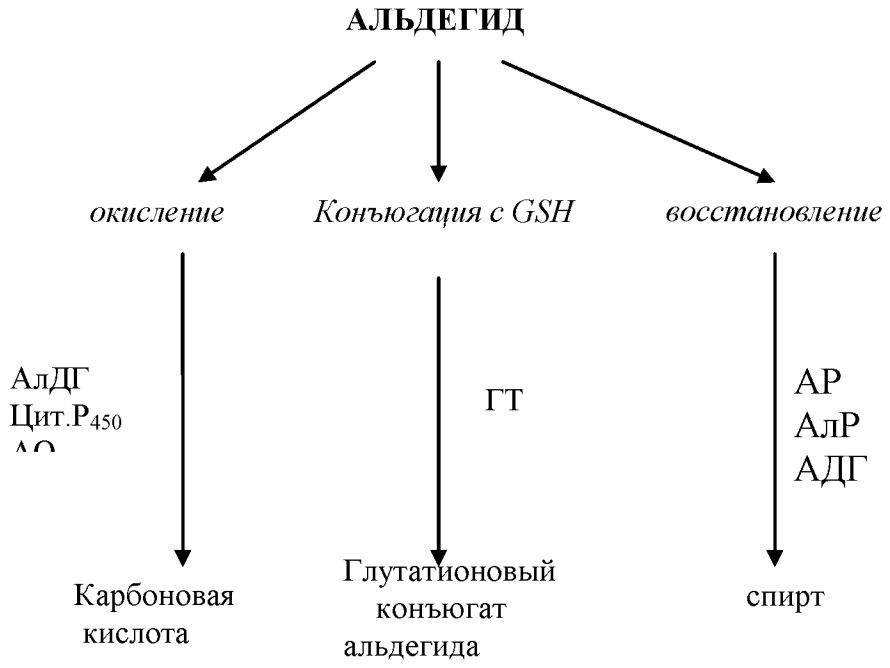


Рис. 4. Основные пути катаболизма альдегидов в клетках (GSH – восстановленный глутатион, ГТ – глутатионтрансфераза, АлДГ – альдегиддегидрогеназа, АР – альдегидредуктаза, АлР – альдозоредуктаза, АДГ – алкогольдегидрогеназа, АО – альдегидоксидаза, Цит.$Р_{450}$ – цитохром $Р_{450}$)

Наибольшее значение среди перечисленных путей имеет путь, связанный с глутатионтрансферазой, ферментом, который обеспечивает конъюгацию альдегидов с глутатионом (рис. 5).

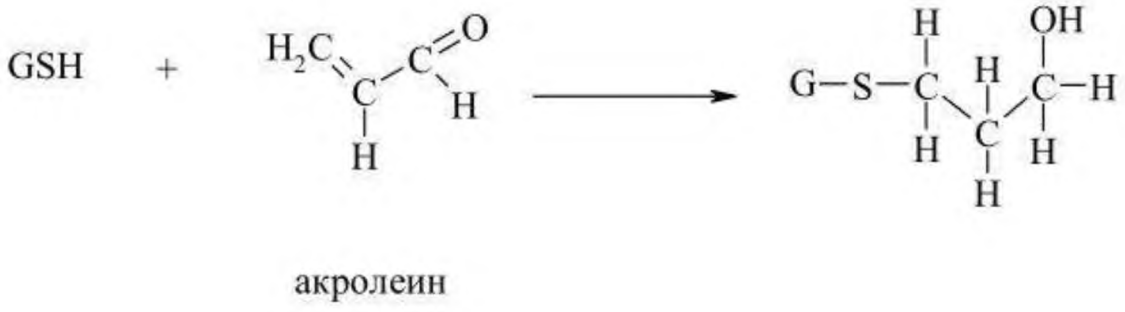


Рис. 5. Схема образования конъюгата акролеина с глутатионом

Следует заметить, что различные альдегиды обладают неодинаковой способностью к конъюгации с глутатионом в глутатионтрансферазной реакции. Наиболее высокое сродство глутатионтрансферазы и, в том числе, изофермент А 4-4, проявляют по отношению к 4-гидроксиалкеналям (ноненаль, дециналь и др). Далее конъюгаты подвергаются экскреции из организма через почки с мочой [7].

В литературе встречаются также многочисленные указания на роль альдегидредуктазы (рис. 6) в защите миокардиальных клеток от их повреждения альдегидами, а так же в защите мозга от действия высокотоксичного ацетальдегида (в системе этанол — ацетальдегид) [13].

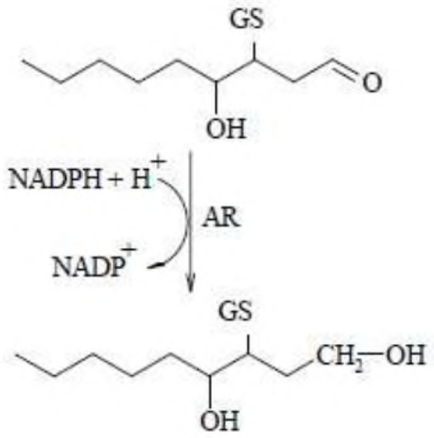


Рис. 6. Схема восстановления метилглиоксаля

К альдегидам, используемым в качестве субстратов, относятся пентаналь, октаналь, ацетальдегид, фенилглиоксаль, метилглиоксаль, глиоксаль [7].

Выводы. Повреждающее действие стресса связано с накоплением карбонильных продуктов, возникающих при свободнорадикальном окислении. Поэтому, одним из факторов успешной защиты клеток тканей от повреждений, возникающих при стрессе, являются механизмы, обеспечивающие утилизацию альдегидов. Стимулирование ферментативных систем

катаболизма «карбонильных продуктов» способствует повышению устойчивости тканей к повреждениям при стрессе.

Список литературы

1. Локальные изменения свободнорадикального статуса роговицы при экспериментальной гнойной язве [Текст] / А.В. Колесников [и др.] // Наука молодых (ERUDITIO JUVENIUM). – 2013. – №1. – С. 28-32.
2. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З. Меерсон. – М.: Медицина, 1984. – 270 с.
3. Droge W. Radicals in the physiological control of cell function / W. Droge // Physiol. Rev. – 2002. – Vol. 82, №1. – P. 47-95.
4. Reactive oxygen species, cell signaling, and cell injury / K. Hensley [et al.] // Free Radical. Biol. Med. – 2000. – Vol. 28, № 10. – P. 1456-1462.
5. Механизмы окислительной модификации липопротеидов низкой плотности при окислительном и карбонильном стрессе / В.З. Ланкин [и др.] // Биохимия. – 2007. – Т. 72, № 10. – С. 1330-1341.
6. The short-term effects of soybean intake on oxidative and carbonyl stress in men and women / P. Celec [et al.] // Molecules. – 2013. – Vol. 18, №5. – P. 5190-5200.
7. Давыдов В.В. Физиологическая и патофизиологическая роль эндогенных альдегидов / В.В. Давыдов, А.И. Божков, О.К. Кульчицкий. – Palmarium Academic Publishing, 2012. – 240 с.
8. O'Brein P.J. Aldehyde sources, metabolism, molecular toxicity mechanisms, and possible effects on human health / P.J. O'Brein, A.G. Siraki, N. Shangari // Clin. Rev. Toxicol. – 2005. – № 5. – P. 669-672.
9. Spiteller G. Lipid peroxidation in aging and age-dependent diseases / G. Spiteller // Exp. Gerontol. – 2001. – Vol. 36, №9. – P. 1425-1457.
10. Состояние окислительного карбонилирования белков мышечных тканей при выраженной гипергомоцистеинемии [Текст] / А.С. Ильичева, М.А. Фомина // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2015. – №1. – С. 45-51.
11. Lassen N. Antioxidant function of corneal ALDH3A1 in cultures atromal fibroblasts / N. Lassen, A. Pappa, QW.J. Black// FreeRadic. Biol. Med. – 2006. – Vol. 41, №9. – P. 1459-1469.
12. Kurtz A.J. 1,N-deoxyguanosine adduct of acrolein, crotonaldehyde, and trans-4-hydroxynonenal cross-link to peptides via Schiff-base linkage / A.J. Kurtz, R.S. Lloyd // J. Biol. Chem. – 2003. – Vol. 278, №8. – P. 5970-5976.
13. Хронический оксидантный стресс и особенности биотрансформации эндотоксинов у больных с очаговым нарушением неврологических функций / В.В. Алферова [и др.] // Соц. и клин. психиатрия. – 2011. – №1. – С. 25-28.

СООТНОШЕНИЕ МЕЖДУ УРОВНЕМ СВОБОДНО-РАДИКАЛЬНОГО ОКИСЛЕНИЯ У ЛИЦ С ГЕРОИНОВОЙ НАРКОМАНИЕЙ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ГЕНДЕРНЫХ РАЗЛИЧИЙ И НАЛИЧИЯ РЕМИССИИ

Р.В. Палиоха
ГБОУ ВПО «Южно-Уральский государственный медицинский университет Минздрава России»

Резюме. Гендерные различия у больных с героиновой наркоманией затрагивают карбонилирование белков и не касаются перекисного окисления липидов. У мужчин с героиновой зависимостью содержание карбонилированных белков обратно коррелирует с содержанием кортикостерона. В отличие от мужчин для женщин не характерно наличие подобных корреляций.

Ключевые слова: героиновая наркомания, кортизол, перекисное окисление липидов, карбонилирование белков.

Актуальность. В последнее десятилетие отмечен рост героиновой наркомании, которая стабилизировалась на высоком уровне [5]. В настоящее время показано, что гендерные различия оказывают заметное влияние на клинические проявления героиновой наркомании. Имеются данные о том, что у больных женского пола быстрее формируется систематический прием опиоидов, а ремиссии наступают значительно реже[8]. В связи с этим уместно отметить, что потребление у женщин психоактивных веществ часто сопряжено с ранее пережитыми психотравмирующими событиями. У лиц зависимых от психоактивных веществ переживаемые стрессы сопряжены с активацией гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы (ГГНС), что сопровождается повышенным уровнем кортизола [6]. Глюкокорткоиды являются гормонами долговременного характера [7]. Поэтому они могут быть вовлечены в формирование характерных для наркотической зависимости стойких психосоматических нарушений. Однако низкий уровень глюкокортикоидов также может быть фоном способствующим развитию характерных для наркомании поведенческих расстройств. В частности среди пациентов с синдром посттравматического стрессорного расстройства встречаются наркозависимые лица с низким уровнем кортизола[9]. На молекулярном уровне вызванные злоупотреблениями наркотиков нарушения ассоциируются с изменениями свободно-радикального окисления[1]. По- видимому, регуляция двух основных звеньев свободно-радикального окисления, а именно перекисного окисления липидов (ПОЛ) и карбонилирования белков имеет глюкокортикоид-зависимый характер. Ранее это было показано в отношении алкогольных психозов[4]. Вполне возможно, что при героиновой наркомании гендерные различия по времени наступления ремиссии связаны с гендерными различиями по уровню кортизола и свободно-радикального окисления. Однако гендерные особенности соотношения между уровнем кортизола и содер-

жанием молекулярных продуктов ПОЛ и карбонилирования белков при героиновой наркомании остаются до сих пор не изученными.

Материалы и методы. На базе Челябинской областной клинической наркологической больницы проведено проспективное, рандомизированное, двойное слепое обследование 82 пациентов обоего пола страдающих наркотической зависимостью (героиновая наркомания). Исследуемую выборку составило 49 мужчин и 33 женщины. В сыворотке крови содержание кортизола определяли флуориметрическим методом [1]. Содержание молекулярных продуктов ПОЛ определяли по методике И.А.Волчегорского и соавторов [2]. Содержание карбонилированных белков определяли по методике Е.Е. Дубининой и соавторов [5].

Для определения статистически значимых различий между двумя сравниваемыми группами использовали критерии Манна-Уитни (U). Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$. Статистические взаимосвязи изучали при помощи непараметрического корреляционного анализа, выполняя расчёт коэффициентов корреляции рангов по Спирмену (R_s) и Кенделлу (r_k). Все математические расчёты выполнены с использованием персонального компьютера в среде Windows с помощью пакета прикладных программ Statistica for Windows, версия 6.0.

Результаты и их обсуждение. Героиновая зависимость сопровождается активацией ГГАС, что проявлялось в повышенном уровне кортизола в общей выборке. Причем у мужчин и женщин одинаковые темпы прироста кортизола в плазме крови. У пациентов наркологического стационара развитие гиперкортикоидного состояния сопровождалось активацией окисления белков при неизменном уровне липопероксидации. Установлено увеличение содержания продуктов окислительной модификации белка, проявлявшихся в увеличении уровня кислых и нейтральных кетон-линитрофенилгидразонов, а также альдегиддинитрофенилгидразонов. Синхронный прирост содержания уровня кортизола и карбонилированных белков наблюдался как у мужчин, так и у женщин. Однако по содержанию кортизола не было обнаружено гендерных различий. В тоже время прирост уровня карбонилированных белков более выражен у мужчин.

Таблица 1

Изменения содержания карбонилированных белков в зависимости от уровня кортизолемии при героиновой наркомании.

Показатель	**Контроль** (n=20)	**Героиновая наркомания** *Общая выборка* (n=82)	**Героиновая наркомания** *Кластер 1* (n=50)	**Героиновая наркомания** *Кластер 2* (n=32)
Кортизол, нмоль/л	387,958± 27,34	549,16± 23,907*	690,9± 15,76***	219,99± 12,46*
Карбонилированные белки мкмоль/ г белка	130,35±5,65	240,35± 8,61*	201,34± 13,41***	308,15± 14,94*

При использовании кластерного анализа, общую выборку пациентов удалось разделить на два кластера по уровню кортизола. Кластер 1 содержит пациентов с относительно высоким уровнем кортизола, а кластер 2 – с относительно низким. Сопоставляя изменения уровня кортизола в исследуемых группах с уровнем окислительной модификации белка, следует обратить внимание на то, что наиболее высокому уровню кортизола соответствует наиболее высокое усиление окислительной модификации белка (карбонилированные белки), а наименее выраженному увеличению уровня кортизола соответствует наименее выраженная ОМБ. Эта закономерность подтверждается корреляционным анализом.

У пациентов с наркотической зависимостью обнаружена обратная корреляционная зависимость между уровнем кортизола и содержанием карбонилированных белков (R_s = -0,62, P = 0,014). Причем, у пациентов первого кластера, с относительно высоким содержанием кортизола в крови коэффициент корреляции был выше (R_s = -0,721 , P = 0,009), а у пациентов второго кластера и в контрольной группе данная корреляционная зависимость не обнаруживалась. По данным кластерного анализа аналогичные изменения обнаружены для гептан-растворимых кетодиенов и сопряженных триенов. Это проявлялось в том, что внимание на то, что наиболее высокому уровню кортизола соответствует наиболее высокое повышение содержания этой категории продуктов ПОЛ.

У мужчин кластер 1 с относительно высоким содержанием кортизола характеризовался более низким уровнем карбонилированных белков по сравнению с кластером 2 с относительно низким содержанием кортизола. Причем содержание алифатических кетондинитрофенилгидразонов нейтрального характера во 2 кластере было в 2,5 раза выше чем в первом кластере. Аналогичная закономерность наблюдалась для кетондинитрофенилгидразонов основного характера, а также для альдегиднитрофенилгидразонов. При этом между 1 и 2 кластером отсутствовали статистически значимые различия по содержанию молекулярных продуктов ПОЛ. У женщин отсутствовали статистически значимые различия между кластерами с высоким и низким содержанием кортизола как по содержанию карбонилированных белков, так и по содержанию молекулярных продуктов ПОЛ. Соответственно содержание карбонилированных белков у мужчин 2 кластера была выше чем у женщин 2 кластера. Напротив, между мужчинами и женщинами 1 кластера отсутствовали гендерные различия по содержанию карбонилированных белков. Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что характерный для 2 кластера повышенный уровень какрбонилированных белков на фоне относительного снижения содержания кортизола типичен только для мужчин. Данные кластерного анализа свидетельствуют о причастности повышенного уровня кортизола к снижению свободно-радикального окисления при героиновой зависимости. У мужчин, употребляющих психоактивные вещества, с ростом уровня кортизола снижалось содержание карбонилированных белков в крови. У жен-

щин содержание карбонилированных белков не было чувствительным к изменениям уровня кортизола. Особенно важно, что у женщин с отсутствием ремиссии заметно повышен уровень карбонилирования белков по сравнению с женщинами, у которых ремиссия сформировалась спонтанно. У мужчин не наблюдалось подобное соотношение. Это свидетельствует о гендерных особенностях окислтельного стресса при отсутствии ремиссии.

Выводы

1. Для мужчин с героиновой зависимостью прирост уровень карбонилирования белков чувствителен к изменению содержания кортизола. У лиц с высоким содержанием кортизола снижен уровень окисления белков, а у лиц со сниженным содержанием кортизола наблюдается повышенный уровень карбонилирования белков.

2. У женщин с героиновой зависимостью уровень карбонилирования белков не чувствителен к изменениям уровня кортизола. Для женщин с отсутствием ремиссии характерен повышенный уровень карбонилирования белков.

Список литературы

1. Балашов Ю.Г. Флюорометрический микрометод определения кортикостероидов: сравнение с другими методами / Ю.Г. Балашов // Физиологический журнал СССР. – 1987. – № 12. – С. 280-283.
2. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан – изопропанольных экстрактах крови / И.А. Волчегорский [и др.] // Вопр. мед. химии. – 1989. – № 1. – С. 127-131.
3. Окислительная модификация белков сыворотки крови человека, метод её определения / Е.Е. Дубинина[и др.] // Вопр. мед. химии. – 1995. – № 41. – С. 24-26.
4. Мингазов А.Х. Клинико-динамические особенности алкогольных психозов у мужчин и женщин позднего возраста / А.Х. Мингазов, Е.Н. Кривулин, Н.А. Бохан // Наркология. – 2014. – №4. – С. 52-56.
5. Распространенность злоупотребления наркотиками по регионам мира Распространенность злоупотребления наркотиками по регионам мира / О.А. Сафонов [и др.] // Наркология. – 2011. – №2. – С. 47-55.
6. Таганович А.Д. Патологическая биохимия / А.Д. Таганович, Э.И. Олецкий, И.Л. Котович; под общ. ред. А.Д. Тагановича. – М.: Бином, 2013. – 448 с.
7. Теппермен Дж. Физиология обмена веществ и эндокринной системы/ Дж. Теппермен, Х. Теппермен. – М.: Мир, 1989. – 656 с.
8. Гендерные особенности героиновой наркомании / И.А. Уваров [и др.] // Вестник психиатрии и психологии Чувашии. – 2011. – №7. – С. 98-103.
9. Yehuda R. Minireview: Stress-related psychiatric disorders with low cortisol levels: ametabolichypothesis / R. Yehuda, J. Seckl // Endocrinology. – 2011. – Vol. 152, № 12. – P. 4496-4503.

ОГЛАВЛЕНИЕ

Матвеева И.В., Рязанова Е.А. Академик РАН Е.А. Строев – выдающийся научный деятель, организатор, педагог..... 3

Раздел 1. Лизосомальные и митохондриальные механизмы адаптивных биохимических процессов..... 8

Абаленихина Ю.В., Фомина М.А., Матвеева И.В. Оценка состояния лизосомального цистеинового протеолиза селезенки в условиях моделирования дефицита синтеза оксида азота разной выраженности..... 8

Матвеева И.В., Марсянова Ю.А. Физиологическая роль катепсина D..... 12

Арапова А.И., Фомина М.А. Аутокаталитический процессинг лизосомальных цистеиновых протеиназ миокарда крыс..... 15

Теплов С.А., Абаленихина Ю.В., Фомина М.А. Влияние L-NAME на окислительную модификацию белков печени и почек крыс..... 21

Звягина В.И., Бельских Э.С., Медведев Д.В. Изменения биохимических показателей в митохондриях эпидидимиса крыс при экспериментальном снижении синтеза NO (II)..... 25

Ходос О.А. Активность цистеиновых протеиназ и их эндогенных ингибиторов при хронической алкогольной интоксикации..... 30

Ильичева А.С., Фомина М.А. Изменение активности лизосомального цистеинового протеолиза миокарда крыс при тяжелой форме гомоцистеинемии..... 34

Раздел 2. Изучение биохимических аспектов патогенеза заболеваний в клинических и экспериментальных исследованиях..... 39

Акимов П.А., Терехина Н.А. Биохимические исследования при ожоговой травме в постмортальном периоде..... 39

Балдина О.А., Селезнева И.А., Козлов А.В., Доменюк Д.А., Ивченко Л.Г. Активность ферментов эритроцитов с учетом групповой принадлежности крови..... 43

Калинин Р.Е., Грязнов С.В., Пшенников А.С. К вопросу о возможности оценки функции эндотелия при хирургическом лечении пациентов с хронической венозной недостаточностью нижних конечностей, осложненной трофическими язвами..... 47

Калинин Р.Е., Пшенников А.С., Сучков И.А., Кондрашова К.С. «Шапероны» в сосудистой хирургии..... 51

Максименко А.В. Сосудопротективное действие биферментного конъюгата..... 56

Телепнева Е.Ю. Особенности холестеролового профиля у лиц с гипохолестеролемией различного генеза..... 58

Алекберова Г.И., Пушкин И.А. Биохимические аспекты патогенеза некариозных поражений зубов у пациентов с хронической почечной недостаточностью..... 62

Бердиев Р.М., Фомина М.А., Кирюшин В.А., Ястреба Е.Ю., Ромашова Л.С. Оценка выраженности эндогенной интоксикации студентов медицинского вуза..... 67

Гусякова О.А., Видманова М.В., Виноградова Л.Н., Кузнецова О.Ю., Мурский С.И., Шастина А.Н., Чаулин А.М. Интеграция цифровых и микробиологических технологий в исследовании мочи..... 71

Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С., Камаев А.А., Митина А.И., Райская Н.А. Концентрация маркеров дисплазии соединительной ткани при хронической венозной недостаточности..... 74

Михеев А.В. Роль матриксной металлопротеиназы 9 в патогенезе первичного спонтанного пневмоторакса..... 79

Якушева Е.Н., Черных И.В., Щулькин А.В., Гацанога М.В. Функциональная активность гликопротеина-Р на фоне ишемического инсульта..... 84

Аристархов В.Г., Данилов Н.В., Бирюков С.В., Аристархов Р.В., Пузин Д.А. О влиянии объема хирургического лечения узлового зоба у пожилых пациентов на уровень кальцитонина и минеральную плотность кости..... 87

Бикметова Э.Р., Иванова Г.В., Камилов Ф.Х. Распространенность йоддефицитного состояния пубертатного возраста юга Башкирии..... 92

Егорин К.В., Мещанинов В.Н., Ткаченко Е.Л., Вержбицкая Т.Ю., Гаврилов И.В. Лечебный массаж как биохимическая цитопротекторная геропрофилактика у пациентов с полиморбидной патологией..... 95

Калинин Р.Е., Сучков И.А., Пшенников А.С., Рудакова И.Н., Никифорова Л.В., Марукова Т.А. Роль определения уровня гомоцистеина при постромботическом синдроме нижних конечностей.....100

Невзорова М.С. Прогнозирование течения остеоартроза у женщин физического труда.....104

Байбурина Г.А., Нургалеева Е.А. Роль резистентности к гипоксии в процессах липопероксидации в мозге после системной остановки кровообращения.....107

Жиборев Б.Н., Уваров А.Г., Звягина В.И., Фомина М.А. L-карнитин спермоплазмы в периконцепционной диагностике у пациентов с варикоцеле.....111

Гильмиярова Ф.Н., Радомская В.М., Рыскина Е.А., Колотьева Н.А., Баишева Г.М., Первова Ю.В. Прогнозируемые и экспериментально подтвержденные особенности гликопротеинов А и В системы крови АВ0 в формировании вариабельности метаболизма.....115

Каминская Л.А. Информированность студенток 1 курса педиатрического факультета о грудном вскармливании.....119

Реук С.Э., Терехина Н.А. Биохимические параметры ротовой жидкости в оценке эффективности лечения герпетического стоматита.....123

Раздел 3. Биохимические маркеры оксидативного стресса и эндотелиальной дисфункции в диагностике заболеваний и оценке эффективности терапии.....128

Хамдаллах Амжад. Возрастные особенности модуляции активности альдегиддегидрогеназы в мышце крыс.....128

Коцлова А.А. Эндотелийзависимая вазодилатация у пациентов с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы в коже кисти при лечении методами клеточной и генной терапии.....132

Марцинкевич А.Ф., Осочук А.С. Функциональная взаимосвязь активности транспорта кислорода и окислительной модификации белков и липидов мембран эритроцитов у спортсменов циклических видов спорта.....136

Жидко Е.В., Терехина Н.А., Терехин Г.А. Влияние сорбентов на показатели антиоксидантной защиты при алкогольной интоксикации.....139

Коцлова А.А. Эндотелийзависимая вазодилатация у пациентов с нейропатической и нейроишемической формами синдрома диабетической стопы в нижней трети голени при лечении методами клеточной и генной терапии.....144

Масюк Н.Ю. Влияние различных видов стресса на нарушение твердых тканей зуба.....147

Калинин Р.Е., Сучков И.А., Герасимов А.А., Мнихович М.В., Пшенников А.С., Архипкина Н.В., Киселева Е.В. Динамика биохимических маркеров дисфункции эндотелия как критерий эффективности эндотелиотропной терапии при артериальных реконструкциях с использованием различных видов синтетических заплат (экспериментальное исследование).....150

Ланкин В.З., Тихазе А.К. Окислительный и карбонильный стресс при атеросклерозе и диабете.....153

Наумова О.О., Иримеску А.А. Онкология: этиология, распространение, препараты, методы лечения в Приднестровской Молдавской республике (обзор).....156

Короткова Н.В., Фомина М.А., Матвеева И.В. Оценка резервно-адаптационного потенциала сосудистой стенки интактной вены при экспериментальном венозном тромбозе.....165

Марсянова Ю.А. Особенности катаболизма эндогенных альдегидов при стрессе.....169

Палиоха Р.В. Соотношение между уровнем свободно-радикального окисления у лиц с героиновой наркоманией в зависимости от гендерных различий и наличия ремиссии.....175

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

Абаленихина Ю.В. 8, 21
Акимов П.А. 39
Алекберова Г.И. 62
Амжад Хамдаллах 128
Арапова А.И. 15
Аристархов В.Г. 87
Аристархов Р.В. 87
Архипкина Н.В. 150
Баишева Г.М. 115
Байбурина Г.А. 107
Балдина О.А. 43
Бельских Э.С. 25
Бердиев Р.М. 67
Бикметова Э.Р. 92
Бирюков С.В. 87
Вержбицкая Т.Ю. 95
Видманова М.В. 71
Виноградова Л.Н. 71
Гаврилов И.В. 95
Гацанога М.В. 84
Герасимов А.А. 150
Гильмиярова Ф.Н. 115
Грязнов С.В. 47
Гусякова О.А. 71
Данилов Н.В. 87
Доменюк Д.А. 43
Егорин К.В. 95
Жиборев Б.Н. 111
Жидко Е.В. 139
Звягина В.И. 25, 111
Иванова Г.В. 92
Ивченко Л.Г. 43
Ильичева А.С. 34
Иримеску А.А. 156
Калинин Р.Е. 47, 51, 74, 100, 150
Камаев А.А. 74
Камилов Ф.Х. 92
Каминская Л.А. 119
Кирюшин В.А. 67
Киселева Е.В. 150
Козлов А.В. 43
Колотьева Н.А. 115
Кондрашова К.С. 51
Короткова Н.В. 165
Коцлова А.А. 132, 144
Кузнецова О.Ю. 71
Ланкин В.З. 153
Максименко А.В. 56
Марсянова Ю.А. 12, 169
Марукова Т.А. 100
Марцинкевич А.Ф. 136
Масюк Н.Ю. 147
Матвеева И.В. 3, 8, 12, 165
Медведев Д.В. 25
Мещанинов В.Н. 95
Митина А.И. 74
Михеев А.В. 79
Мнихович М.В. 150
Мурский С.И. 71
Наумова О.О. 156
Невзорова М.С. 104
Никифорова Л.В. 100
Нургалеева Е.А. 107
Осочук А.С. 136
Палиоха Р.В. 175
Первова Ю.В. 115
Пузин Д.А. 87
Пушкин И.А. 62
Пшенников А.С. 47, 51, 74, 100, 150
Радомская В.М. 115
Райская Н.А. 74
Реук С.Э. 123
Ромашова Л.С. 67
Рудакова И.Н. 100
Рыскина Е.А. 115
Рязанова Е.А. 3
Селезнева И.А. 43
Сучков И.А. 51, 74, 100, 150
Телепнева Е.Ю. 58
Теплов С.А. 21
Терехин Г.А. 139
Терехина Н.А. 39, 123, 139
Тихазе А.К. 153
Ткаченко Е.Л. 95
Уваров А.Г. 111
Фомина М.А. 8, 15, 21, 34, 67, 111, 165
Ходос О.А. 30
Чаулин А.М. 71
Черных И.В. 84
Шастина А.Н. 71
Щулькин А.В. 84
Якушева Е.Н. 84
Ястреба Е.Ю. 67

Научное издание

БИОХИМИЧЕСКИЕ НАУЧНЫЕ ЧТЕНИЯ
ПАМЯТИ АКАДЕМИКА РАН Е.А. СТРОЕВА

МАТЕРИАЛЫ
ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ
СТУДЕНТОВ И МОЛОДЫХ СПЕЦИАЛИСТОВ
С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ

Сдано в печать 01.02.2016.
Бумага писчая. Гарнитура Times. Печать офсетная.
Усл. печ. л. 11,5. Тираж 100 экз. Заказ № 38.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Рязанский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
390026, г. Рязань, ул. Высоковольтная, 9

Отпечатано в редакционно-издательском отделе
ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России
390026, г. Рязань, ул. Т. Шевченко, 34

Диакон

Группа компаний АО **«ДИАКОН»** основана в 1995 году сотрудниками Научного центра биологических исследований Российской академии наук в г. Пущино Московской области.

Сегодня **«ДИАКОН»** поставляет качественные диагностические реагенты отечественного производства и внедряет в практику российского здравоохранения инновационные технологии мировой лабораторной диагностики.

Коллектив насчитывает более 300 высококвалифицированных специалистов, имеющих ученые степени и состоящих в профессиональных ассоциациях. На более чем 5,2 тыс. кв. метров собственных площадей расположены производство, склады, лабораторные и офисные помещения.

По состоянию на начало 2016 года более 25% клинико-диагностических лабораторий РФ используют продукцию, производимую и поставляемую группой компаний **«ДИАКОН»**.

Крупнейший поставщик - ежегодно отгружает более 120 тонн реагентов для клинической химии, сотни тонн реагентов для гематологии, десятки тысяч наборов для экспресс-диагностики, оборудование и расходные материалы для различных направлений лабораторной медицины.

Особое внимание уделяется централизации лабораторных исследований, что является общемировой тенденцией. Группа компаний **«ДИАКОН»** готова принять активное участие в организации централизации лабораторных исследований, предложить широкий спектр решений для забора материала, экспресс-диагностики, биохимических, гематологических, коагулологических, иммунологических исследований, анализа газов и электролитов крови, анализа мочи и интегрирования процессов в лабораторную информационную систему.

Производственная компания АО **«ДИАКОН-ДС»** – лидер в сфере производства медицинских изделий для in vitro диагностики. Основное направление работы – производство высококачественных диагностических реагентов для современных клинико-диагностических лабораторий. Компания обладает мощным научно-техническим потенциалом и высокооснащенной лабораторной базой, что позволяет разрабатывать и выпускать новые диагностические реагенты высокого качества по собственным технологиям.

Сегодня компания выпускает свыше 70 вариантов наборов реагентов для определения более 30 клинических показателей по технологиям полного цикла производства. На всех этапах производственного процесса проводится жесткий контроль качества, который гарантирует выпуск продукта международного уровня.

АО **«ДИАКОН-ДС»** имеет сертифицированную систему менеджмента качества согласно международным и российским стандартам ИСО 9001 и ИСО 13485, а также знак на весь спектр выпускаемой продукции.

Группа компаний **«ДИАКОН»** является одним из крупнейших налогоплательщиков г. Пущино и может по праву называться одним из градообразующих предприятий.

Это современная, многопрофильная, высокотехнологическая компания, имеющая квалифицированный персонал, высокую культуру производства, собственную научно-исследовательскую базу для проведения новых разработок и усовершенствования выпускаемой продукции. Эффективный менеджмент, современный уровень производства и научно-технический потенциал позволяют группе компаний **«ДИАКОН»** стать достойным кандидатом для построения партнерских отношений.

АО «ДИАКОН» 142290, Московская область, г. Пущино, ул. Грузовая, 1-а
Тел.: **(495) 980-63-39**

Телефон горячей линии: 8 (800) 2006-339
E-mail: sale@diakonlab.ru

www.diakonlab.ru
www.diakon-ds.ru
www.presepsintest.ru