

ISSN 0514 - 7484

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ԱԶԳԱՅԻՆ ԱԿԱԴԵՄԻԱ
НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК РЕСПУБЛИКИ АРМЕНИЯ
NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF ARMENIA

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ԲԺՇԿԱԳԻՏՈՒԹՅՈՒՆ
МЕДИЦИНСКАЯ НАУКА АРМЕНИИ
MEDICAL SCIENCE OF ARMENIA

ԵՐԵՎԱՆ, ԵՐԵՎԱՆ, YEREVAN

"Медицинская наука Армении"

Орган Национальной академии наук Республики Армения. Журнал основан в 1961 году и до 1995 года издавался под названием "Экспериментальная и клиническая медицина".

Журнал публикует обобщающие и оригинальные статьи, литературные обзоры по актуальным вопросам современной теоретической и практической медицины и располагает необходимым научно-организационным и техническим потенциалом, позволяющим ученым-медикам всех стран исчерпывающе освещать широкий спектр проблем медицинского профиля.

Периодичность издания 4 номера в год.

Главный редактор

Акопян В.П.

Заместители главного редактора

Зильфян А.В.

Адамян К.Г.

Ответственный секретарь

Оганян Э.А.

Редакционная коллегия

Авдалбекян С.Х.

Апоян В.Т.

Гамбаров С.С.

Стамболцян Р.Р.

Редакционный совет

Абрамян Р.А.

Алексян Ю.Т.

Аствацатрян В.А.

Баблюян А.С.

Бояджян П. (Сирия)

Вартазарян Н.Д.

Вессал К.М. (Иран)

Габриелян Э.С.

Геворкян Э.М.

Кркашарян С. (Франция)

Кушкян А.М.

Мелик-Пашаян М.А.

Мирзоян Р.С. (Россия)

Мкртчян Л.М.

Оганесян Н.М.

Оганесян С.С.

Оганов Р.Г. (Россия)

Саруханян О.В.

Сисакян С.А.

Ханамиян Р.М.

Хачатрян С.А.

Чобанян А. (США)

Editor-In-Chief

Hakopian V.P.

Assistant Editors

Zilfian A.V.

Adamian K.G.

Secretary-In-Chief

Ohanian E.A.

Editorial Board

Apoyan V.G.

Avdaltbekian S.Kh.

Gambarov S.S.

Stamboltzian R.P.

Editorial Advisory Council

Abrahamian R.A.

Alexanian Yu.T.

Astvatsatryan V.A.

Babloyan A.S.

Boyardjian P. (Siria)

Chobanian (USA)

Gabrielian E.S.

Gevorgian E.M.

Krkasharian S. (France)

Hovanissian N.M.

Hovanissian Sp.S.

Khanamirian R.M.

Koushkian A.M.

Khachatrian S.H.

Melik-Pashayan M.A.

Mirzoyan R.S. (Russia)

Mkrtchian L.M.

Oganov R.G. (Russia)

Sarukhanian H.V.

Sissakian S.H.

Vardazarian N.D.

Vessal K.M. (Iran)

Сердечно-сосудистые заболевания в России и возможности их профилактики

Р.Г. Оганов, Г.Я. Масленникова

Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины Минздрава России. Москва

Во всех индустриально развитых странах сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) являются основной причиной смерти населения. Аналогичная ситуация уже многие годы наблюдается и в России. От других индустриально развитых стран Европы Россия отличается как по абсолютным показателям смертности от ССЗ, так и их динамикой. Во второй половине 90-х годов показатели смертности от ССЗ среди мужчин и

женщин (таблица) были в 3,5 раза выше, чем в Финляндии, Соединенном Королевстве и Германии, и значительно выше, чем в Литве и Армении (WHO/Europe, HFA Database, June 2002). Показатели смертности от ССЗ в России также отличаются от таковых стран Западной Европы, где наблюдается стойкая тенденция к снижению смертности, тогда как в России эти показатели продолжают расти.

Таблица

Стандартизованные коэффициенты смертности от ССЗ в России и ряде европейских стран (на 100 тыс. населения) в 1995–1999 гг.

Страна	1995 г.	1996 г.	1997 г.	1998 г.	1999 г.
	Мужчины 25–64 г.				
Россия	687,6	619,9	562,6	547,6	618,4
Украина	578,9	567,7	547,4	502,2	530,5
Литва	431,7	382,9	337,2	327,3	335,3
Армения	347,7	324,2	297,5	275,9	282,5
Финляндия	198,8	188,2	177,0	173,6	166,9
Соединенное Королевство	170,1	162,3	153,5	148,4	139,0
Германия	158,9	150,9	144,5	137,5	130,7
Страна	Женщины 25–64 г.				
Россия	236,5	215,6	198,4	189,4	210,0
Украина	222,5	219,6	209,7	190,0	201,2
Литва	139,9	126,5	105,5	113,4	97,8
Армения	134,7	134,7	116,8	108,3	103,1
Финляндия	48,9	44,3	43,3	44,9	39,7
Соединенное Королевство	64,1	62,3	58,9	57,5	54,5
Германия	54,2	52,2	49,7	48,2	45,1

Уже в трудоспособном возрасте (25–64 года) среди причин смерти в 2001 г. на долю ССЗ приходилось у мужчин 36%, у женщин 40%. В структуре смертности от ССЗ ишемическая болезнь сердца (ИБС) и мозговой инсульт являются причинами смерти в 55 и 23,5% случаев у мужчин и 40,7 и 36,2% – у женщин.

На рисунке 1 и 2 показана динамика смертности общей и от ССЗ в России для мужчин и женщин сред-

него возраста. На фоне медленного роста смертности как общей, так и от ССЗ начиная с 1985 г. наблюдаются резкие колебания показателей смертности, которые по времени совпадают с социальными и экономическими процессами, проходившими в нашей стране и затронувшими большую часть населения. Это дает основание считать психосоциальные факторы основной причиной таких резких колебаний. Однако это не

означает, что традиционные факторы риска ССЗ (высокий холестерин, артериальная гипертония, курение, сахарный диабет и др.) не играют роли в распространности этих заболеваний. Именно с высоким

уровнем традиционных факторов риска связана высокая смертность от ССЗ в России по сравнению с другими западноевропейскими странами.



Рис. 1

Анализ результатов международной программы "МОНИКА" показал, что в странах, в которых за 10

лет наблюдения отмечалось снижение смертности от ССЗ, оно на 2/3 было обусловлено положительными



Рис. 2

изменениями образа жизни и на 1/3 – улучшением лечения этих заболеваний.

Научной основой профилактики ССЗ остается концепция факторов риска – первопричины развития ССЗ полностью неизвестны, однако выявлены факторы, способствующие их развитию и прогрессированию.

Коррекция модифицируемых факторов среди населения стала неотъемлемой частью всех профилактических программ. Были разработаны две взаимодополняющие стратегии профилактики ССЗ: популяционная и высокого риска. Популяционная стратегия включает в себя изучение значимости ССЗ и их факторов риска, мониторинг ситуации, разработку политики, законодательства, создание межсекторального сотрудничества, просвещение населения, формирование здорового образа жизни, привлечение средств массовой информации. Эта стратегия в значительной степени выходит за пределы системы здравоохранения, и ее эффективность во многом зависит от активности различных как правительственных, так и общественных секторов общества. Вторая стратегия – высокого риска – направлена на выявление лиц с факторами риска, оценку степени и их коррекцию. В реализации этой стратегии большую роль играют службы здравоохранения.

Концепция факторов риска практически стирает границу между первичной и вторичной профилактикой, так как факторы риска надо корригировать как для того чтобы заболевание не возникло, так и еще более агрессивно, когда уже появились клинические признаки заболевания. Сегодня все рекомендации по лечению основных ССЗ начинаются с коррекции факторов риска. С практической точки зрения важно то, что были установлены целевые уровни основных факторов риска ССЗ, к которым надо стремиться (АД < 140/90 мм рт. ст., общий холестерин < 5,0 ммоль/л, холестерин липопротеинов низкой плотности < 3,0 ммоль/л, глюкоза крови натощак < 6,1 ммоль/л, окружность талии у мужчин менее 102 см, у женщин – менее 88 см и др.). Сегодня с целью достижения целевых уровней факторов риска необходимо не только изменять образ жизни, но и использовать лекарственные препараты: статины и другие гиполипидемические препараты – для коррекции дислипидемии, семь классов гипотензивных препаратов – для лечения артериальной гипертензии, никотинзаместительные препараты (бупропион) – для оказания помощи в отказе от курения, акарбозу – для коррекции нарушений толерантности к углеводам, орлистат, сибутрамин – для лечения ожирения, аллопуринол – для коррекции гиперурикемии, витамины группы В – для коррекции гипергомоцистеинемии, ацетилсалициловую кислоту, клопидогрель и другие – для коррекции тромбогенных факторов, а также противовоспалительные препараты.

Время показало, что те страны, которые активно

использовали концепцию факторов риска и обе выше-названные стратегии, добились значительного снижения смертности от ССЗ. Так в США за 20-летний период смертность от коронарной болезни сердца снизилась на 50 %, от мозгового инсульта – на 60 %. В финской провинции Северная Карелия, где проводились широкомасштабные профилактические программы, смертность от коронарной болезни сердца среди лиц 35–64 лет снизилась на 73 %, от ССЗ – на 68 %.

Факторы риска ССЗ условно можно разделить на следующие категории.

Причинно-связанные

- курение
- артериальная гипертензия
- гиперхолестеринемия или гипер-ХСЛПНП
- низкий ХСЛПВП
- сахарный диабет

Условно-причинные

- гипертриглицеридемия
- мелкие частицы ЛНП
- липопротеин (а)
- гипергомоцистеинемия
- факторы гемостатические
- С-реактивный протеин
- инфекции

Предрасполагающие

- возраст
- мужской пол
- ожирение
- гипокинезия
- семейная предрасположенность
- социально-экономические
- психологические
- инсулинорезистентность
- дисфункция эндотелия
- стабильность атеросклеротической бляшки.

Выявление такого большого количества факторов риска хорошо с позиции понимания механизмов развития ССЗ, однако для практической работы это большая проблема. Поэтому сейчас идет поиск ключевых факторов, через которые реализуются многие факторы риска. В этом отношении наиболее перспективными являются инсулинорезистентность, дисфункция эндотелия и стабильность атеросклеротической бляшки, а из конкретных показателей – С-реактивный протеин и фибриноген.

Среди корригируемых факторов риска для России наиболее важными являются:

- психосоциальный стресс
- несбалансированное питание
- злоупотребление алкоголем
- курение
- артериальная гипертензия.

Резкий всплеск смертности от ССЗ в России в периоды социально-экономических преобразований

(начало 90-х гг., после 1998 г.) дает основание считать психосоциальные факторы основной причиной такой динамики смертности. Среди психосоциальных факторов наибольшее значение для развития и прогрессирования ССЗ имеют:

- депрессия и тревога
- стресс, связанный с работой: низкая возможность выполнения работы при высоких требованиях, безработица
- низкий социальный статус
- низкая социальная поддержка или ее отсутствие
- такие характеристики поведения типа А, как враждебность, гнев (раздражение)
- общий дистресс, хронические негативные эмоции.

Исследование, проведенное сотрудниками Государственного научно-исследовательского центра профилактической медицины Минздрава России в Москве на случайной выборке мужчин в возрасте 35–64 г. (д.м.н. Д.В. Небиеридзе), показало, что клинически значимые тревожно-депрессивные состояния были выявлены у 19,2%, а отдельные признаки тревоги и депрессии наблюдались у 68,1% обследованных. При этом у лиц с тревожно-депрессивным состоянием достоверно чаще встречались традиционные факторы

риска, такие как артериальная гипертония, дислипидемия, избыточная масса тела. Недавно завершившееся исследование "КОМПАС", проведенное в 29 городах России под эгидой Всероссийского научного общества кардиологов при поддержке фармацевтической компании "Сервье", выявило, что среди пациентов обратившихся по разным причинам в течение суток терапевтам, кардиологам и невропатологам, депрессии разной степени выраженности выявляется у 46%.

Злоупотребление алкоголем в стране считают одним из важных факторов высокой смертности от ССЗ. К сожалению, данные о потреблении алкоголя на душу населения в России крайне противоречивы и колеблются от 8 до 16 литров чистого этанола в год на душу населения. В то же время было выявлено, что динамика показателей смертности от алкогользависимых причин и от ССЗ в период, когда в стране отмечался быстрый рост общей смертности (1990–1994 гг.), и в период снижения смертности (1994–1998 гг.), имела однонаправленный характер как среди мужчин (рис. 3), так и среди женщин (рис. 4). Это дает основание причислить злоупотребление алкоголем к числу причин, вызвавших резкие колебания смертности от ССЗ в 90-х годах прошлого столетия.

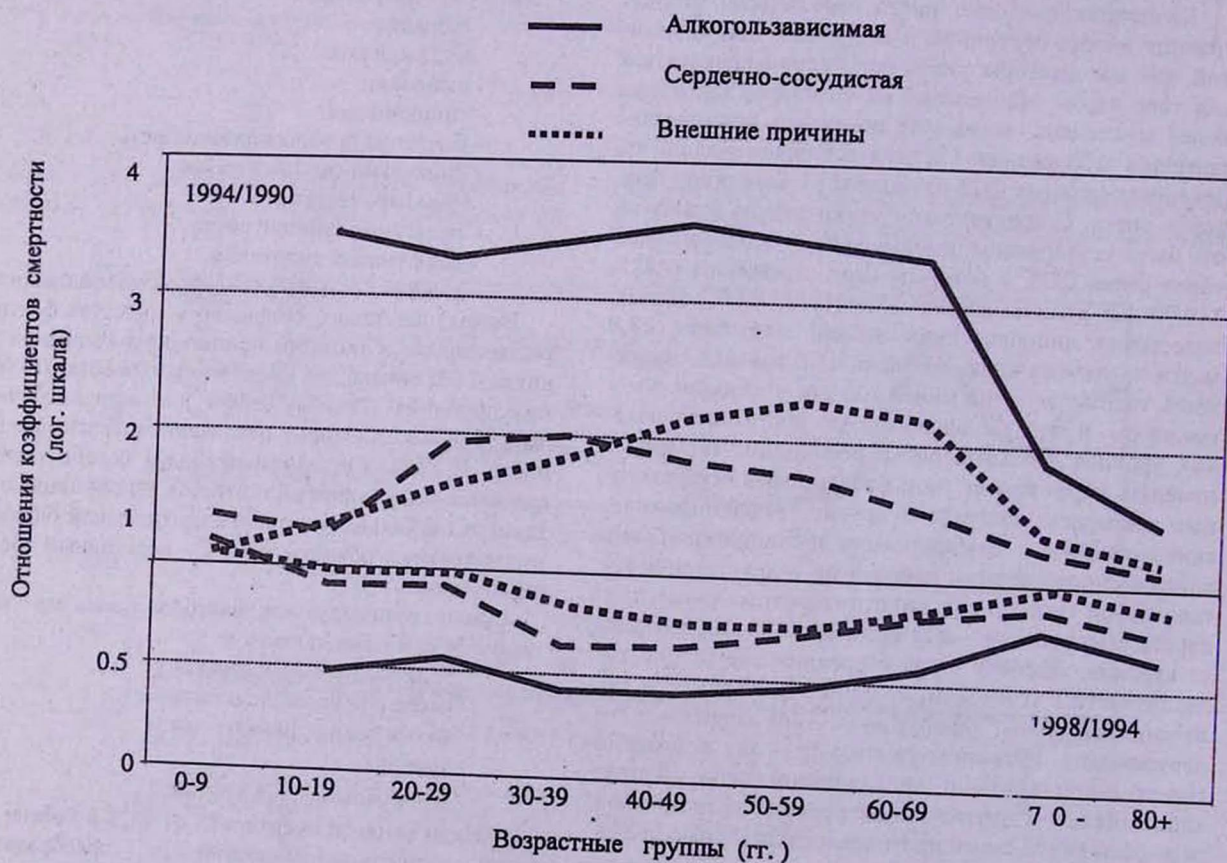


Рис. 3

Курение является очень распространенной привычкой в России, особенно у мужчин (63%). В последние годы увеличилось и число молодых курящих женщин до 25%. В то же время вклад курения в смертность от ССЗ у мужчин в России составляет 29%. Ежегодно в Европе от заболеваний и состояний, связанных с курением, умирает 1 миллион 200 тысяч человек, из которых на долю России приходится 270 тысяч. Сотрудниками ГНИЦ ПМ МЗ РФ (проф. С.А. Шальнова, проф. А.А. Александров) была изучена распространенность курения среди московских врачей и учителей – ключевых лиц в просвещении населения. Было выявлено, что среди врачей и учителей меньше курильщиков, чем среди населения в целом. Однако при сравнении с распространенностью курения среди лиц с высшим образованием существенных различий обнаружено не было. На основании этого можно сделать вывод, что только просвещение малоэффективно в борьбе с курением. Необходимы многосторонние законодательные меры и создание сети структур для оказания помощи желающим бросить курить.

Распространенность АГ в России одна из самых высоких. Согласно сегодняшним критериям АГ (АД $\geq 140/90$ мм рт. ст.) в стране 42,5 миллионов гипертони-

ков. Вклад АГ в смертность лиц среднего возраста от ССЗ составляет 40%, а от мозгового инсульта – 70–80%. В то же время программа по борьбе с АГ, проводившаяся в России в 80-х годах прошлого столетия, показала, что с помощью регулярного немедикаментозного и медикаментозного лечения можно на 48% снизить смертность от инсульта среди гипертоников (координатор проф. А.Н. Бритов). Аналогичные результаты были получены и во многих зарубежных исследованиях. Это дает основание придавать мероприятиям по контролю АГ ведущее место в усилиях по снижению смертности от ССЗ в России.

Традиционно при диагностике и лечении ССЗ основное внимание уделяется острым состояниям, в первую очередь, инфаркту миокарда. В то же время в возрасте от 40 до 70 лет в России, согласно эпидемиологическим данным, около 4 миллионов больных со стенокардией напряжения, 1,5 миллиона больных, перенесших инфаркт миокарда, и около 4 миллионов лиц, имеющих изменения на электрокардиограмме, позволяющие подозревать наличие у них патологии сердца. У лиц, страдающих стенокардией, по сравнению с теми, у которых нет стенокардии, относительный

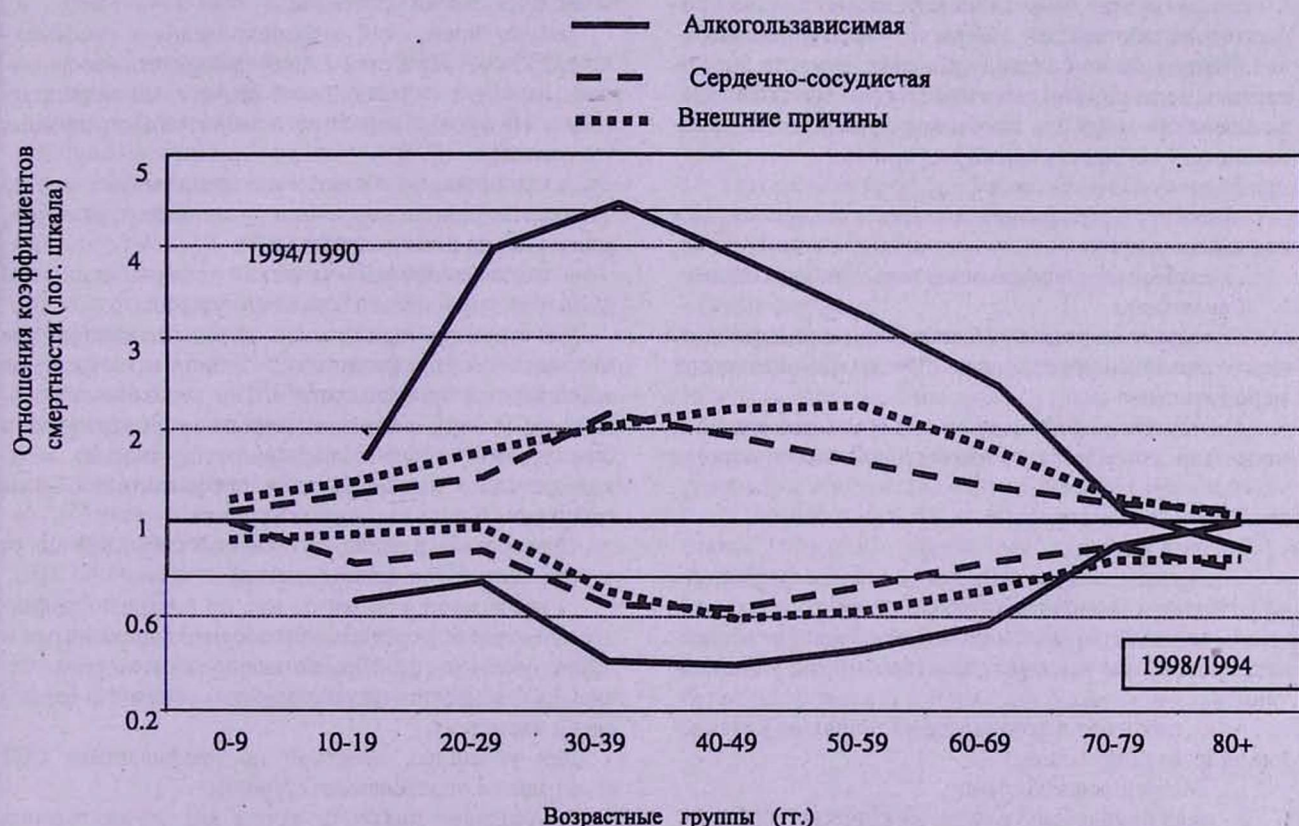


Рис. 4

риск смерти от ИБС, ССЗ и всех причин выше: для мужчин он составляет соответственно 2,4; 2,2 и 1,6, для женщин – 2,5; 1,7 и 1,3. Анализ программы многофакторной профилактики ИБС, проведенной в одном из районов Москвы (координатор проф. Л.В.Чазова), показал, что наибольшее снижение смертности наблюдалось среди лиц, страдающих стенокардией, или среди тех, у которых был высокий риск, но еще не перенесших инфаркт миокарда. Можно ожидать, что выявление пациентов с высоким риском и стенокардией, проведение медикаментозной и немедикаментозной профилактики даст при меньших затратах больший эффект, чем реабилитация больных, уже перенесших инфаркт миокарда. Справедливо подчеркивая успехи реабилитации, часто забывается тот факт, что 40–50% больных инфарктом миокарда погибают в течение первых суток, в большинстве случаев не успев обратиться к врачу.

Если и в дальнейшем основные усилия в здравоохранении будут направлены на улучшение диагностики и лечения ССЗ и других неинфекционных заболеваний, то это мало повлияет на динамику смертности, а приведет в основном к увеличению числа выявленных и леченых больных (к сожалению, полностью вылечить их невозможно) и, соответственно, расходов на здравоохранение.

Разорвать этот замкнутый круг может только профилактика заболеваний и меры по укреплению здоровья. Почему же при очевидной необходимости профилактики медицинские работники в практическом здравоохранении мало или вообще профилактикой не занимаются? На то есть целый ряд причин:

Политические

- важность профилактики пока в основном только декларируется;
- слабая законодательная и нормативная основа;

Финансовые

- отсутствие знаний об экономических последствиях проведения/непроведения профилактических мероприятий;
- отсутствие финансовых стимулов для врачей и медсестер заниматься профилактикой заболеваний и укреплением здоровья.

Профессиональные

Врачи, в целом:

- обучены лечить болезни, а не предупреждать их развитие и укреплять здоровье пациентов;
- неудовлетворены небольшими положительными изменениями в уровнях факторов риска у пациентов;
- не осознают выгод, которые приносит укрепление здоровья населения;

Медицинские сестры:

- мало привлечены к профилактической работе;
- не получают должной поддержки и поощрения в том, чтобы работать самостоятельно.

Организационные

- отсутствует четкое разграничение функциональных и должностных обязанностей в области профилактики заболеваний между структурами федерального, регионального и муниципального уровней, а также координация этой деятельности;

- недостаточные знания и навыки по организации работы с населением за пределами поликлиники;

- недостаточное участие центров медицинской профилактики в профилактике заболеваний на популяционном уровне;

Культурно-исторические

- мало инициативы снизу, ожидание указаний сверху

- «синдром начальника» – «начальник всегда прав».

Однако для того чтобы профилактика ССЗ успешно развивалась и сопровождалась позитивными изменениями в состоянии здоровья населения, необходимы целенаправленные действия как в системе здравоохранения, так и в других секторах общества. Система здравоохранения самостоятельно не сможет добиться высоких результатов в профилактике ССЗ, тем не менее, медики должны быть инициаторами профилактических программ, мониторировать ситуацию и своевременно информировать властные структуры и население о состоянии проблемы.

Задача учреждений здравоохранения в профилактике ССЗ состоит в повышении приоритета профилактики наряду с лечебно-диагностическими мероприятиями. На уровне первичного звена здравоохранения это означает:

- осуществление комплекса практических мер по предупреждению и коррекции управляемых факторов, влияющих на риск развития ССЗ;

- оказание профилактической помощи на индивидуальном, групповом и семейном уровнях.

Для структур медицинской профилактики (центры медицинской профилактики, кабинеты, отделения медицинской профилактики ЛПУ) необходима координация усилий между различными учреждениями и структурами здравоохранения, осуществление межсекторального взаимодействия, профилактика ССЗ на групповом и популяционном уровнях.

Определенный вклад в профилактику ССЗ могут внести центры госсанэпиднадзора:

- проведение комплекса мер по контролю за факторами внешней среды и некоторыми социальными и поведенческими факторами, влияющими на риск развития ССЗ, ведение мониторинга за этими факторами среди населения.

Для успешных действий по профилактике ССЗ необходимы определенные условия:

- создание инфраструктуры для осуществления действий по укреплению здоровья и профилактике ССЗ;

- укомплектованность этой структуры профессиональными кадрами;

- обеспечение техническими и финансовыми ресурсами.

В профилактике сердечно-сосудистых, как и других неинфекционных заболеваний, будет возрастать роль информационных систем, которые необходимы для:

- контроля за потребностями населения;
- выбора стратегии, целенаправленного планирования, проведения и оценки эффективности профилактических программ;
- прогнозирования заболеваемости и смертности от основных ССЗ.

Мониторинг поведенческих факторов риска является наиболее доступной и недорогой системой, которая по мере развития может постепенно усложняться или быть частью более крупной системы мониторинга, например, периодических национальных исследований здоровья населения. Методология подобной системы разработана и апробирована на случайной московской выборке.

Необходимые межсекторальные действия для повышения эффективности профилактических мероприятий должны включать следующие направления:

- развитие и совершенствование законодательной и нормативной базы, способствующей профилактике ССЗ;

- активизирование работы СМИ по созданию и поддержанию стремления людей к позитивным изменениям в их образе жизни, по пропаганде научно обоснованных методов профилактики ССЗ;

- ориентирование и мобилизация первичного здравоохранения на задачи выявления и снижения факторов риска ССЗ среди населения;

- развитие сети школ общественного здоровья для подготовки специалистов по профилактике ССЗ и укреплению здоровья;

- усовершенствование системы преддипломной и последипломной подготовки, переподготовки кадров здравоохранения по профилактике ССЗ;

- разработка и ввод в действие системы финансирования из различных источников мер по профилактике ССЗ среди населения;

- разработка и реализация программы профилактики по снижению факторов риска ССЗ среди населения;

- разработка и внедрение системы мониторингирования основных факторов риска ССЗ в регионах;

- усиление международного сотрудничества в

области профилактики ССЗ и укрепления здоровья.

Несмотря на несомненные успехи в профилактике ССЗ, многие аспекты изучены недостаточно и нуждаются в дальнейших научных исследованиях, в которых приоритет должен быть отдан следующим направлениям:

- развитие прикладной эпидемиологии для решения задач, связанных с совершенствованием системы мониторинга показателей здоровья населения и контроля факторов, влияющих на развитие и прогрессирование ССЗ;

- изучение новых факторов, а также суммарного влияния различных групп факторов (генетические, экологические, социальные, поведенческие и др.) на развитие и прогрессирование ССЗ;

- изучение ключевых механизмов, через которые реализуется влияние различных факторов ССЗ, для планирования и проведения патогенетически обоснованной профилактики ССЗ;

- изучение влияния различных аспектов образа жизни на формирование общественного мнения в отношении профилактики ССЗ;

- разработка и совершенствование медико-социальных технологий профилактики ССЗ через выработку индивидуальных и групповых моделей здорового поведения;

- разработка и совершенствование технологий оценки эффективности профилактических программ;

- разработка программ обучения и повышения квалификации медицинских кадров и лиц, принимающих решения в области профилактической кардиологии.

Рекомендации по профилактике ССЗ и укреплению здоровья, а также их внедрение должны основываться на принципах доказательной медицины, а не на мнении отдельных, даже выдающихся ученых и общественных деятелей.

Улучшение ситуации в отношении влияния ССЗ на здоровье населения России возможно путем совместных действий системы здравоохранения и других государственных и общественных организаций по предупреждению и коррекции факторов, определяющих развитие и прогрессирование ССЗ.

В заключение следует отметить, что хотя данная статья посвящена проблемам профилактики ССЗ в России, многие обсуждаемые вопросы, возможно, являются общими для большинства независимых государств, бывших республик Советского Союза и, в частности, для Армении. Авторы надеются, что статья будет представлять интерес для армянских врачей.

Поступила 15.01.04

Нейроиммунные взаимоотношения при бронхиальной астме

С.С. Гамбаров, А.В. Акопян, С.С. Арутюнян, Л.А. Кцоян, А.С. Захарян, А.Р. Габриелян

ЕрГМУ им. М. Гераци, кафедра клинической иммунологии и аллергологии

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Нейроэндокринная и иммунная системы находятся в тесном взаимодействии [5, 6, 29]. Взаимодействие нейроэндокринной и иммунной систем может осуществляться различными путями, один из которых заключается в том, что через систему специфических рецепторов медиаторы нейроэндокринной и иммунной систем оказывают взаимное регуляторное влияние [5].

В настоящей работе освещены нейроиммунные взаимоотношения при бронхиальной астме (БА).

В последние годы установлено важное значение нервных механизмов при БА.

В дыхательных путях поддерживается постоянный холинэргический тонус, опосредованный ацетилхолином, выделяемым окончаниями двигательных нервов. Эфферентные холинэргические волокна блуждающего нерва переключаются в ганглиях, расположенных в стенках дыхательных путей. Постганглионарные нервные волокна идут к клеткам гладкой мускулатуры и подслизистых желез. Выделяющийся из нервных окончаний ацетилхолин активирует мускариновые рецепторы на этих клетках, что приводит к бронхоспазму и выделению секрета [4, 25].

Медиаторы воспаления могут оказывать пресинаптическое действие на холинэргические нервы, влияя на мускариновые рецепторы гладких мышц [7].

Антагонисты холинорецепторов вызывают бронходилатацию у человека и животных. В свою очередь, ингибиторы холинэстеразы (эдрофоний, пиридостигмин), предотвращающие разрушение ацетилхолина, вызывают бронхоконстрикцию у здоровых людей. У больных БА наблюдается более выраженная спастическая реакция на ингибиторы холинэстеразы и усиленная бронхоспастическая реакция на холинэргические агонисты, что указывает на гиперреактивность бронхов и нарушение парасимпатического контроля при данной патологии.

В свете вышесказанного большой интерес представляют данные, полученные о дисфункции мускариновых рецепторов при БА. Высвобождение ацетилхолина из парасимпатических нервов ограничивается функционированием нейрональных M_2 -рецепторов на парасимпатических нервах [17]. Эти мускариновые

рецепторы, описанные вначале у морских свинок, впоследствии были описаны у различных видов, включая человека [18]. Стимуляция этих рецепторов агонистами ингибирует вагус-индуцированный бронхоспазм, а блокада M_2 -рецепторов усиливает в несколько раз высвобождение ацетилхолина и вагус-индуцированную бронхоконстрикцию [2, 17].

Потеря функции M_2 -рецепторов приводит к тому же эффекту, что и их блокада антагонистами. У больных БА наблюдается дисфункция M_2 -рецепторов [1, 14, 24]. Как показали эти авторы, в отличие от здоровых волонтеров у больных астмой мускариновые агонисты не ингибируют рефлекторную бронхоконстрикцию. Последующие работы, однако, свидетельствуют, что дисфункция M_2 -рецепторов может быть не постоянной особенностью БА, а ассоциироваться с обострением болезни. При легкой форме БА агонист мускариновых рецепторов – пилокарпин ингибирует рефлекс-индуцированную бронхоконстрикцию. В дальнейшем у больных данного контингента при естественной приобретенной вирусной инфекции развивалась гиперреактивность и нарушение функции M_2 -рецепторов [22].

Дисфункция M_2 -рецепторов показана на различных моделях астмы у животных [7, 13]. Причем интересно, что дисфункция M_2 -мускариновых рецепторов в этих работах описывается у сенсibilизированных морских свинок, обработанных антигеном. В этих же моделях показано, что потеря нейрональной M_2 -мускариновой рецепторной функции происходит одновременно с гиперреактивностью и что эти два эффекта связаны между собой.

У антиген-обработанных морских свинок гиперреактивность и потеря нейрональной M_2 -мускариновой рецепторной функции опосредованы эозинофилами [14]. В этой модели морских свинок эозинофилы рекрутируются к нервам воздухоносных путей, окружают и проникают в нервные узлы, ганглии, располагаются вдоль нервных волокон, идущих к гладкой мускулатуре. На секции умерших от БА людей эозинофилы обнаруживаются вдоль нервов в легких [8].

Предотвращает потерю M_2 -рецепторной функции обработка антителами к ИЛ-5 (который активирует

эозинофилы, вызывает их хемотаксис и эндотелиальную адгезию) [11]. Сходный эффект оказывает блокирование миграции эозинофилов в легкие антителами к VLA-4 [15]. Эти процедуры предотвращают также развитие гиперреактивности, индуцированной антигеном.

Эозинофилы при активации выделяют протеины, включая главный основной белок (ГОВ). Эозинофильный ГОВ является селективным аллостерическим антагонистом M_2 -рецепторов, являясь *in vivo* эндогенным антагонистом M_2 -рецепторов [21].

Блокада ГОВ специфическими антителами оказывает протективное действие на функцию нейрональных M_2 -мускариновых рецепторов у антигенобрабатанных морских свинок [21]. Более того, нейтрализация ГОВ гепарином и поли- α -глутамином приводит к быстрому восстановлению M_2 -мускариновых рецепторов у антиген-сенситизированных морских свинок [16]. В регуляции функции нейрональных M_2 -рецепторов и гиперреактивности важная роль принадлежит нейропептидам, опосредующим многие стороны действия нейрохолинэргических неадренэргических механизмов (см. ниже).

Холинэргическую импульсацию могут модулировать адренэргические нервы. Эндогенные катехоламины, вероятно, играют важную роль при бронхоконстрикции. Данных о прямой симпатической иннервации дыхательных путей нет, однако на находящихся в них клетках, в том числе тучных, присутствуют β -адренорецепторы.

Адреномиметики расслабляют гладкую мускулатуру дыхательных путей, подавляют высвобождение медиаторов из тучных клеток, повышают мукоцилиарный транспорт. Эффекты адреномиметиков опосредованы стимуляцией аденилатциклазы и повышением уровня ЦАМФ.

β_2 -селективные агонисты – это наиболее широко применяемые в настоящее время препараты для лечения БА.

Как предположил А. Szentivanyi (цит. по [3]), при БА имеется дисфункция β_2 -рецепторов. Установлено, что на лимфоцитах больных БА уменьшается число β -рецепторов. Эффективность применения адреномиметиков при БА, однако, указывает на то, что если дефект функции β_2 -рецепторов и имеет место, то его роль при данной патологии не столь важна.

В отличие от здоровых лиц активация α -адренорецепторов у больных БА сопровождается бронхоспазмом. Фентоламин (α -антагонист) вызывает бронходилатацию. Вероятно, воспаление усиливает α -адренэргические реакции, что может вносить свой вклад в бронхоконстрикцию при БА. Дисбаланс между импульсациями, повышающими и снижающими тонус бронхов, может быть причиной их гиперреактивности.

Кроме холинэргических и адренэргических меха-

низмов регуляции функций дыхательных путей, важнейшую роль играют неадренэргические и нехолинэргические (НАНХ) нервы [4, 5]. Многие эффекты НАНХ нервов опосредованы нейропептидами [28]. НАНХ нервы посредством нейропептидов регулируют сокращение гладкой мускулатуры дыхательных путей, сосудов и секрецию слизи. Нейропептиды модулируют эффекты классической вегетативной иннервации, оказывая влияние на высвобождение и эффекты нейротрансмиттеров из автономных нервов, т.е. вероятно, являются котрансмиттерами холинэргической иннервации [23].

Интересно отметить, что воспалительные цитокины способны усиливать экспрессию генов нейропептидов в воспалительных клетках, которые могут стать их основным источником в очаге воспаления. Показано, в частности, что такие нейропептиды как субстанция Р и вазоинтестинальный пептид (VIP) синтезируются в эозинофилах [10].

VIP состоит из 28 аминокислот, впервые был выделен из легких свиньи и широко представлен в ЦНС и периферической нервной системе. У животных и у человека VIP локализуется в парасимпатических и сенсорных нервах, в частности, в нервах, которые находятся в гладких мышцах дыхательных путей, сосудах и железах подслизистой. VIP вызывает сильнейшее расслабление гладкой мускулатуры крупных бронхов, оказывая небольшое действие на периферии дыхательных путей. Соответственно VIP-рецепторы экспрессированы главным образом в гладкой мускулатуре проксимальных, но не дистальных отделов дыхательных путей. Ингибируя высвобождение ацетилхолина из холинэргических нервов, VIP является, вероятно, эндогенным бронходилататором и антагонистом холинэргической бронхоконстрикции, повышая уровень ЦАМФ в гладкой мускулатуре. VIP усиливает мукоцилиарный клиренс, оказывает сильный сосудорасширяющий эффект, который даже более выражен, чем его бронходилатирующее действие.

В дыхательных путях VIP оказывает иммуномодулирующее действие. Действуя в основном на Т-клетки, он угнетает высвобождение из них ИЛ-2 и ИЛ-4 (но не γ -интерферона). VIP угнетает хемотаксис и пролиферацию легочных фибробластов [19]. Этот нейропептид угнетает также высвобождение медиаторов из легочных тучных клеток [23]. В легких больных БА после смерти наблюдается отсутствие VIP-иммунореактивных нервов [26]. Сходным с VIP действием обладают пептиды – гистидин-метионин, гистидин-валин-42, гелодермин, гелоспектин I и II, а также гипоталамические аденилатциклазаактивирующие пептиды (PACAP-38 и PACAP-27).

В патофизиологии и симптоматологии БА важную роль играют функциональные эффекты тахикининов, субстанции Р и нейрокинина.

Субстанция Р (SP) и нейрокинин A (NKA) локали-

зованы в демиелинизированных сенсорных нервных волокнах и относятся к классу тахикининов. Необходимо отметить, что тахикинины и их рецепторы экспрессированы в человеческих моноцитах и макрофагах [20]. Тахикинины оказывают множество различных эффектов в дыхательных путях, которые играют важную роль при БА. Эффекты тахикининов опосредуются через NK₁-рецепторы, активируемые преимущественно SP, а также NK₂-рецепторы, активируемые NKA.

Тахикининовые рецепторы распределены как в мелких, так и крупных дыхательных путях. Сокращение гладкой мускулатуры дыхательных путей человека тахикининами происходит через NK₂-рецепторы, т.е. опосредуется NKA. Сокращение гладкой мускулатуры дыхательных путей, опосредованное NKA, значительно сильнее выражено в мелких бронхах, чем в проксимальном отделе, в отличие от холинэргической констрикции, выраженной в проксимальном отделе. Механическое повреждение эпителия дыхательных путей усиливает бронхоконстрикцию, опосредованную NKA. SP усиливает секрецию слизи из подслизистых желез в человеческих дыхательных путях через NK-рецепторы. SP вызывает дегрануляцию тучных клеток кожи и высвобождение ГОБ из эозинофилов. Более того, SP вызывает также выраженную вазодилатацию сосудов и экссудацию плазмы из сосудов, в том числе легочных. SP стимулирует ангиогенез, что, вероятно, играет роль в формировании новых сосудов дыхательных путей астматиков. В отличие от расслабляющего влияния на гладкую мускулатуру артериол SP стимулирует сокращение мускулатуры венул.

Тахикинины усиливают хемотаксис эозинофилов, а также могут активировать альвеолярные макрофаги и моноциты, индуцируя высвобождение воспалительных цитокинов. SP и NKA стимулируют хемотаксис и пролиферацию фибробластов, что указывает на их возможную роль в возникновении фиброзных изменений при БА [19].

Тахикинины регулируют (опосредованно) холинэргическую импульсацию дыхательных путей. Введение нейрокинин-1-рецептор антагонистов (NK-1 антагонистов) оказывает протективный эффект на M₂-рецепторную функцию и ингибирует гиперреактивность у обработанных антигеном морских свинок [9]. В то же время NK-1-рецептор антагонисты не ингибируют миграцию эозинофилов к нервам после введения SP [9]. В дальнейшем было показано, что тахикинин-рецептор-антагонисты предотвращают активацию эозинофилов и высвобождение ими главного основного белка [12].

Введение SP интактным свободным от патогенов

морским свинкам приводит к острой потере функции M₂-нейрональных рецепторов и гиперреактивности. Оба эти эффекта блокируются истощением эозинофилов или антителами к ГОБ [12].

Таким образом, SP и другие тахикинины необходимы для активации эозинофилов в легких, причем тахикинины увеличивают высвобождение ацетилхолина и вызывают гиперреактивность не прямым путем, а опосредованно через индукцию высвобождения эозинофилами ГОБ, являющегося эндогенным антагонистом M₂-рецепторов, блокирующим M₂-нейрональные рецепторы. Более того, эти данные указывают на то, что действие тахикининов на эозинофилы опосредовано через специфические рецепторы.

Потеря M₂-рецепторной функции и гиперреактивность может не коррелировать с изменением числа эозинофилов. Антагонисты NK-рецепторов, антитела к ГОБ не ингибируют число эозинофилов в лаважной жидкости и в ткани дыхательных путей [9]. SP, вызывающая потерю функции M₂-рецепторов и гиперреактивность при введении интактным свободным от патогена морским свинкам, не вызывает при этом изменения числа эозинофилов в лаважной жидкости и дыхательном тракте [12]. Вышеприведенные данные говорят о том, что SP, индуцирующая (через ГОБ) ингибирование функции M₂-рецепторов и гиперреактивность, может оказывать свое действие через активацию эозинофилов, постоянно присутствующих в дыхательных путях. Интересно отметить, что дисфункция M₂-мускариновых рецепторов и гиперреактивность, индуцированная озоном, также опосредована ГОБ [30].

В респираторном тракте представлен также пептид, связанный с геном кальцитонина (кокальцитогенин) – CGRP, один из трех продуктов гена кальцитонина. Кокальцитогенин состоит из 37 аминокислот и встречается в чувствительных нервах совместно с SP. CGRP – сильный вазодилататор, в том числе сосудов бронхов. Рецепторы CGRP значительно больше представлены в бронхиальных сосудах, чем в эпителии и гладкой мускулатуре дыхательных путей. CGRP, вероятно, играет важную роль в усилении кровотока и гиперемии в дыхательных путях при раздражении сенсорных нервов бронхов, в частности при БА. Действие его на гладкую мускулатуру дыхательных путей опосредованное и может приводить как к расслаблению, так и сокращению [4].

Таким образом, исходя из вышеизложенного, можно прийти к заключению, что целый ряд функциональных нарушений, имеющих место при БА, является результатом нейроиммунных взаимодействий, которые осуществляются в основном через эозинофилы.

Поступила 15.01.04

Նյարդախմունային հարաբերությունները բրոնխիալ ասթմայի ժամանակ

Ս.Ս. Ղամբարով, Ա.Վ. Հակոբյան, Ս.Ս. Հարությունյան, Լ.Ա. Կոչյան,
Ա.Ս. Ջաքարյան, Ա.Ռ. Գաբրիելյան

Աշխատանքում լուսաբանվում է բրոնխիալ ասթմայի ժամանակ ներդրող M₂-ընկալիչների դերը բրոնխոկոնստրիկցիայի և հիպերռեակտիվականության զարգացման ընթացքում: Ցույց է տրված էոզինոֆիլների մեդիատորների

դերը M₂-ներդրող ընկալիչների ֆունկցիաների կարգավորման հարցում: Բերվում են տվյալներ ներդրող նյարդային հիպերռեակտիվության կարգավորման մեջ:

Neuroimmune interrelations in bronchial asthma

S.S. Ghambarov, A.V. Hakobyan, S.S. Haroutyunian, L.A. Ktsoyan,
A.S. Zakaryan, A.R. Gabrielyan

The aim of the current survey is the study of neuroimmune interrelations in bronchial asthma. The role of M₂ neuronal receptors in the development of hyperreactivity and bronchoconstriction and that of the eosinophil me-

diators in regulation of neuronal M₂-receptors function is shown. The data on the significance of neuropeptides in regulation of bronchial tonus and hyperreactivity are given.

Литература

1. Ayala L.E., Ahmed T. Chest, 1989; 96:1285.
2. Baker D.G., Brown I.K. Am. Rev. Respir. Dis., 1991; 143:A358.
3. Barnes P.J. Asthma: Basic mechanisms and clinical management. Eds. Barnes P. J., Rodger L. W., Thomson N. C. London, Academic Press, 1998.
4. Barnes P.J. All. Clinic. Immunol. International, 2000, 12, 2, p. 54.
5. Besedovsky H.O., Del Rey A. Endocrine Reviews, 1996, 17, 1, p. 64.
6. Blalok J.E. Immunol. Today, 1994, 15, 1, p. 504.
7. Costello R.W., Evans C.E., Yost B.L., Belmonte K.E., Jacoby D.B., Fryer A.D. J. Appl. Physiol., 1999.
8. Costello R.W. Fryer A.D. Cholinergic mechanisms in asthma. In: Barnes P.J., Grunstein M.M. (Eds.) Asthma. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1997; Ch. 68.
9. Costello R.W. Fryer A.D., Belmonte K.E., Jacoby D.B. Br. J. Pharmacol., 1998; 124:267.
10. Danielle R.P. Barnes P. J., Goetze E. J., Nadel J. O., Dorisios, Kiley J., Jacobs T. Am. Rev. Respir. Dis., 1992, 145, p. 1230.
11. Elbon C.L., Jacoby D.B., Fryer A.D. Am. J. Respir. Cell Mol. Biol., 1995; 12; 320.
12. Evans C.E. Jacoby D.B. Gleich G. J. Fryer A.D. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1999; 159;A 280.
13. Evans C.M., Jacoby D.B., Gleich G.J., Fryer A. D., Costello R.W. J. Clin. Invest., 1997;100:2254.
14. Fryer A. D., Costello R.W., Jacoby D. B. Clin. Immunol. Inter., 2000, 12, p. 54.
15. Fryer A.D., Costello R.W., Yost B.L., Lobb R.R., Tedder T.F., Steeber A.S., Bochner B.S. J. Clin. Invest., 1997; 99:2036.
16. Fryer A.D., Jacob D.B. J. Clin. Invest., 1992; 90:2292.
17. Fryer A.D., MacLagan J. Br. J. Pharmacol., 1984, 83:973.
18. Fryer A. Muscarinic receptors. In Busse W, Holgate S (Eds) Asthma and Rhinitis, Boston:Blackwell Scientific Publication, 1994.
19. Harrison N.K., Dawes K.E., Kwon O.J., Barnes P.J., Laurent G.J., Chung K.F. Am. J. Physiol., 1995, 12, p. 1273.
20. How W.Z., Lai J.P., Zhu X.H., Uvaydova M., Douglas S. D. J. Leukoc. Biol., 1998; 68, 828.
21. Jacoby D.B., Gleich G.J., Fryer A.D. J. Clin. Invest., 1993; 91;13:1314.
22. Keen H., Hurst V., Jack S., Pearson M. G., Warburton C., Calverley P.M.A., Costello R.W. Eur. Respir. J., 1998;12:149s.
23. Maggi C.A., Giachetti A., Dey R. D., Said S. J. Physiol. Rev., 1995, 75, p. 277.
24. Minette P.S., Lammers J.W.J, Dixon C.M.S., McCusker M.T., Barnes P.J. J. Appl. Physiol., 1989;67:2461.
25. Nadel J.A., Barnes P.J. Ann. Rev. Med., 1984;35:47.
26. Ollerenschow S., Jarvis D., Woolcock A., Salivan C., Schreiber T.N. Engl. J. Med., 1989, 320, p. 1244.
27. Szentivanyi A. J. Allergy, 1968, 42, p. 203.
28. Uddman R., Hakanson R., Luts A., Sundler F. In: Autonomic control of the respiratory system. (Eds.) Barnes P.J., London, 1997, p. 21.
29. Vitkovic L., Bockaert J., Jacque C. J Neurochemistry, 74, 2, 2000, p. 457.
30. Yost B.L., Gleich G.J., Fryer A.D. Am. J. Respir. Crit. Care Med., 1998;157:A820.

Цереброваскулярная активность гипоталамического дипептида аргинилфенилаланин

А.А. Галоян, Л.А. Саакян*, С.Г. Чаилян, В.Т. Карамян*

Институт биохимии им. Г.Х. Бунятыана НАН РА

*ЕрГМУ им. М. Герац

375044, Ереван, ул. Паруйра Севака, 5/1

Ключевые слова: гипоталамус, С-модулины, Ca^{2+} -кальмодулин зависимые ферменты, нейропептиды, дипептид Arg-Phe, локальный мозговой кровоток, среднее артериальное давление, NO-синтаза

Оценивая современную тенденцию развития физиологии мозгового кровообращения, следует отметить, что при всем многообразии подходов все большее внимание в вопросах регуляции кровоснабжения и метаболизма мозга уделяется эндогенным физиологически активным веществам, в том числе и пептидам.

Пептиды, достигающие цереброваскулярного русла, происходят из двух разных источников: так называемого "интраваскулярного", который представляется циркулирующими в крови пептидами, берущими начало от гипоталамо-гипофизарной системы, надпочечников и т.д., и "экстравазального источника", который представляется нейропептидами, синтезирующимися в мозговой ткани и в основном выделяющимися из симпатических, парасимпатических и сенсорных периваскулярных нервных окончаний [10, 17]. Кроме этого, некоторые пептиды (эндотелины, ангиотензины) синтезируются в сосудистой стенке и имеют определенное значение в процессах регуляции мозгового кровообращения [26, 27].

В конце 80-х гг. А.А. Галояном и сотрудниками при фракционировании препарата нейрогормона С (выделенного из гипоталамуса крупного рогатого скота) с помощью ОФ ВЭЖХ были выделены три фактора пептидной природы – С-модулины (С-I, С-II и С-III), являющиеся Ca^{2+} -независимыми аллостерическими стимуляторами ряда высокоочищенных Ca^{2+} -кальмодулинзависимых ферментов: цАМФ-фосфодиэстеразы (цАМФ ФДЭ), киназы легкой цепи миозина (КЛЦМ), 5'-нуклеотидазы, кальмодулинзависимой протеинкиназы, киназы фосфоорилазы [4, 5]. Установлена способность С-модулинов стимулировать цАМФ ФДЭ мозговой ткани в 6–10 раз вне зависимости от присутствия ионов Ca^{2+} и кальмодулина. При этом С-I проявляет максимальное активирующее действие в отношении цАМФ ФДЭ мозга [14]. В дальнейших

исследованиях А.А. Галояном (Beckman Research Institute of the City of Hope, USA) из С-I в индивидуальном виде была выделена и методами масс-спектрального анализа и микросеквенирования установлена первичная структура пептида (C_1) с аминокислотной последовательностью – L-аргинил-L-фенилаланин (Arg-Phe) [3]. Дипептид Arg-Phe был также выделен и идентифицирован из гипоталамуса человека [6].

Целью данной работы явилось изучение влияния дипептида Arg-Phe на мозговое кровообращение крыс.

Материал и методы

Для изучения цереброваскулярной активности дипептида Arg-Phe был использован синтетический дипептид, полученный классическим методом синтеза аргинил-дипептидов [11, 33]. Коротко – трикарбензоксид-аргинин конденсировали с этиловым эфиром L-фенилаланина методом смешанных ангидридов. Полученный этиловый эфир трикарбензоксид-аргинил-L-фенилаланина был подвергнут щелочному гидролизу и восстановлен каталитическим гидрогенолизом (H_2/Pd). Окончательная очистка синтетического дипептида осуществлялась с помощью ОФ ВЭЖХ. Время выхода синтетического дипептида соответствует времени выхода нативного дипептида Arg-Phe в идентичных хроматографических условиях (рис. 1) [6].

Эксперименты проводились на белых беспородных крысах-самцах, массой 160–190 г.

При определении локального мозгового кровотока (ЛМК) водный раствор дипептида вводили в/б (0,2 мл/100 г) в дозах А, В, С и D (7×10^{-6} , 7×10^{-7} , 7×10^{-8} и 7×10^{-9} моль/кг соответственно) четырем разным группам крыс под нембуталовым наркозом (40 мг/кг).

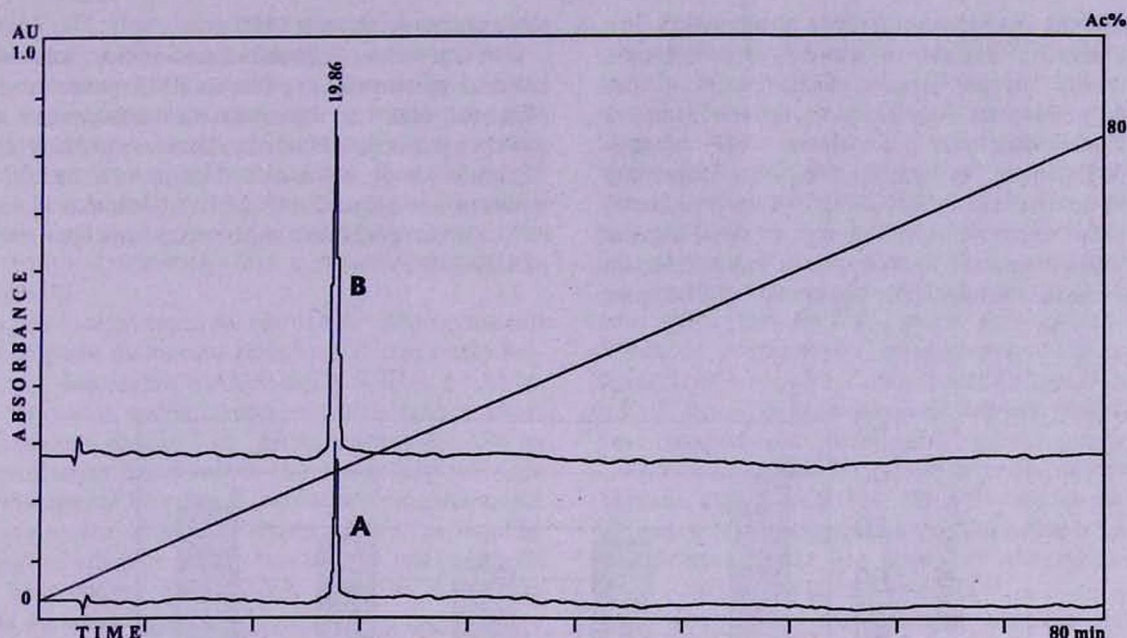


Рис. 1. Идентификация нативного (А) и синтетического (В) дипептидов Arg-Phe методом ОФ ВЭЖХ. Тандемная система обращеннофазовых колонок "Biosphere Si-100 C₈" и "Biosphere Si-300 C₁₈". Элюенты — ацетонитрил/0,1% раствор ТФУ. Линейный градиент со скоростью потока 1 мл/мин. Длительность эксперимента — 80 мин; детекция осуществлялась при 210 нм.

Дипептид Arg-Phe разводили в дистиллированной воде в день эксперимента за 30 мин до введения. ЛМК определялся методом лазерной доплер-флоуметрии (флоуметр BLF 21, Transonic Systems, Inc., США), позволяющим достоверно и малоинвазивно регистрировать изменения ЛМК [28]. Игольчатый электрод устанавливался под микроскопом вдали от крупных мозговых сосудов через трепанационное отверстие в правой теменной области крыс без повреждения твердой мозговой оболочки. В работе ЛМК выражается в процентах к исходному его значению до введения дипептида.

Среднее артериальное давление измерялось ртутным манометром в правой бедренной артерии крыс после в/б введения различных доз (А, В, С и D) дипептида.

Для изучения сократимости сосудистых препаратов был использован метод изолированных органов [2]. После декапитации отпрепарировались грудная и брюшная части аорты крыс. Аорта разрезалась на кольца толщиной 2 мм, которые соединялись шелковыми нитями. Исходная нагрузка на препарат составляла 0,6–0,8 г. В качестве перфузионного раствора использовался аэрируемый карбогеном буферный раствор Кребса-Хенселейта следующего состава: NaCl–6,89 г; KCl–335 мг; CaCl₂–227 мг; MgSO₄ × 7H₂O–246 мг; KH₂PO₄–136 мг; NaHCO₃–2,1 г; глюкоза–1,08 г (в одном литре раствора) при температуре

36,5–37,0°C и pH=7,38–7,42. Регистрация изотонического сокращения изолированного сосуда проводилась аппаратом "Isotonische Messeinrichtung" (Германия). Использовались пять разных доз дипептида (10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ и 10⁻⁹ М соответственно), полученные результаты выражены в процентах по отношению к сокращению, вызванному 5×10⁻²М KCl.

При определении активности синтазы оксида азота (NO-синтаза) в мозговой ткани, использовались четыре группы крыс, три из которых в/б получали А, В и С дозы дипептида, а четвертая группа (получавшая дистиллированную воду в/б) использовалась в качестве контроля. Качественное определение активности NO-синтазы в мозговой ткани, проводилось гистохимическим методом NADPH-диафоразы, ранее описанным Vincent S.R. и Kimura H. [32].

Полученные данные были статистически обработаны с оценкой степени достоверности в рядах по парным типам t-теста Стьюдента при двухстороннем распределении и приведены в виде M±m.

Результаты и обсуждение

Результаты исследования показали, что в ответ на в/б введение всех доз дипептида Arg-Phe отмечается постепенное снижение ЛМК у крыс до 30-й минуты, которое сохраняется на этом уровне даже через 2 ч

после введения препарата. Следует подчеркнуть, что такая активность дипептида имитирует активность "классических" нейропептидов, включенных в процесс регулирования мозгового кровообращения (вазоактивный кишечный полипептид – VIP; гипофизарный полипептид, активирующий аденилатциклазу – PACAP; пептид, связанный с геном кальцитонина – CGRP; нейропептид Y – NPY и др.), которые в отличие от непептидных нейротрансмиттеров (норадреналин, ацетилхолин, NO) проявляют длительное

вазоактивное действие [15].

По полученным данным, доза-эффект зависимость влияния дипептида Arg-Phe на ЛМК имеет колоколообразный вид, где максимально подавляющее действие средней дозы дипептида более выражено (доза В: $35,6 \pm 5,3\%$, $n=6$), чем высокой (доза А: $25,6 \pm 1,0\%$, $n=6$) и низких доз (дозы С и D: $23,7 \pm 1,1\%$, $n=6$ и $12,4 \pm 1,0\%$, $n=6$ соответственно) дипептида, во всех группах $p < 0.05$ (рис.2).

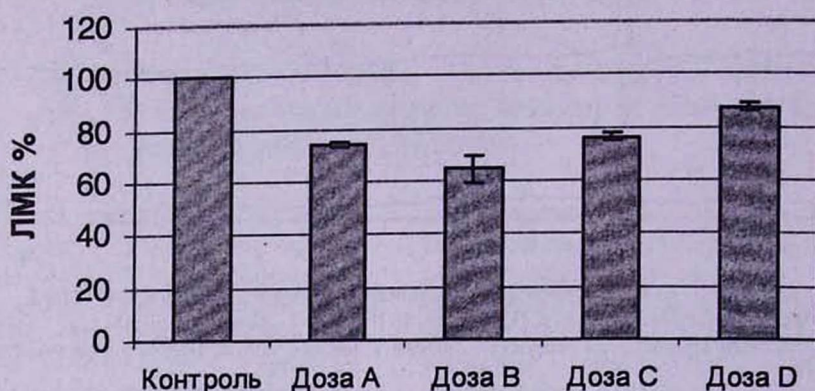


Рис.2. Доза-эффект зависимость влияния дипептида Arg-Phe на ЛМК. Сравнивалось изменение ЛМК на 30-й мин после введения различных доз дипептида.

Интересно, что в наших экспериментах, изменений со стороны системного артериального давления не отмечалось. В то же время, по данным Thieme et al. [31], однократное в/в введение дипептида Arg-Phe крысам в дозе 10–1000 мкг/кг приводит к дозозависимому резкому и мимолетному повышению среднего артериального давления (САД) и частоты сердечных сокращений (ЧСС). При инфузионном введении дипептида в дозе 10–100 мкг/кг/мин существенных гемодинамических изменений не отмечается, тогда как при инфузионном введении 1–20 мкг/кг/мин отмечаются изменения САД и ЧСС, которые продолжаются параллельно инфузии дипептида. Важно отметить, что, по мнению авторов, гемодинамическая активность дипептида Arg-Phe обусловлена его центральным симпатизирующим действием. Свидетельством этого является повышение концентрации норадреналина (НА) в плазме крови (в 2–3 раза при в/в введении 100 мкг/кг дипептида) без изменения концентрации адреналина, что сохраняется при адреналэктомии и исчезает у спинальных крыс [31]. Отсутствие изменений системного артериального давления в наших исследованиях можно объяснить различием

путей введения препарата в организм (в/б вместо в/в). При в/б введении концентрация дипептида в крови не достигает достаточного уровня для проявления эффектов на САД и ЧСС. Это дает основание также предположить, что церебральные сосуды более чувствительны в отношении дипептида Arg-Phe, чем периферические.

Симпатические нервные окончания, иннервирующие краниальные структуры, в основном берут начало от верхнего шейного и звездчатого узлов, активация которых приводит к вазоконстрикции мозговых сосудов, понижению внутричерепного давления, объема крови и цереброспинальной жидкости [17]. Эти эффекты в основном опосредуются НА, NPY и АТФ, где НА в основном обуславливает первичную стадию симпатической вазоконстрикции мозговых сосудов, за которой следует долговременная вазоконстрикция, опосредованная NPY [15]. Кроме верхнего шейного и звездчатого узлов, внутрипаренхимальные мозговые микрососуды иннервируются норадренергическими волокнами, берущими начало из голубого пятна (locus coeruleus), что имеет особое значение в снижении мозгового кровотока в условиях стресса и тревожных

состояний [20]. Плотность симпатической иннервации в каротидной системе более высокая, по сравнению с вертебро-базилярной системой, уменьшается параллельно с уменьшением диаметра мозговых сосудов [13, 17]. Следует отметить, что симпатическая активация приводит к уменьшению калибра проксимальных цереброваскулярных сегментов, тогда как это имеет минимальный эффект на более дистальные сосуды из-за активации компенсаторных ауторегуляторных механизмов [9].

Так как С-модулины являются Ca^{2+} -независимыми стимуляторами высокоочищенных Ca^{2+} /кальмодулин-зависимых ферментов (цАМФ ФДЭ, КЛЦМ и т.д.) [4, 5, 14], мы сочли необходимым изучить прямое влияние различных доз (10^{-9} – 10^{-5} М) дипептида Arg-Phe на сократительную способность изолированных сосудистых препаратов *in vitro*. В результате исследований выяснилось, что прямое действие дипептида Arg-Phe на тонус сосудистой стенки зависит от применяемой дозы. Доза-эффект зависимость влияния дипептида Arg-Phe на сократительную способность изолированной аорты имеет колоколообразный вид, где высокие (10^{-5} и 10^{-6} М) и низкие (10^{-8} и 10^{-9} М) дозы дипептида обладают вазоконстрикторной активностью ($20,14 \pm 6,83$ %, $n=5$; $4,15 \pm 0,64$ %, $n=5$; $3,0 \pm 0,51$ %, $n=5$; $10,0 \pm 2,40$ %, $n=5$ соответственно), а средняя доза (10^{-7} М), вопреки нашим ожиданиям, – некоторой вазодилаторной активностью ($3,25 \pm 0,83$ %, $n=5$) во всех группах $p < 0,05$ (рис.3).

Можно предположить, что под действием дипептида Arg-Phe в сосудистой стенке, кроме цАМФ ФДЭ, КЛЦМ и других ферментов, опосредующих вазоконстрикцию, активируются также другие Ca^{2+} /кальмодулинзависимые ферменты, ответственные за вазодилатацию, и соотношение этих двух функционально противоположных механизмов, меняется под действием различных доз дипептида.

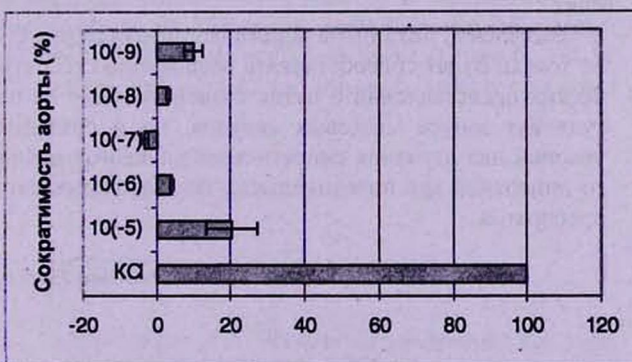


Рис.3. Доза-эффект зависимость влияния дипептида Arg-Phe на сократимость изолированной аорты (в процентах по отношению к сокращению, вызванному 5×10^{-2} М KCl).

В ходе наших исследований было также изучено влияние дипептида на активность NO-синтазы мозговой ткани крыс, которая ответственна также за биосинтез мощного вазодилаторного фактора – NO, “высвобождающегося” из периваскулярных нитроксидагических нервных окончаний и эндотелиальных клеток мозговых сосудов. Известно, что нитроксидагические периваскулярные нервные окончания крупных мозговых артерий берут начало из парасимпатических (в основном из основно-небной и ушной) и сенсорных (тройничного) узлов, в то время как артериолы и микрососуды иннервируются отдельными нейронами вещества мозга, содержащих NO-синтазу [18]. В мозге грызунов и быка периваскулярные нитроксидагические окончания расположены более плотно в каротидной системе и уменьшаются в каудальном направлении [24, 29], а у человека периваскулярные нитроксидагические окончания встречаются относительно реже и в основном обнаруживаются в дистальных мозговых артериях [24].

В результате исследования влияния дипептида Arg-Phe на активность NO-синтазы в мозговой ткани крыс было выяснено, что, по сравнению с контрольной группой, в разных отделах мозга под влиянием дипептида отмечается увеличение как числа, так и интенсивности окрашивания нейронов и, в некоторой степени, периваскулярных нервных окончаний и эндотелиальных клеток микрососудов мозга, позитивно реагирующих на NO-синтазу. Повышение активности NO-синтазы мозговой ткани под влиянием дипептида Arg-Phe может быть обусловлено следующими механизмами: 1) так как NO-синтазы являются Ca^{2+} /кальмодулинзависимыми ферментами, то вероятно, что дипептид Arg-Phe как представитель С-модулинов (аллостерический стимулятор Ca^{2+} /кальмодулинзависимых ферментов) [4,5,14] стимулирует его активность; 2) нитроксидагическая система компенсаторно активируется в ответ на снижение ЛМК, вызванного дипептидом Arg-Phe [12]; 3) аргинин, образующийся при протеолизе дипептида Arg-Phe, служит в качестве субстрата NO-синтазы [16]; 4) дипептид Arg-Phe, активирующий симпатическую систему мозга [31], приводит к активации нитроксидагической системы посредством аксон-аксонального взаимодействия [19]. Повышение активности NO-синтазы в мозговой ткани под влиянием дипептида Arg-Phe тоже свидетельствует о том, что дипептид приводит к активации функционально противоположных механизмов в организме, из которых по отношению к сосудистой системе превалирует вазоконстрикторный механизм.

В организме существуют биологически активные пептиды (FMRF-NH₂ и FMRF-NH₂-подобные пептиды, γ -меланоцитстимулирующий гормон, Met-энкефалин-Arg⁶-Phe⁷, LVV- и VV-геморфин-7) с С-концевой Arg-Phe или Arg-Phe-NH₂-аминокислотной последовательностью, способные вызывать повышение САД и

ЧСС в результате активации симпатической системы центральным механизмом [7, 21, 23, 31]. Структурной единицей этих пептидов, ответственной за вазоконстрикторную активность, является Arg-Phe/Arg-Phe-NH₂-аминокислотная последовательность, отсутствие которой приводит к потере или резкому подавлению вазоконстрикторной активности этих пептидов. По мнению Mues G. и соавторов [22], вазоконстрикторная активность Arg-Phe и Arg-Phe-NH₂ дипептидов различается незначительно, тогда как, по данным Moisan S. и соавторов [21], LVV-геморфин-7 и его структурные аналоги с С-концевой Arg-Phe-NH₂-аминокислотной последовательностью обладают более выраженной вазоконстрикторной активностью, чем те же пептиды с С-концевой Arg-Phe-аминокислотной последовательностью. Предполагается, что такая модификация повышает устойчивость этих пептидов к протеолитическим ферментам. Интересно также, что D-Arg-L-Phe обладает десятикратно слабой вазоконстрикторной активностью по сравнению с Arg-Phe, а L-Phe-L-Arg практически неактивен [31]. По мнению Moisan S. и соавторов [21], активация симпатической системы под влиянием LVV-геморфин-7 и FMRF-NH₂-подобных пептидов в некоторой степени (примерно 50%) обусловлена активацией фенитоинчувствительных рецепторов, связанных с Na⁺-каналами. Szikra J. и соавторы [30] описывают неопиоидные (налуксон-нечувствительные), G-протеин-опосредованные места связывания LVV-геморфин-7, Met-энкефалин-Arg⁶-Phe⁷ и FMRF-NH₂-подобных пептидов в мозговых мембранах крыс [30]. Moisan S. и соавторы [21] сообщают, что вазоконстрикторная активность LVV-геморфин-7 и структурных аналогов с С-концевой Arg-Phe-аминокислотной последовательностью уменьшается под действием фентолиниума, фентоламина, празозина, антагониста NPY-1-рецепторов, клонидина и гуанетидина (более выраженное действие отмечается у последних двух препаратов), а повышение ЧСС ингибируется под действием клонидина, гуанетидина и пропранолола. Этот факт также говорит о том, что кроме симпатической системы в вазоконстрикторном действии пептидов с С-концевой Arg-Phe аминокислотной последовательностью вовлечены и другие механизмы. В исследованиях *in vitro* была выявлена способность дипептида Arg-Phe дозозависимым образом (10–500 нмоль в про-

бе – колоколообразная зависимость) ингибировать АДФ-рибозилирование белков синаптических мембран больших полушарий мозга крыс [8], что имеет модулирующее значение в процессах высвобождения Ca²⁺-ионов из внутриклеточных депо, проведении внешних сигналов от рецепторов к эффекторным системам (аденилатциклаза, фосфолипазы C, A₂ и D, ионные каналы) и т.д. Важно также отметить, что LVV-геморфин-7 и другие геморфины (0,1 мкг/мл) вызывают сокращение препаратов изолированных аорт кроликов [1, 3] в том случае, когда дезэндотелизированные препараты аорты крыс нечувствительны к LVV-геморфин-7 и его структурным аналогам [25]. Достоин внимания также тот факт, что некоторые FMRF-NH₂-подобные пептиды в концентрации 10⁻⁵ М вызывают расслабление препаратов изолированных аорт крыс, предварительно тонизированных простагландином F_{2α} [7].

Вышеизложенное дает основание предположить, что эндогенный дипептид Arg-Phe, так же как и другие нейропептиды имеет определенное значение в регуляции мозгового кровообращения и, возможно, в других не менее важных функциях мозга. Предполагается, что цереброваскулярная активность дипептида Arg-Phe обусловлена как прямым его действием на сосудистую стенку, так и опосредованно с участием симпатической и нитрооксидэргической систем. Как следует из экспериментальных данных, под влиянием дипептида Arg-Phe активируются противоположные механизмы, из которых по отношению к сосудистой системе превалируют вазоконстрикторные механизмы. Вместе с этим пока остаются невыясненными главные молекулярные механизмы действия дипептида Arg-Phe, степень его проницаемости через гематоэнцефалический барьер и другие фармакокинетические показатели, тип рецептора(ов), опосредующего действие дипептида, роль и количественные изменения его в цереброваскулярных патологических состояниях.

Выявление механизма действия дипептида Arg-Phe не только будет способствовать расширению теоретических представлений о путях воздействия его на регуляцию тонуса мозговых сосудов, но и созданию условий для изучения синтетических аналогов данного дипептида как потенциальных фармакологических препаратов.

Поступила 15.08.03

Выражаем благодарность проф. А.С. Канаяну (Центр клинической патологии), К.Б. Ашрафяну и А.В. Байкову (кафедра фармакологии, ЕРГМУ) за помощь, оказанную при проведении исследований.

Հիպոթալամիկ արգինիլֆենիլալանին երկպեպտիդի ուղեղանոթային ակտիվությունը

Ա.Ա. Գալոյան, Լ.Ա. Սահակյան, Ս.Գ. Չախյան, Վ.Տ. Զարամյան

Ուսումնասիրվել է, նախկինում ցուլի և մարդու հիպոթալամոսներին անջատված, արգինիլֆենիլալանին երկպեպտիդի տարբեր դեղաչափերի ազդեցությունը (A, B, C և D – 7×10^{-6} , 7×10^{-7} , 7×10^{-8} and 7×10^{-9} Մ/կգ համապատասխանաբար) առնետների տեղային ուղեղային արյունահոսքի (տ.ՌԲԱՀ) վրա լազեր դոպլեր ֆլուոմետրիայի մեթոդով: Պարզվել է, որ տ.ՌԲԱՀ իջնում է ի պատասխան երկպեպտիդի բոլոր դեղաչափերի ն/ո ներմուծման և պահպանվում այդ մակարդակում մոյնիսկ ներարկումից 2 ժ անց:

Դեղաչափ-ազդեցության կորն ունի զանգված-ման տեսք, որտեղ երկպեպտիդի միջին դեղաչափի ազդեցությունն ավելի արտահայտված է (դեղաչափ B՝ $35,6 \pm 5,3\%$, $n=6$) բարձր (դեղաչափ A՝ $25,6 \pm 1,0\%$, $n=6$) և ցածր (դեղաչափ C և D՝ $23,7 \pm 1,1\%$, $n=6$ և $12,4 \pm 1,0\%$, $n=6$, համապատասխանաբար) դեղաչափերի համեմատությամբ, բոլոր տվյալների համար $p < 0.05$:

Երկպեպտիդի ազդեցությամբ միջին զարկերակային արյան ճնշման փոփոխություններ չեն դիտվել:

Պարզվել է, որ երկպեպտիդը ցուցաբերում է ուղղակի ազդեցություն արյունատար անոթների վրա, իսկ առնետների մեկուսացված աորտայի վրա այդ ազդեցությունն կախված է երկպեպտիդի դեղաչափից՝ բարձր (10^{-5} և 10^{-6} Մ) և ցածր (10^{-8} և 10^{-9} Մ) դեղաչափերն առաջացնում են անոթասեղմում ($20,14 \pm 6,83\%$, $n=5$ և $4,15 \pm 0,64\%$, $n=5$; $3,0 \pm 0,51\%$, $n=5$ և $10,0 \pm 2,40\%$, $n=5$ համապատասխանաբար), այն դեպքում, երբ միջին դեղաչափն (10^{-7} Մ), հակառակ մեր սպասումների՝ անոթալայնում ($3,25 \pm 0,83\%$, $n=5$), բոլոր տվյալների համար $p < 0.05$: Երկպեպտիդի ազդեցությամբ դիտվում է նաև առնետների ուղեղային հյուսվածքում ազոտի օքսիդի սինթազի ակտիվության բարձրացում:

Cerebrovascular activity of hypothalamic dipeptide arginyl-phenylalanine

A.A. Galoyan, L.A. Sahakyan, S.G. Chailyan, V.T. Karamyan

The influence of different doses (A, B, C and D – 7×10^{-6} , 7×10^{-7} , 7×10^{-8} and 7×10^{-9} M/kg respectively) of dipeptide Arg-Phe (earlier isolated from bovine and human hypothalamuses) on local cerebral blood flow (l.CBF) in rats was studied by laser-Doppler flowmetry. l.CBF was decreased in response to all doses of dipeptide i.p. administration in dose-dependant manner and remained the same even after 2 h. The dose-effect curve had a bell shape: the decreasing effect of the average dose was higher (Dose B: $35,6 \pm 5,3\%$, $n=6$) than that of a higher (Dose A: $25,6 \pm 1,0\%$, $n=6$) and lower (Doses C and D: $23,7 \pm 1,1\%$, $n=6$ and $12,4 \pm 1,0\%$, $n=6$ respectively) doses

of dipeptide Arg-Phe, $p < 0.05$ for all data. There were no changes in mean arterial blood pressure.

It was revealed that dipeptide has direct action on blood vessels. Its action on isolated rat aorta depends on the dose of the dipeptide: higher (10^{-5} and 10^{-6} M) and lower (10^{-8} and 10^{-9} M) doses cause vasoconstriction ($20,14 \pm 6,83\%$, $n=5$ и $4,15 \pm 0,64\%$, $n=5$; $3,0 \pm 0,51\%$, $n=5$ и $10,0 \pm 2,40\%$, $n=5$ respectively), while the average dose (10^{-7} M), opposite to our expectatons, vasodilation ($3,25 \pm 0,83\%$, $n=5$), for all data $p < 0.05$. Under influence of the dipeptide Arg-Phe activation of NO-synthase in rat brain tissue was also noted.

Литература

1. Бархударян Н.А., Закарян Т.Р., Шувалова Л.А. и др. Нейрохимия, 1989, 8(4), с. 485.
2. Блаттнер Р., Класен Х., Денерт Х. Эксперименты на изолированных препаратах гладких мышц. М., 1983.
3. Галоян А.А. ДНАН РА, 1991, 92(4), с. 173.
4. Галоян А.А., Бобрускин И.Д., Гурвиц Б.Я., Абрамян Г.Э. Нейрохимия, 1989, 8(1), с. 78.
5. Галоян А.А., Гурвиц Б.Я. Нейрохимия, 1990, 9(3), с. 369.

6. Галоян А.А., Чалян С.Г., Карамян В.Т. Медицинская наука Армении, 2003, 2, с. 10.
7. Жуковский С.В., Коробов Н.Б., Дейгин С.В. и др. Бюлл. Всесоюз. кардиол. научного центра АМН СССР, 1989, 12(1), с. 45.
8. Мовсесян Н.О., Бурназян Л.Б., Алчуджян Н.Х., Галоян А.А. Нейрохимия, 1999, 16(3), с. 215.
9. Baumbach G.L., Heistad D.D. Circ. Res., 1983, 52, p. 527.
10. Benyo Z., Wahl M. Cerebrovasc. Brain. Met. Rev., 1996, 8, p. 326.
11. Berse C., Piche L. J. Org. Chem., 1956, 21, p. 808.
12. Bevan R.D., Bevan J.A. The Human Brain Circulation: Functional Changes in Disease. Humana Press Inc., New Jersey, 1994.
13. Edvinsson L., Jansen I., Cunha e Sa M., Gulbenkian S. Cephalalgia, 1994, 14(2), p. 88.
14. Galoyan A.A. Biochemistry of Novel Cardioactive Hormones and Immunomodulators of the Functional System Neurosecretory Hypothalamus-Endocrine Heart. M., 1997.
15. Gibbins I.L., Morris J.L. Regul. Peptides, 2000, 93, p. 93.
16. Guayao W.U., Sidney M., Morris Jr. Biochem. J., 1998, 336, p. 1.
17. Gulbenkian S., Uddman R., Edvinsson L. Peptides, 2001, 22(6), p. 995.
18. Iadecola C., Beitz A.J., Renno W., Xu X., Mayer B., Zhang F. Brain Res., 1993, 606(1), p. 148.
19. Lee T.J.F. Jpn. J. Pharmacol., 2002, 88, p. 26.
20. Mathew R.J. Biol. Psychiatry, 1995, 37, p. 283.
21. Moisan S., Harvey N., Beaudry G., Forzani P., Burhop K.E., Drapeau G., Rioux F. Peptides, 1998, 19(1), p. 119.
22. Mues G., Fuchs I., Wei E.T., Weber E., Evans C.J., Barchas J.D., Chang J.K. Life Sci., 1982, 31(23), p. 2555.
23. Nijssen M.J.M.A., de Ruiter G.J.W., Kasbergen C.M., Hoogerhout P., de Wildt D.J. Br. J. Pharmacol., 2000, 131, p. 1468.
24. Nozaki K., Moskowitz M.A., Maynard K., Koketsu N., Dawson T.M., Berdt D.S., Snyder S.H. J. Cereb. Blood. Flow. Metab., 1993, 13, p. 70.
25. Rioux F., Drapeau G., Audet R., Burhop K.E., Marceau F. Can. J. Physiol. Pharmacol., 1996, 74(10), p. 1171.
26. Saavedra J.M., Nishimura Y. Cell. Mol. Neurobiol., 1999, 19(5), p. 553.
27. Salom J.B., Torregrosa G., Alborch E. Cerebrovasc. Brain. Metab. Rev., 1995, 7, p. 131.
28. Skarphedinsson J.O., Harding H., Thoren P. Acta. Physiol. Scand., 1988, 134, p. 134.
29. Suzuki N., Fukuchi Y., Koto A., Naganuma Y., Isozumi K., Matsuoka S., Gotoh J., Shimizu T. Neurosci. Lett., 1993, 151: 1.
30. Szikra J., Benyhe S., Orosz G., Darula Zs., Piot J.M., Fruitier I., Monory K., Hanoune J., Borsodi A. Biochem. Biophys. Res. Commun., 2001, 281, p. 670.
31. Thiernemann C., Al-Damluji S., Hecker M., Vane J.R. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1991, 175(1), p. 318.
32. Vincent S.R., Kimura H. Neurosci., 1992, 46(4), p. 755.
33. Zervas L., Otani T.T., Winitz M., Greenstein J.P. J. Am. Chem. Soc., 1959, 81, p. 2878.

Влияние длительной гипокинезии на уровень катехоламинов, серотонина и активность митохондриальной сукцинатдегидрогеназы миокарда и печени белых крыс

О.П. Соцкий, В.А. Карапетян, И.Ж. Лорян, Л.Г. Жамгарян

ЕрГМУ им. М.Гераци, кафедра фармакологии

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: гипокинезия, сукцинатдегидрогеназа, катехоламины, свободные жирные кислоты

В условиях современной жизнедеятельности человек постоянно сталкивается с различного рода экстремальными и стрессорными факторами. Одним из них является ограничение двигательной активности – гипокинезия (ГК). Считается, что ГК – это хронический стресс, сопровождающийся нарушениями со стороны метаболизма, в частности энергетического [11, 14]. Учитывая важную роль энергетического обмена в ходе адаптационного процесса, становится понятным интерес к исследованиям, направленным на выяснение процессов, лежащих в основе снижения образования макроэргов в клетке, и влияние на него гормональных сдвигов, вызванных стрессом [6].

Целью данного исследования является выяснение характера сдвигов в активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) митохондрий печени и сердца в зависимости от уровня катехоламинов (КА) и серотонина (5-ОТ) в различные сроки ГК.

Материал и методы

В работе использовались белые беспородные крысы массой 180–200 г. ГК достигалась помещением крыс в тесные клетки-пеналы. Животных забивали на 15, 30 и 45-е сутки. Контролем служили интактные крысы. Митохондрии из тканей печени и миокарда выделяли методом дифференциального центрифугирования на холоду. Активность СДГ митохондрий определяли ферроцианидным методом [13]. Белок митохондрий определяли по методу Lowry [17]. Содержание КА и 5-ОТ в тканях оценивали методом ВЭЖХ на хроматографе фирмы "Биохром" (Россия). Хроматографическая система включала стандартную аналитическую колонку, содержащую носитель "Nucleosil 100 C18", электрохимический детектор "ДЭ-108", насос "Марафон" серии 2. Потенциал рабочего электрода против электрода сравнения составлял

0,85V, скорость элюции – 0,4 мл/мин. Подвижная фаза состояла из цитратфосфатного буфера, содержащего 2 мМ ЭДТА, 1,5 мМ октилсульфоната натрия (рН–3,2). Содержание КА и 5-ОТ в тканях выражали в мкг/г замороженной в жидком азоте ткани. Жирные кислоты определяли в сыворотке крови крыс по методу Schuster [19].

Полученные результаты обработаны статистически с использованием t-критерия Стьюдента.

Результаты и обсуждение

На рис.1 представлены данные по сдвигам в активности СДГ митохондрий мозга, печени и сердца в условиях продолжительной ГК. Выбор изучения активности СДГ митохондрий в условиях ГК основывался на литературных данных, свидетельствующих о важной роли окисления янтарной кислоты в регуляции энергетики клетки в условиях стресса [18].

Как видно из данных, приведенных на рис. 1, сдвиги в активности СДГ митохондрий носят фазный характер, причем степень их выраженности зависит и от вида ткани. Одной из причин различий в количественном ответе СДГ митохондрий печени и сердца при ГК являются особенности биологического статуса этих тканей. К ним относится разное содержание сукцината, АТФ, неодинаковое редокс-состояние пиридинных нуклеотидов. Так, Р.Н. Ахмеров и соавт. [2] выявили тканеспецифический характер ответа митохондрий при стрессе: в митохондриях сердца наблюдается более выраженное нарушение окисления янтарной кислоты, в печени – нарушение окисления НАД-зависимых субстратов. Возможно, с этих позиций следует трактовать разную степень ингибирования и активации СДГ митохондрий печени и сердца в исследуемые сроки ГК. На правоту такой интерпретации указывают особенности сдвигов в активности

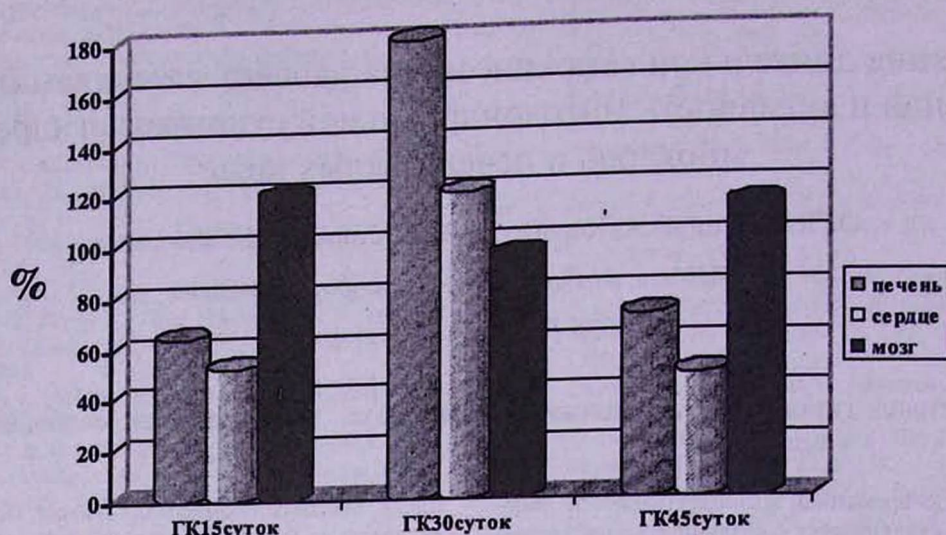


Рис. 1. Изменение в активности СДГ митохондрий тканей печени, сердца и мозга в различные сроки ГК (за 100% взята активность СДГ митохондрий тканей животных интактной группы).

СДГ митохондрий мозга в исследуемые сроки ГК (рис.1). Аналогичные сдвиги в активности СДГ митохондрий сердца на 15- и 45-е сутки ГК выявили Б.М. Курцер и соавт. [8]. Однако ими, в отличие от нас, не было обнаружено повышения активности СДГ митохондрий сердца на 28-е сутки. Эти авторы связывают снижение активности фермента в сердечной и мозговой тканях при ГК не столько с накоплением щавелевоуксусной кислоты – естественного ингибитора СДГ, сколько с увеличением в тканях кортикостерона, угнетающего тканевое дыхание.

Последний факт, несомненно, играет определенную роль в нарушении дыхания митохондрий, ибо, согласно современным представлениям, стресс представляет собой реакцию в ответ на выброс КА, сменяющихся доминированием кортикостероидов, а затем антагонистов адреналина – ацетилхолина и серотонина. Однако Ю.А. Ганин [3] считает, что угнетение активности ряда ферментов цикла Кребса (НАД-ИЦДГ, СДГ) на 45-е сутки ГК обусловлено снижением митохондриального белка [8]. Следовательно, данные, приведенные на рис. 1, свидетельствуют о том, что на 15- и 45-е сутки ГК в митохондриях печени и сердца заметно подавляется сукцинатзависимое дыхание. Особенно следует отметить более выраженное ингибирование СДГ митохондрий сердца по сравнению с СДГ митохондрий печени. Что касается повышения активности СДГ митохондрий печени и сердца

на 30-е сутки, то мы склонны это объяснить тем, что в этот срок ГК адаптационные процессы, возможно, достигают своего максимума. На это указывают данные ряда исследователей, свидетельствующие о том, что на 30-е сутки ГК наблюдается либо нормализация ряда биохимических показателей, либо тенденция к их стабилизации [4, 14].

Установив характер сдвигов в активности СДГ митохондрий миокарда и печени, мы в последующих исследованиях попытались выяснить наличие или отсутствие прямой связи между наблюдаемыми сдвигами и уровнем тканевых КА и 5-ОТ в исследуемые сроки ГК. Необходимость подобных исследований диктовалась, в первую очередь, имеющимися в литературе данными о влиянии КА на функционирование митохондрий. В этом плане наиболее изучено действие адреналина (А) на окислительные процессы в митохондриях. Работами М.Н. Кондрашовой и сотрудников [5] было установлено, что эффект А зависит от концентрации: в малых концентрациях А стимулирует окисление сукцината, а в больших – ингибирует. По их мнению, ингибирование сукцинатзависимого дыхания митохондрий под действием А может иметь место и при продолжительных стрессах.

Как следует из данных таблицы, на 15-е сутки ГК во всех исследованных тканях наблюдается увеличение содержания А, особенно выраженное в печени и надпочечниках при неизменности количества норад-

реналина (НА) в них. В связи с этим общее содержание КА в печени и надпочечниках заметно возрастает (на 165 и 60% соответственно по сравнению с контролем). Эти данные свидетельствуют о высокой активности симпатoadrenalовой системы (САС) в данный срок ГК. Что касается роли повышенного содержания А в печени и его влияния на подавление активности СДГ митохондрий, то можно предположить, что в этот период ГК активируется одна из моноаминоксидаз митохондрий, приводящая к накоплению в них продукта хиноидного окисления КА – адренохрома, который способен подавлять активность СДГ митохондрий [12]. Аналогичным образом невозможно объяснить ингибирование СДГ митохондрий сердца в этот срок, так как из таблицы видно, что содержание А в этот срок увеличивается незначительно и статистически недостоверно. На 30-е сутки ГК также наблюдаются сдвиги в тканевом содержании КА, которые отличаются от сдвигов, наблюдаемых на 15-е сутки. Так, в печени в данный срок наряду с повышением уровня А увеличивается и количество НА. В сердце в этот период выявлен резкий дефицит А и заметное увеличение 5-ОТ. Все эти сдвиги происходят на фоне статистически недостоверного повышения содержания НА в сердце. В надпочечниках в этот период наблюдается статистически недостоверное повышение уровня А и 5-ОТ и статистически достоверное повышение уровня НА.

Связать сдвиги в содержании КА в печени и серд-

це с повышением активности СДГ митохондрий в этот срок также трудно. Так, согласно литературным данным, А и НА обладают противоположным воздействием на СДГ митохондрий печени [12]. В сердце эти КА при увеличении их содержания в миокарде активируют СДГ митохондрий. Однако дефицит А и статистически недостоверное увеличение НА в сердечной ткани не позволяют связать повышение активности СДГ митохондрий сердца на 30-е сутки ГК с выявленными сдвигами. Однако если исходить из позиции, что при ГК происходит нарушение терморегуляции организма животных вследствие выключения из этого процесса скелетных мышц, вносящих основной вклад в теплопродукцию организма, то становится понятным повышение активности СДГ митохондрий печени и сердца на 30-е сутки, когда адаптационные механизмы наиболее выражены. На правомерность такого объяснения данного факта указывают работы В.И. Кулинского и соавт. [7], которые выявили при гипотермии повышение активности НАД-ИЦДГ, СДГ митохондрий. Повышение активности этих ферментов они связывают с увеличением в тканях содержания НА. По их данным, введение в организм животных НА в дозе 10^{-6} М вызывает активацию митохондриальных ферментов печени и сердца. Важно отметить, что предварительное введение животным антагониста β -адренорецепторов анаприлина (пропранолол) полностью снимает активацию ферментов. Данный факт

Таблица

Влияние ГК различной продолжительности на содержание катехоламинов и серотонина (мкг/г ткани) в тканях печени, сердца и надпочечников ($M \pm SD$)

Вид ткани	Катехоламины, серотонин	Контроль (n=7)	Гипокинезия		
			15 сут. (n=10)	30 сут. (n=10)	45 сут. (n=10)
Печень	А	2,23 $\pm$ 0,37	5,92 $\pm$ 0,52*	4,01 $\pm$ 0,53*	4,58 $\pm$ 1,12*
	НА	4,08 $\pm$ 0,85	5,06 $\pm$ 1,23	6,6 $\pm$ 1,55*	6,31 $\pm$ 0,64*
	Σ КА	6,31	10,98	10,61	10,89
	5-ОТ	1,23 $\pm$ 0,13	1,01 $\pm$ 0,14*	1,24 $\pm$ 0,35	1,16 $\pm$ 0,32
Сердце	А	1,99 $\pm$ 0,34	2,26 $\pm$ 0,42	0,93 $\pm$ 0,2*	1,23 $\pm$ 0,41*
	НА	2,91 $\pm$ 0,86	2,2 $\pm$ 0,56	3,43 $\pm$ 0,68	2,75 $\pm$ 0,58
	Σ КА	4,9	4,46	4,36	3,98
	5-ОТ	0,61 $\pm$ 0,16	0,66 $\pm$ 0,07	1,25 $\pm$ 0,2*	0,57 $\pm$ 0,17
Надпочечники	А	155,2 $\pm$ 41,04	284,5 $\pm$ 34,88*	168,87 $\pm$ 27,61	315,5 $\pm$ 75,59*
	НА	42,83 $\pm$ 8,6	31,92 $\pm$ 2,34	51,74 $\pm$ 17,03*	48,15 $\pm$ 23,88
	Σ КА	198,03	316,08	220,61	363,65
	5-ОТ	1,96 $\pm$ 0,96	2,41 $\pm$ 0,31	2,58 $\pm$ 0,44	2,2 $\pm$ 0,27

Примечание. Σ КА – сумма адреналина и норадреналина

* статистически достоверные данные по сравнению с контролем ($p < 0,05$)

свидетельствует о важной роли эндогенных КА и β -адренорецепторных механизмов в стимуляции НАД-ИЦДГ и СДГ при охлаждении.

На 45-е сутки ГК (таблица) также выявляются сдвиги в содержании эндогенных КА как по сравнению с контролем, так и с предыдущими сроками. Так, по сравнению с 30-ми сутками, наибольшие сдвиги в содержании КА наблюдаются в печени и надпочечниках. В миокарде в этот период содержание НА и 5-ОТ нормализуется, уменьшается дефицит А по сравнению с 30-ми сутками.

Повышение уровня А, НА в печени и надпочечниках на 45-е сутки ГК свидетельствует о второй волне активации САС. Не исключается, что активацией САС в этот период объясняется аналогичная направленность в сдвигах активности СДГ митохондрий, как мы наблюдали на 15-е сутки. Однако степень выраженности торможения активности СДГ митохондрий отличается и зависит от вида ткани. Исходя из литературных данных, мы в определенной степени эти сдвиги можем связать с изменениями эндогенного содержания КА (увеличение НА в печени, дефицит А в сердце). Однако разнонаправленность количественных сдвигов КА в исследуемых тканях при однонаправленности изменений в активности дегидрогеназ на 15- и 45-е сутки ГК не дает нам оснований считать определяющей роль сдвигов в уровне КА в изменении активности СДГ митохондрий.

Учитывая, что при любом стрессе (острый или

хронический) вследствие изменений в гормональном гомеостазе наблюдаются выраженные сдвиги в содержании глюкозы, свободных жирных кислот (СЖК) в тканях и крови, мы в последующих исследованиях провели изучение динамики уровня СЖК в крови.

Как показали исследования, вне зависимости от степени активации САС во все сроки ГК выявляется высокий уровень СЖК в сыворотке крови, превышающий в 2–2,3 раза уровень контрольных животных. Следует отметить, что уровень СЖК крови наряду с КА является важным индикатором активности САС. По литературным данным, использование жирных кислот (ЖК) в качестве основного энергетического субстрата в митохондриях является основной причиной нарушения работы цикла Кребса [9]. Из-за изменения соотношения окисления глюкоза/ЖК в митохондриях особенно страдает сердечная мышца в отличие от печени (что подтверждается вышеприведенными исследованиями), так как она не обладает механизмами, способствующими снижению уровня ацетил-КоА за счет направления последнего на синтез холестерина, кетоновых тел. Кроме того, для образования эквивалентного количества АТФ при окислении ЖК требуется на 10% больше кислорода по сравнению с глюкозой. Последний факт приобретает определенное значение в нарушении работы сердечной мышцы при ГК, так как установлено, что изменения в микроциркуляции приводят к частичной ишемизации тканей [1].

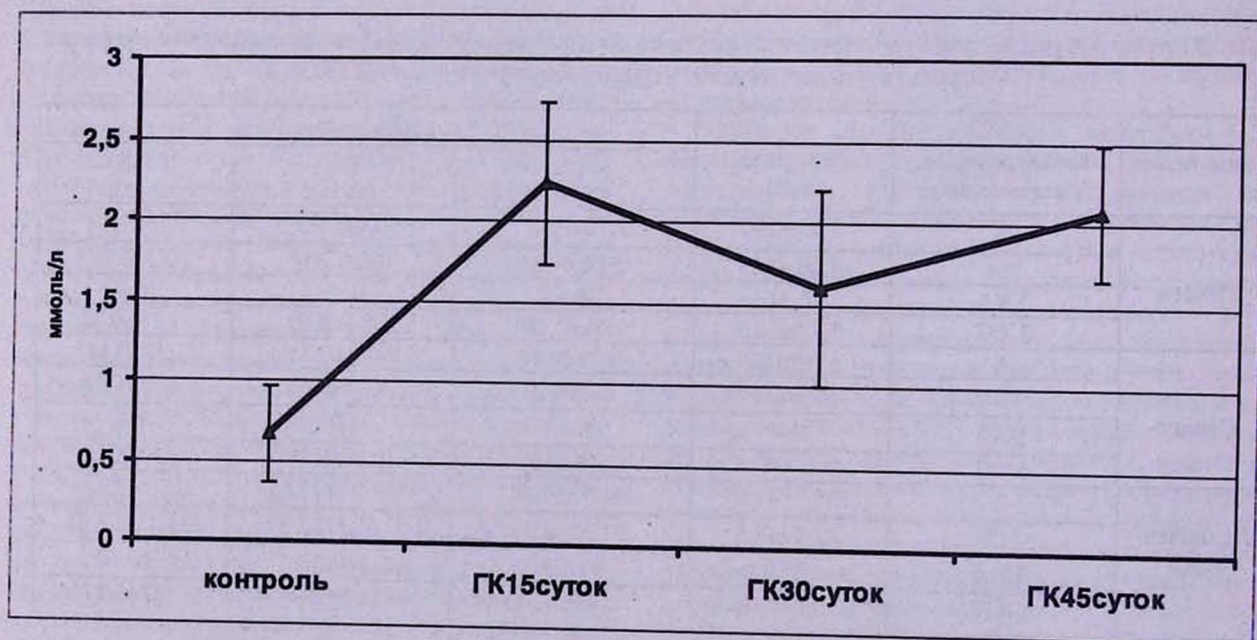


Рис. 2. Изменения в содержании СЖК в сыворотке крови белых крыс в различные сроки ГК (все изменения в пределах достоверности $p < 0,01$).

Более выраженное повреждающее действие избытка ЖК на сердечную мышцу послужило для кардиологов основанием к разработке медикаментозного воздействия на энергетический метаболизм миокарда в условиях инфаркта, ИБС, направленного на стимуляцию внутриклеточного обмена глюкозы и подавления метаболизма ЖК. Из целого ряда апробированных препаратов (никотиновая кислота, дихлорацетат, L-карнитин и т.д.) наиболее эффективным оказался три-метазидин (предуктал) [15]. По данным фармацевтической группы "Сервье", предуктал подавляет β -окисление ЖК, в результате чего окисление глюкозы становится одним из основных источников энергии в

сердечной мышце.

Таким образом, наши данные по изучению сдвигов в содержании КА в тканях печени, сердца и надпочечников, СЖК в крови свидетельствуют о фазности изменения активности САС, наиболее выраженной на 15- и 45-е сутки, в то время как на 30-е сутки она наименее активна. Увеличение содержания СЖК в крови при ГК создает метаболический фон, который нивелирует непосредственное действие КА на СДГ митохондрий печени и сердца. В условиях ГК наиболее выражено подавляется активность СДГ митохондрий сердца.

Поступила 15.01.04

Երկարատև սակավաշարժության ազդեցությունը կադեխոլամինների, սերոտոնինի պարունակության և միտոքոնդրիալ սուկցինատդեհիդրոգենազի ակտիվության վրա սպիտակ առնետների սրտամկանում և լյարդում

Օ.Պ. Սոցկի, Վ.Ն. Կարապետյան, Ի.Ժ. Լոռյան, Լ.Գ. Ժամհարյան

Սպիտակ առնետների լյարդում, սրտամկանում և մակերկամներում ԲԱՀԶ-ի մեթոդով որոշվել է կադեխոլամինների և սերոտոնինի պարունակությունը սակավաշարժության 15-, 30- և 45-րդ օրերին: Սակավաշարժության 15- և 45-րդ օրերին մակերկամներում և լյարդում կադեխոլամինների քանակի առավել արտահայտված բարձրացումը՝ 30-րդ օրվա համեմատ, վկայում է սիմպաթոադրենալային համակարգի ակտիվության փոփոխման փուլայնության մասին:

Լյարդում և սրտամկանում սակավաշարժության հետազոտվող ժամկետներում կադեխոլամինների պարունակության և միտոքոնդրիալ սուկցինատ-

դեհիդրոգենազի ակտիվության համեմատումը չհայտնաբերեց նրանց միջև ուղղակի կապի առկայություն:

Սակավաշարժության հետազոտվող օրերին սպիտակ առնետների արյան մեջ ազատ ճարպաթթուների քանակի բարձրացումը հիմք է տալիս ենթադրելու, որ լյարդի և հատկապես սրտամկանի սուկցինատդեհիդրոգենազի ընկճման հիմնական պատճառը միտոքոնդրիալ սուկցինատդեհիդրոգենազի օքսիդացմանը, որը բերում է Կրեբսի ցիկլի ֆերմենտների և, հատկապես, սուկցինատդեհիդրոգենազի, աշխատանքի խաթարմանը:

The influence of prolonged hypokinesia on the levels of catecholamines, serotonin and mitochondrial succinate dehydrogenase activity in white rat heart and liver

O.P. Sotski, V.H. Karapetyan, I.Zh. Loryan, L.G. Jamgaryan

The changes in contents of catecholamines and serotonin in liver, heart and adrenal glands were revealed by HPLC method on the 15, 30 and 45th days of hypokinesia.

The fact that the increase of the levels of catecholamines in adrenal glands and liver was more expressed on the 15th and 45th days of hypokinesia compared to the 30th day testify that the changes in sympathoadrenal system

have a phase nature.

The comparison between catecholamines and mitochondrial succinate dehydrogenase activity in liver and heart in investigated periods of hypokinesia did not reveal any direct correlations.

The increased levels of blood free fatty acids in rats allow us to suppose that the inhibition of succinate dehy-

drogenase in heart and liver was due to transfer of mainly free fatty acids to oxidation in that relationship.

The latter leads to the disturbance of enzyme activity

participating in TCA cycle, particularly succinate dehydrogenase.

Литература

1. *Акопян В.П.* Гипокинезия и мозговое кровообращение. М., 1999.
2. *Ахмеров Р.Н., Саакян И.Р.* Биофизика живой клетки. Пушино, 1973, 4, 1, с. 51.
3. *Ганин Ю.А.* Кардиология, 1983, 23, с. 87.
4. *Ершиков С.М.* Вопросы мед. химии, 1987, 33, с. 87.
5. *Кондрашова М.Н., Бабский А.М.* Укр. биохим. журн., 1986, 58, 5, с. 49.
6. *Кондрашова М.Н.* Молекулярные механизмы в регуляции энергетического обмена, Пушино. 1987, с. 140.
7. *Кулинский В.И., Медведев А.И., Кунцевич А.К.* Вопросы мед. химии, 1986, 32, 5, с. 84.
8. *Курцер Б.М., Зорькина Т.А.* Пат. физ. эксперим. терапия, 1987, 1, с. 11.
9. *Мак-Мюррей У.* Обмен веществ у человека. М., 1980.
10. *Медведев А.Е.* Вопросы мед. химии, 1990, 36, 5, с. 18.
11. *Соцкий О.П., Акопян В.П., Жамгарян Л.Г., Жамгарян А.Г.* Вопросы мед. химии, 2002, 48, 5, с. 485.
12. *Танбергенев С.О.* Вопросы мед. химии, 1982, т XX, 2, с. 52.
13. *Ущунко Н.Д.* Методы биохимических исследований. Л., 1982.
14. *Федоров И.Ф.* Обмен веществ при гиподинамии. Проблемы космической биологии. М., 1982.
15. *Шахнович Р.М.* РМЖ, 2001, 9, 15, с. 5.
16. *Breton L., Clot J.P., Bourianes J., Brandy M.* CR Sciences soc. biol. fil., 1987, 181:3.
17. *Lowry O.H., Rosebrough N.I., Farr A.L., Randall R.I.* J. Biol.Chem., 1951, 193, 1:265.
18. *Saakyan I.R., Saakyn S.G., Kondrashova M.N.* Biochemistry, 2001, Moscow, 66, 7:795.
19. *Schuster H.G., Pilz K.L.* Med. labor.-diagn., 1979, 20:212.

Гемореологические аспекты нарушений мозгового кровообращения в условиях гипокинезии и их коррекция ГАМК-миметиками и витамином Е

А.А. Манукян

ЕрГМУ им. М. Гераци, кафедра фармакологии

375025 Ереван, ул. Корюна 2

Ключевые слова: гипокинезия, локальный мозговой кровоток, агрегация, гематокрит, малоновый диальдегид, ГАМК-миметики, витамин Е

Малоподвижный образ жизни является фактором риска нарушений мозгового кровообращения, причиной которого могут быть изменения чувствительности мозговых сосудов к различным эндогенным вазоконстрикторам [26, 27]. Интенсификация процессов липидной перекисидации может стать причиной измененной чувствительности сосудов при гипокинезии (ГК) [28]. Значение различных патофизиологических механизмов в развитии церебральной ишемии при ГК не совсем ясно вследствие исключительной чувствительности нейроцитов к дефициту кислорода, особенностей структуры, регуляторных реакций и характеристик проницаемости мозговых сосудов. Несомненным фактором, осложняющим выяснение роли различных патофизиологических механизмов в развитии нарушений мозгового кровообращения при гиподинамии, является сама ГК как многокомпонентный патогенетический фактор развития церебральных дисциркуляций, оказывающий воздействие на все звенья регуляции мозгового кровотока.

Противоречивой остается роль гемореологических факторов в механизме развития ишемии мозга [45, 48]. Так, некоторые исследователи предполагают, что реология крови оказывает незначительное или вовсе не имеет никакого влияния на перфузию мозга [21, 22]. Данные литературы [25] свидетельствуют, что нормальный мозговой кровоток не зависит от гематокрита (самый важный показатель вязкости крови) даже в самом широком диапазоне его значений [25]. С другой стороны, даже незначительные реологические изменения в крови больных инсультом были признаны функционально значимыми, особенно в проявлении цереброваскулярной недостаточности [45, 46, 48].

Целью исследования является изучение возможных механизмов нарушения мозгового кровообращения в условиях ГК и возможность коррекции ГАМК-миметиками и витамином Е изменений мозгового кровотока.

Материал и методы

Исследования проводились на 35 кроликах-самцах массой тела 2,5–3,5 кг, которые содержались в условиях относительно слабого ограничения двигательной активности (животное, хотя и с трудом, но могло поворачиваться на 360° и подниматься на задние лапы). Животные были разделены на 7 групп по 5 животных в каждой. Первую – составили животные группы свободного контроля (СК), вторую – животные группы гипокинетического контроля (ГКК), которым внутрибрюшинно (в/б) вводили 1 раз в день физиологический раствор из расчета 1 мл/кг. Остальные 5 групп составили кролики опытных групп, получавших 1 раз в день в/б следующие препараты: малоновый диальдегид (МДА) в дозе 0.01 мл/кг; витамин Е – 1 мг/кг; пирролидон-2 (П) – 20 мг/кг; пироглутаминовую кислоту (ПК) – 20 мг/кг; ГАМК – 10 мг/кг. Необходимую концентрацию препарата растворяли в физиологическом растворе таким образом, чтобы каждый мл физиологического раствора содержал исходную концентрацию препарата.

Агрегация тромбоцитов исследовалась классическим нефелометрическим методом [20]. Кровь забирали из уха кроликов натощак в день эксперимента в пластмассовую пробирку, стабилизировалась 3,8% раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Затем проводили дифференциальное центрифугирование при 1500 об/мин в течение 6 минут. Обогащенную тромбоцитами плазму (ОТП) центрифугировали при 3000 об/мин в течение 12 минут и получали бедную тромбоцитами плазму (БТП). АДФ в концентрации 10^{-5} М служил в качестве индуктора агрегации. В кювету добавляли ОТП объемом 450 мкл, затем добавляли индуктор агрегации в объеме 5 мкл. Степень агрегации оценивали в процентах падения оптической плотности на агрегометре «Payton» (США), а также на двух-

канальном лазерном анализаторе агрегации тромбоцитов/счетчике модели 230LA НПФ Биолла. Прибор позволяет регистрировать агрегацию как тромбоцитов, так и других клеток, а также определять концентрацию клеток в суспензии. Агрегацию можно регистрировать как традиционным турбидометрическим методом, так и с помощью метода, основанного на оценке среднего размера агрегатов в реальном времени [38].

Одновременно определяли гематокрит с помощью аппарата Micro-hematocrit centrifuge CT-3400 фирмы ADAMS-READACRIT (США) по методу [50]. Кровь забирали в гепаринизированный капилляр PRE-CAL той же фирмы. Капилляр устанавливали в калиброванное гнездо и центрифугировали в течение 1 мин с высокой скоростью. Значения гематокрита выражали в процентах.

На следующий день после измерения агрегационной активности тромбоцитов (ААТ) определяли локальный мозговой кровоток (ЛМК) методом лазерной доплер-флоуметрии в теменной области под нембуталовым наркозом (40 мг/кг).

Кроме того, проводили биохимические исследования с определением активностей антиоксидантных ферментов (АОФ) – супероксиддисмутазы (СОД), каталазы (КАТ) и глутатионредуктазы (ГР) и измерением уровней продуктов липидной деградации – МДА и ацилгидроперекисей (АГП), а также содержания витамина Е (ВитЕ) в плазме и мембранах эритроцитов кроликов. Определяли активность ферментативного или NADPH-зависимого ПОЛ (НЗП) и неферментативного или аскорбатзависимого ПОЛ (АЗП).

Активность СОД определяли по ингибированию генерации супероксидных анион-радикалов в модельной системе феназинметосульфат-НАДН-нитротетразолий синий [37]. Активность ГР определяли по убыли NADPH, окисленного за 1 минуту в 1 мл эритроцитарной взвеси [42]. Количественное определение активности КАТ крови определяли методом [3]. Активность индуцированного ПОЛ в мембранах эритроцитов – АЗП и НЗП определяли по методу [5]. В плазме крови и мембранах эритроцитов измеряли содержание ВитЕ по методу [23], АГП по методу [6] и МДА по методу [51].

Активность АЗП и НЗП выражали в нМ МДА/мг; СОД – ед/мг; ГР – мМ NADPH/мл/мин; КАТ – ед/мг H_2O_2 ; концентрации МДА, АГП и ВитЕ в плазме и мембранах эритроцитов выражали в следующих единицах: нМ/мл, ед/мл, мг% и нМ/мг, ед/мг, мкг/мг соответственно.

В мембранах эритроцитов измеряли содержание белка по методу [34]. Выделение мембран эритроцитов проводили по методу [33].

Значения выражались как $M \pm SD$. Различия между значениями анализировались с помощью непараметрического Т-теста (непарного) с использованием про-

граммы Microsoft Excel. Значения $p < 0,05$ были признаны статистически достоверными.

Результаты и обсуждение

В условиях ГК отмечается повышение ААТ, причем наибольшее повышение ($181,7 \pm 108\%$) регистрируется на 45- и 15-е сутки ГК ($172,2 \pm 116,8\%$), а наименьшее – на 60-е ($99,6 \pm 89,8$) и 30-е сутки ГК ($118,4 \pm 31,4\%$) (табл. 1). Наибольшие изменения значений гематокрита наблюдаются на 15-е ($35,2 \pm 27,6\%$) и 45-е сутки ГК ($17,0 \pm 3,0\%$), а наименьшие – на 60-е ($-8,3 \pm 4,8\%$) и 30-е сутки ГК ($11,9 \pm 5,0\%$). Таким образом, в целом динамика изменений ААТ и гематокрита является идентичной, за исключением 15- и 45-х суток ГК, когда максимальные отклонения значений этих параметров меняются местами.

Однако полного совпадения в динамике изменений ААТ, гематокрита и ЛМК не наблюдается. Так, во все сроки ГК отмечается понижение ЛМК, причем максимальное уменьшение наблюдается на 30-е ($-27,1 \pm 0,73\%$) и 60-е сутки ГК ($-25,9 \pm 1,26\%$). Изменения ЛМК на 15- и 45-е сутки ГК составили $-20,49 \pm 1,06\%$ и $-21,6 \pm 0,4\%$ соответственно. Таким образом, на 60- и 30-е сутки ГК на фоне минимальных изменений значений ААТ и гематокрита регистрируется максимальное понижение ЛМК, а максимальное повышение ААТ и гематокрита на 15- и 45-е сутки ГК сопровождается минимальными изменениями ЛМК (табл. 1).

Полученные данные позволяют предположить, что изменения ААТ и гематокрита оказывают влияние на динамику сдвигов ЛМК в определенных пределах, так как в определенные сроки ГК наблюдается параллелизм между динамикой изменений ААТ, гематокрита и ЛМК. Так, если рассматривать в отдельности изменения ЛМК лишь на 30- и 60-е сутки ГК, то можно отметить обратно пропорциональную зависимость между изменениями ААТ и гематокрита, а именно, максимальное понижение ЛМК соответствует максимальному повышению значений ААТ и гематокрита. Аналогичная картина отмечается при сравнении динамики изменения ААТ и ЛМК на 15- и 45-е сутки ГК.

Отмеченные особенности динамики изменений ЛМК, гематокрита и ААТ позволяют предположить, что в различные сроки ГК патогенетические механизмы изменений указанных параметров различны.

Одним из возможных механизмов, объясняющих такую динамику изменений вышеуказанных параметров, может быть различная чувствительность мозговых сосудов и клеток крови (в особенности тромбоцитов и эритроцитов) на стрессовые воздействия, возникающие в условиях ГК. Причем, интенсивность воздействия как самой гиподинамией, так и ее эмоцио-

Таблица 1

Влияние ГК, МДА, ГАМК-миметиков и Вит Е на агрегацию тромбоцитов¹, гематокрит (%) и ЛМК у кроликов

	МДА (n = 5) (p1, p2)				
	СК	15 сут. ГК	30 сут. ГК	45 сут. ГК	60 сут. ГК
АГТР	15,51±4,37	48,76±11,14** 220,9±56,3%**	40,98±8,11** 172,6±52,8%**	48,06±18,7** 211,1±74,3%**	37,35±8,12** 148,2±47,3%**
ГЕМ	28,4±2,3	39±5,56** 38,2±24,0%**	35±4,63** 23,8±19,1%**	33,6±3,2** 18,8±14,1%**	33±3 16,6±12,1%
ЛМК	71,8±3,19	53,6±2,7** -25,34±1,55%	47,6±1,81** -33,67±1,3%	52,4±1,67** -26,9±2,1%	49,6±1,81** -30,88±1,7%
ГКК (n = 5) (p1 < 0,05)					
АГТР	19,03±1,93	52,65±25,58 172,2±116,8%	41,13±2,2 118,4±31,4%	52,04±12,98 181,7±108%	36,64±11,13 99,6±89,8%
ГЕМ	27±1,73	36,6±8,29 35,2±27,6%	30,2±1,92 11,9±5,0%	31,6±2,19 17,0±3,0%	24,8±2,77 -8,3±4,8%
ЛМК	69,4±3,84	55,2±3,7 -20,49±1,06%	50,6±3,13 -27,1±0,73%	54,4±3,2 -21,6±0,4%	51,4±2,88 -25,9±1,26%
ГАМК (n = 5) (p1, p2)					
АГТР	59,75±12,03	33,58±5,55** -42,4±13,06%	35,8±15,13** -41,4±13,7%	26,5±3,49 -54,6±8,9%	21,51±3,9 -62,5±10,8%
ГЕМ	31±2,54	27,6±2,6** -10,9±4,7%	25±2,23 -19,2±5,5%	22,8±2,16 -26,3±6,2%	21,4±2,4** -31,03±4,3%
ЛМК	70,8±5,71	62,2±5,26** -12,1±1,09%	56,2±4,76** -20,6±1,84%	58,2±4,38** -17,7±1,0%	57,8±4,91** -18,3±0,81%
Пирролидон (n = 5) (p1, p2)					
АГТР	37,63±2,67	68,24±17,79** 81,2±44,51%**	49,18±6,65** 30,92±17,5%	42,62±2,77** 13,7±11,25%*	25,67±5,48** -31,4±15,4%
ГЕМ	28,2±1,64	32,6±1,67** 15,7±4,6%**	25,8±2,48** -8,6±4,49%	23,4±2,4 -17,06±6,4%	20,8±1,92 -26,27±4,7%
ЛМК	70,8±8,16	59,4±6,8** -16,09±0,87%	55,8±6,22** -21,1±0,67%	57,8±6,61** -18,3±1,3%	57±6,63** -19,4±0,75%
Пироглутаминовая кислота (n = 5) (p1, p2)					
АГТР	37,8±2,61	67,92±17,71** 79,4±43,4%**	48,74±6,61** 29,1±17,2%	42,4±2,7* (**) 12,6±11,03%*	25,32±5,51** -32,6±15,5%
ГЕМ	27,6±1,51	31,6±1,67** 14,5±2,8%**	25,2±2,16 -8,7±4,4%	22,6±2,3 -18,1±7,2%	20±2 -27,4±7,1%
ЛМК	70±1,58	59,8±1,09** -14,5±0,97%	55±1,87** -21,4±1,2%	56,4±2,3** -19,4±1,62%	55,6±1,14** -20,5±0,44%
а-Токоферола ацетат (n = 5) (p1, p2)					
АГТР	27±2,75	51,25±12,3** 88,08±33,5%**	41,04±8,73** 50,58±18,6%	67,99±9,5** 154,2±45,7%**	32,06±1,56** 19,32±8,59%**
ГЕМ	31±3,8	40,2±4,81** 29,73±2,8%**	35,2±2,38 14,3±9,25%**	39,8±4,6 29,0±14,0%**	36,4±4,03 18,21±14,9%*
ЛМК	70,8±1,92	58,4±1,51** -17,5±0,47%	54,4±1,51** -23,1±0,99%	57±1,58** -19,4±0,37%	55,2±1,64** -22,03±0,6%
		p1 < 0,05; p2 < 0,05	p1 < 0,05; p2 < 0,05	p1 < 0,05; p2 < 0,05	p1 < 0,05; p2 < 0,05

¹ – выражен в виде процента падения оптической плотности

* p1 > 0,05 (при сравнении показателей ГКК и ОГ с показателями группы СК)

** p2 > 0,05 (при сравнении показателей ОГ с показателями группы ГКК)

нального компонента на ЛМК и ААТ может быть различной. Исходя из динамики изменений уровней катехоламинов в крови гипокинетичных животных, а именно увеличения концентрации катехоламинов в крови параллельно удлинению сроков ГК, можно прийти к заключению, что с повышением длительности сроков ГК интенсивность стресса нарастает [2]. Однако согласно такой динамике интенсивности стрессовых воздействий наибольшие изменения ААТ и ЛМК должны были отмечаться на 60-е сутки ГК, в то время как максимальное понижение ЛМК регистрируется на 30-е сутки ГК, а максимальное повышение ААТ отмечается на 45-е сутки ГК.

Исходя из вышесказанного, можно прийти к выводу, что активация симпатoadреналовой системы, наблюдающаяся при ГК, играет определенную, но не решающую роль в динамике изменений ААТ и ЛМК. Так, на ААТ гипокинетический стресс оказывает наиболее выраженное влияние на 45-е сутки ГК, несмотря на происходящие в организме гипокинетичных животных и людей, находящихся на длительном постельном режиме, адаптационные реакции [15, 26]. Согласно данным литературы [2], именно на 45-и 60-е сутки ГК активность симпатoadреналовой системы наибольшая, о чем свидетельствует повышение уровня катехоламинов в крови. О том же свидетельствуют данные [18], согласно которым уровень тревожности и страха повышается особенно заметно на 45- и 60-е сутки ГК. Однако на 45-е сутки ГК интенсивность реакций мозговых сосудов на гипокинетический стресс минимальна, что проявляется незначительным понижением ЛМК (табл. 1).

Вышеприведенные данные позволяют утверждать, что основной причиной нарушений мозгового кровотока при ГК является повышение сократительной активности мозговых сосудов, а не агрегационной активности тромбоцитов и вязкости крови. В основе описанной динамики изменений ААТ и ЛМК может лежать различная интенсивность процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в клетках крови и эндотелии сосудов и их разная чувствительность на различные эндогенные вещества, образующиеся при ПОЛ. Кроме того, описанные изменения могут быть следствием активации ПОЛ либо по неферментативному, либо ферментативному пути. Так, при активации НЗП образуются эндоперекиси, из которых в дальнейшем под действием циклооксигеназы образуются различные простагландины (PG) как с вазоконстрикторной, так и вазодилатирующей активностью. Главнейшими из них являются PGI_2 или простациклин с вазодилатирующей и антиагрегантной активностью и тромбоксан A_2 (TXA_2) с вазоконстрикторной и проагрегантной активностью. Конечный эффект, а именно, проагрегантный или антиагрегантный, вазодилатирующий или вазоконстрикторный, будет зависеть от соотношения уровней продуктов ПОЛ

(главным образом, TXA_2 и PGI_2) в тромбоцитах и эндотелии сосудов, обладающих противоположными эффектами.

Для установления точной взаимосвязи между динамикой изменения индуцированного ПОЛ и ААТ необходимо определение активностей АЗП и НЗП не только в мембранах эритроцитов и тромбоцитов, но и в других клетках крови, так как конечный эффект будет зависеть от соотношения суммарных уровней продуктов липидной дегградации, определяемых уровнями активностей АЗП и НЗП во всех клетках крови и эндотелии сосудов. Так, известно, что в некоторых клетках, например моноцитах, возможно образование изопростанов, в частности 8-эпипростагландин $F_{2\alpha}$, при участии COX-2 [41].

Активация НЗП в эндотелии сосудов приводит к образованию простациклина, а в тромбоцитах – тромбоксана A_2 . Известно, что АГП угнетают НЗП, тем самым способствуя активации АЗП, во время которой образуются изопростаны, которые по своему строению близки к тромбоксану A_2 и повторяют его проагрегантные и вазоконстрикторные свойства [8]. Таким образом, активация НЗП в сосудах приведет к антиагрегантному эффекту, чему будет противодействовать тромбоксан A_2 , образующийся в тромбоцитах. Угнетение же НЗП может привести к развитию проагрегантного эффекта, так как в условиях активации АЗП в основном образуются соединения, обладающие вазоконстрикторной и проагрегантной активностью. Кроме того, активацию НЗП трудно будет связать с каким-либо одним эффектом – антиагрегантным или проагрегантным, так как конечный эффект будет зависеть от степени интенсивности протекания ферментативного ПОЛ в клетках крови и эндотелии сосудов. В условиях 15-суточной ГК высокая интенсивность НЗП сопровождается высокой ААТ. Резкое повышение интенсивности НЗП, отмечающееся на 45-е сутки ГК, сопровождается повышением ААТ, а в условиях 60-суточной ГК спад активности НЗП сопровождается понижением активности ААТ. Таким образом, можно прийти к заключению, что активация НЗП сопровождается преобладанием образования проагрегантных соединений, то есть, способность сосудистого эндотелия синтезировать простациклин уступает тромбоксан-синтезирующей способности клеток крови (эритроцитов и тромбоцитов). Это можно объяснить динамикой изменения АГП как в плазме, так и в особенности мембранах эритроцитов.

Как известно, сосудистый эндотелий достигает "васкулярной Нирваны" в условиях равновесия между антикоагуляционной, антитромбоцитарной, антигипертензивной, противовоспалительной и антиметастатической активностями. Можно предположить, что любое нарушение этой "Нирваны" приведет к драматическим последствиям. Эти последствия проявляют-

Таблица 2

Влияние ГК, МДА, ГАМК-миметиков и Вит Е на активность ГР,
СОД и КАТ у кроликов

ГР	МДА (n = 5) (p1, p2)				
	СК	15 сут. ГК	30 сут. ГК	45 сут. ГК	60 сут. ГК
	105±20,91	60±13,69** -40,6±17,9%**	35±13,69** -67,3±7,5%**	75±17,67** -28,6±7,9%**	45±11,18** -55,6±15,3%**
СОД	36,2±1,48	45,6±2,3 26,2±10,5%	20,4±2,3 -43,4±7,7%	38,6±2,4** 6,5±4,0%**	23,6±2,3 -34,5±8,3%
КАТ	8,04±0,13	5,44±0,19 -32,3±1,3%	4,8±0,25 -40,2±3,3%	6,6±0,29 -17,8±4,07%	5,96±0,2 -25,8±2,56%
ГКК (n = 5) (p1 < 0,05)					
ГР	110±13,69	70±11,18 -36±10,8%	50±17,67 -55±13,2%	80±20,91 -28±12,5%	45±11,18 -59±10,2%
СОД	35,8±1,3	40,6±1,14 13,4±2,6%	27±2 -24,4±6,5%	38,8±2,28 8,3±4,4%	28,8±1,64 -19,4±6,2%
КАТ	8±0,15	5,85±0,23 -26,8±3,4%	5,48±0,14 -31,5±0,6%	6,8±0,31 -14,9±4,5%	6,2±0,29 -22,5±3,2%
ГАМК (n = 5) (p1, p2)					
ГР	100±17,67	115±13,69* 16,6±15,5%*	75±17,67** -24,6±15,1%	135±22,3 35,6±13,9%	80±20,91** -20,6±12,5%
СОД	36,4±2,4	43,6±2,79 19,8±3,2%**	44±1,87 21,2±9,4%	67,8±4,76 86,3±8,7%	41±2,23 12,7±2,05%
КАТ	8,06±0,2	10,26±0,37 27,3±5,6%	8,48±0,31 5,2±3,5%	16±0,58 98,6±9,5%	12±0,63 48,9±8,8%
Пирролидон -2 (n = 5) (p1, p2)					
ГР	95±20,91	80±11,18*(**) -14±12,9%*	70±20,91** -25,6±18,3%	130±11,18 41,6±28,8%	75±17,67** -20,6±12,5%
СОД	36,2±2,58	40,8±2,58 12,7±1,9%**	37,6±2,19 3,9±1,7%	66±3,74 82,9±13,8%	38,6±2,7 6,6±2,6%
КАТ	8,04±0,08	8,9±0,22 10,7±3,1%	7,6±0,15 -5,4±2,53%	13,14±0,32 63,4±4,7%	9,5±0,15 18,1±2,7%
Пироглутаминовая кислота (n = 5) (p1, p2)					
ГР	95±20,91	85±13,69*(**) -6,3±27,9%*(**)	80±11,18*(**) -11,3±28,8%*	115±13,69*(**) 24,9±27,6%*	75±25** -22,3±13,7%
СОД	35,8±2,94	40,4±2,3 13,09±4,7%**	37±2,23* 3,5±3,6%*	65,6±3,91 84,02±15,2%	38,2±2,77 6,8±4,7%
КАТ	8,04±0,2	6,88±0,19 -14,3±3,1%	8±0,15* -0,45±2,8%*	10,12±0,33 25,9±6,3%	9±0,31 11,9±4,2%
а-Токоферола ацетат (n = 5) (p1, p2)					
ГР	100±17,67	75±17,67** -24±17,8%**	55±11,18** -44,6±7,6%**	120±20,91 20,6±12,5%	60±13,69** -38,6±15,6%**
СОД	36±1,87	45,8±1,78 27,5±8,9%	29,6±1,51** -17,4±7,7%**	59,6±3,64 65,7±10,5%	19,8±3,03 -44,5±10,9%
КАТ	8,04±0,11	6,3±0,15 -21,6±1,9%	7,72±0,17 -3,9±2,3%	8,92±0,19 10,9±2,9%	8,68±0,13 7,9±2,6%
		p1 < 0,05; p2 < 0,05	p1 < 0,05; p2 < 0,05	p1 < 0,05; p2 < 0,05	p1 < 0,05; p2 < 0,05

* p1 > 0,05 (при сравнении показателей ГКК и ОГ с показателями группы СК)

** p2 > 0,05 (при сравнении показателей ОГ с показателями группы ГКК)

ся в виде: 1) дисфункции эндотелиальных клеток, состояния, характеризующегося потерей базальной или индуцированной агонистом продукции окиси азота; 2) пертурбации эндотелиальных клеток – происходит при изменении фенотипа эндотелиальных клеток, например, с антикоагулянтного на прокоагулянтный; 3) апоптозной гибели клеток.

Увеличение концентрации АГП в плазме, а также их накопление в мембранах эритроцитов могут стать причиной таких изменений. Известно, что продукты липидной деградации (15-гидроксипероксиарахидоновая кислота, липидные пероксиды) могут угнетать образование PGI_2 , подавляя активность простаглицин-синтазы [24]. Нашими ранними исследованиями [29] было установлено, что в условиях ГК отмечается уменьшение образования простаглицина сосудистой стенкой и повышение агрегации тромбоцитов в плазме и цельной крови у травматологических больных, находящихся на строгом постельном режиме, а также у экспериментальных животных.

Кроме того, одной из причин повышения реактивности мозговых сосудов к различным вазоконстрикторам [29] может стать накопление токсических соединений, отмечаемое при интенсификации ПОЛ, которые приводят к понижению чувствительности реакции миорелаксации на ацетилхолин [32, 43], а также к инактивации NO [30, 36].

Супероксидный радикал способен вызвать дисфункцию эндотелиальных клеток [44], что может привести к вазоконстрикции и гемореологическим изменениям. Динамика изменений активности СОД коррелирует с динамикой изменений ЛМК. Так, понижение активности СОД на $-24,4 \pm 6,5\%$ и $-19,4 \pm 6,2\%$ сопровождается понижением ЛМК на $-27,1 \pm 0,73\%$ и $-25,9 \pm 1,26\%$ на 30- и 60-е сутки ГК соответственно. Повышение активности СОД на $13,4 \pm 2,6\%$ и $8,3 \pm 4,4\%$ сопровождается меньшим понижением ЛМК на $-20,49 \pm 1,06\%$ и $-21,6 \pm 0,4\%$ на 15- и 45-е сутки ГК соответственно (табл. 1 и 2).

Аналогична картина изменений активности КАТ и ЛМК. На 30-е сутки ГК на фоне максимального понижения активности КАТ ($-31,5 \pm 0,6\%$) регистрируется максимальное понижение ЛМК. На 45-е сутки ГК минимальное понижение активности КАТ ($-14,9 \pm 4,5\%$) сопровождается меньшей степенью понижения ЛМК. Отличие в динамике изменений отмечается лишь в условиях 15-суточной ГК, когда на фоне более низкой активности КАТ по сравнению с таковой на 45- и 60-е сутки ГК регистрируется относительно меньшее понижение ЛМК (табл. 1 и 2).

Необходимо отметить, что роль ферментов глутатионовой системы в обезвреживании H_2O_2 в тканях значительно более весома, чем КАТ, так как действие последней ограничено пероксисомами. У глутатионпероксидазы более высокое сродство к H_2O_2 , что определяет ее ведущую роль в метаболизме H_2O_2 при

более низких физиологических концентрациях [10]. Из этого следует, что в мозговой ткани, где низка активность КАТ, ведущая роль в обезвреживании H_2O_2 принадлежит ферментам глутатионовой системы. Резкое угнетение последних на фоне увеличения активности СОД на 15- и 45-е сутки ГК, а также сравнительно меньшего понижения его активности в остальные сроки ГК (табл. 2) приводит к увеличению количества H_2O_2 . Учитывая тот факт, что H_2O_2 свободно диффундирует через клеточные мембраны и вызывает сокращение гладких мышц сосудов [17], нетрудно заметить, что причиной изменений ЛМК при ГК может стать изменение активностей АОФ. Кроме того, в сером и белом веществе мозга обнаружена высокая концентрация аскорбиновой кислоты, которая в отсутствие металлов переменной валентности играет роль антиоксиданта. Однако при нарушении мозгового кровообращения, когда повышается уровень "активной формы" железа, аскорбиновая кислота начинает стимулировать генерацию H_2O_2 , способной генерировать $OH^\cdot$, являющийся цитотоксичным агентом [40].

Следует подчеркнуть, что индуцированная гемоглобином агрегация может полностью блокироваться каталазой или скавенджерами радикалов [35]. Интенсификация ПОЛ понижает эффективность системы антиоксидантной ферментной защиты, что проявляется относительной или абсолютной недостаточностью активности АОФ (табл. 2). Так, на фоне относительно скромного понижения активности КАТ более выраженное падение активности ГР приводит к неэффективной детоксикации H_2O_2 , что может повысить как спонтанную, так и адреналин-индуцированную агрегацию тромбоцитов [19].

Необходимо отметить, что была выявлена динамическая корреляция между агрегацией тромбоцитов и изменениями уровней продуктов ПОЛ и активности ферментов антиоксидантной системы [31]. Однако сложность определения степени участия происходящих в самих тромбоцитах процессов липидной перекисидации в изменении агрегационной активности кровяных пластинок состоит в том, что при действии соединений, возбуждающих агрегацию тромбоцитов, происходит биосинтез простаглицлинов и тромбоксанов, образующихся из жирных кислот, находящихся в плазме и являющихся составными частями фосфолипидов, эфиров холестерина и триглицеридов [7]. Иначе говоря, ААТ будет зависеть не только от интенсивности протекающей в самих кровяных клетках липидной перекисидации, но и от липидного состава крови и интенсивности протекания в этих молекулах ПОЛ.

Вышесказанное приобретает особую важность, если учесть, что окисленные формы липопротеинов низкой плотности (ox-LDL) могут вызвать эндотелиальную дисфункцию [47]. Как известно, интенсифика-

Таблица 3

Влияние ГК, МДА, ГАМК-миметиков и Вит Е на уровни АГП и МДА в плазме и мембране эритроцитов кроликов (** $p_2 > 0,05$)

	АГП пл.	СК	15 сут. ГК	30 сут. ГК	45 сут. ГК	60 сут. ГК
		1,64±0,08 %	2,4±0,15 46,3±14,8	3,76±0,24 129,2±23,1	2,12±0,19** 28,8±9,9**	3,94±0,2 140,1±21,4
МДА n=5; p1,2	АГП мемб.	0,622±0,05 %	7±0,53 1029,9±111,2	8,52±0,31 1278,1±135,6	5,8±0,48 834,02± 65,9	6,1±0,31 883,08±48,2
	МДА пл.	3,3±0,15 %	6,98±0,24 112,1±17,4	11,92±0,46 261,4±9,6	5,52±0,38 67,9±19,1	12,7±0,31 285,2±11,4
	МДА мемб.	0,396±0,01 %	10,12±1,01 2463,3±326,5	15,74±0,65 3883,1±290,3	8,76±0,79 2114,5±220,1**	20,1±1,09** 4980,6±325,7**
	МДА пл.	0,396±0,01 %	10,12±1,01 2463,3±326,5	15,74±0,65 3883,1±290,3	8,76±0,79 2114,5±220,1**	20,1±1,09** 4980,6±325,7**
ГКК n=5; p1	АГП пл.	1,65±0,07 %	2,92±0,13 77,3±13,3	4,02±0,21 144,1±19,1	2,54±0,33 54,7±25,8	4,26±0,21 158,9±22,01
	АГП мемб.	0,62±0,04 %	9±0,48 1359,3±147,8	11,08±0,48 1695,1±153,1	6,72±0,23 987,6±60,3	8,34±0,39 1251,6±123,5
	МДА пл.	3,2±0,15 %	5,68±0,32 77,5±8,6	8,96±0,38 180,4±16,7	4,54±0,34 41,7±5,6	10±0,47 212,7±14,6
	МДА мемб.	0,396±0,01 %	13,62±0,78 3337,2±103,8	19,54±0,48 4836,1±133,5	8,06±1,06 1941,1±309,2	19,2±0,5 4750,4±145,7
Вит. Е n=5; p1,2	АГП пл.	1,642±0,08 %	2,34±0,23 42,7±14,6	1,86±0,11 13,4±7,5	2,14±0,16** 30,4±10,1**	3,84±0,11 134,7±19,9
	АГП мемб.	0,618±0,03 %	5,5±0,2 793,7±79,9	5,02±0,17 715,5±70,7	3,06±0,27 397± 56	6,46±0,35 948,6±88,6
	МДА пл.	3,22±0,14 %	4,38±0,28 36,1±9,6	6,86±0,3 113,4±14,7	3,94±0,36 22,3±8,8	10,1±0,57** 214±19,7**
	МДА мемб.	0,394±0,008 %	8,5±0,74 2055,2±148,0	12,66±0,48 3098,4±136,4	7,34±0,96 1758,9±281,7	8,86±0,59 2135,7±97,7
П n=5; p1,2	АГП пл.	1,652±0,06 %	2,38±0,21 44,6±18,3	2,2±0,15 33,5±14,4	2,06±0,11** 25,04±11,5**	3,36±0,11 103,7± 12,2
	АГП мемб.	0,622±0,04 %	5,16±0,27 733,7±86,7	5,46±0,18 781,7±76,7	3,44±0,27 455±56,6	4,3±0,22 593,5±55,9
	МДА пл.	3,18±0,16 %	4,54±0,23 43,1±12,3	6,98±0,31 120,1±17,9	3,9±0,25 23,1±13,5**	10,32±0,48 225,6±29,8**
	МДА мемб.	0,402±0,01 %	8,9±0,68 2111,4±99,6	13,1±0,44 3161,7±164,6	7,1±0,81 1672±251,2	10,32±0,43 2468,4±115,4
ПК n=5; p1,2	АГП пл.	1,648±0,05 %	2,44±0,19 48,4±16,6	2,26±0,15 37,4±12,9	2,16±0,16** 31,4±14,4**	3,42±0,14 107,7±11,7
	АГП мемб.	0,626±0,03 %	5,22±0,25 742,8±79,9	5,5±0,2 785,3±77,3	3,48±0,24 459,7±56,5	4,34±0,23 597,6±56,3
	МДА пл.	3,12±0,21 %	4,58±0,17 47,3±11,8	7,02±0,3 125,9±19,8	3,94±0,25 27,04±14,8**	10,4±0,57 235,5±40,4**
	МДА мемб.	0,404±0,01 %	8,94±0,66 2112,4±143,4	13,16±0,43 3161,2±187,3	7,14±0,79 1670,8±228,3	10,38±0,42 2470,2±110,3
ГАМК n=5; p1,2	АГП пл.	1,648±0,05 %	2,08±0,08 26,4±8,9	1,98±0,08 20,3±8,3	1,92±0,08** 16,7±8,4**	3,16±0,15 91,9±10,8
	АГП мемб.	0,624±0,04 %	4,9±0,33 690,1±96,8	5,1±0,24 720,9±74,5	3,1±0,21 399,4±55,5	3,88±0,19 524,2±54
	МДА пл.	3,24±0,11 %	4,16±0,27 28,4±8,2	6,56±0,35 102,4±9,2	3,7±0,3 14,2±9,8	9,46±0,18** 192,2±10,5
	МДА мемб.	0,396±0,01 %	8,18±0,83 1962,7±150,7	12,06±0,37 2949,6±158	6,84±0,94 1635,8±292,8	8,82±0,58 2126,±81,7

ция ПОЛ вызывает окисление LDL [49] и изменение конформации апопротеина В, что может привести к повышению захвата LDL клетками сосудистой стенки [11]. Окисление LDL при контакте с эндотелиальными клетками разрушает домен апо В-100, который связывается с LDL рецептором, но образует ox-LDL, связывающиеся со скавенджерным рецептором макрофагов. Ox-LDL ответственны за накопление липидных макрофагов и способствуют угнетению базальной или индуцированной агонистом продукции окиси азота [47]. Однако не менее важными могут оказаться и другие механизмы. Лизофосфатидилхолин окисленного LDL может индуцировать образование супероксидного радикала [39], вызывающего дисфункцию эндотелиальных клеток [44].

Необходимо отметить, что редокс-комплексы митохондрий могут восстанавливать кислород по одноэлектронному механизму, приводя к образованию в мембране супероксидного радикала, способного взаимодействовать с жирными кислотами фосфолипидов, образуя липидные пероксиды. Причем, в данном случае присутствие СОД не влияет на процессы липидной пероксидации [9]. Вот почему при интенсификации ПОЛ ключевую роль играет не супероксидный радикал, а АГП. Большие концентрации АГП угнетают СОХ и липоксигеназу – ключевые ферменты ферментативного окисления липидов. На фоне угнетения НЗП отмечается усиление АЗП. Результаты наших экспериментов показывают, что во все сроки ГК отмечается усиление как НЗП, так и АЗП, причем интенсивность НЗП превосходит таковую АЗП во все сроки ГК. На 15-е сутки ГК активность НЗП незначительно превосходит таковую АЗП и уровень активности как ферментативного, так и неферментативного ПОЛ относительно низкий. Необходимо отметить, что в условиях 15-суточной ГК активация ПОЛ отчасти может нести компенсаторный характер, о чем свидетельствуют слабо выраженные морфологические изменения мозговой ткани [2]. В условиях 60-суточной ГК отмечается наибольший разрыв между активностями НЗП и АЗП (1362,8% – с 1500,9 до 138,1%), и именно в эти сроки ГК отмечаются грубые морфологические изменения мозговой ткани, что объясняется интенсивным окислением фосфолипидов мембран с их морфологическим и функциональным нарушением на фоне резкого истощения защитных ресурсов организма [2].

Снижение уровня витамина Е в мембранах эритроцитов может создать условия для активации процессов НЗП. Так, в условиях 15-суточной ГК резкое уменьшение содержания витамина Е в мембранах эритроцитов ($-69,7 \pm 2,4\%$) сопровождается резким усилением активности как АЗП ($119,3 \pm 12,5$), так и НЗП ($427,4 \pm 78,8\%$). На 30-е сутки ГК дальнейшее понижение содержания витамина Е в мембранах эритроцитов ($-73,6 \pm 2,4\%$) сопровождается еще большей активацией НЗП ($1331,3 \pm 136,2\%$), причем активность АЗП так-

же повышается ($824,1 \pm 111,5\%$). В условиях 45-суточной ГК на фоне незначительного изменения концентрации витамина Е в мембранах эритроцитов, составившего 2% (с $-73,6$ до $-71,6\%$), отмечается дальнейшее повышение активности и НЗП и АЗП ($1990,4 \pm 158,6$ и $1046,1 \pm 85,4$ соответственно). Интересные изменения отмечаются на 60-е сутки ГК. Так, на фоне дальнейшего понижения содержания витамина Е в мембранах эритроцитов ($-78,01 \pm 1,2\%$) отмечается резкое падение активности АЗП (с $1046,1 \pm 85,4\%$ до $138,1 \pm 7,17\%$) на фоне умеренного понижения НЗП (с $1990,4 \pm 158,6\%$ до $1500,9 \pm 287,6\%$) (табл. 4), что можно объяснить резким истощением защитных ресурсов организма, о чем свидетельствуют грубые морфологические изменения нервной ткани даже на фоне понижения интенсивности ПОЛ.

Изменение активности НЗП зависит также от динамики изменения АГП, так как к АГП наиболее чувствительна ГР. Повышение концентрации АГП в плазме приводит к понижению активности ГР. Та же картина в основном отмечается и с динамикой изменений содержания АГП в мембране эритроцитов и интенсивности НЗП. Однако максимальное повышение содержания АГП на 30- и 60-е сутки ГК соответствует максимальному понижению интенсивности НЗП на 60- и 30-е сутки ГК соответственно.

Следует отметить, что сосудистая стенка является наиболее ранимым объектом для индукции ПОЛ благодаря высокой концентрации кислорода в крови и его низкой утилизации. Действие активных форм кислорода и липидных пероксидов на сосудистый эндотелий, приводящее к десквамации эндотелия, является возможным механизмом влияния индуцированного ПОЛ на структуры сосудистой стенки. В результате этого формируются дефекты, в которые проникают плазменные компоненты, включая атерогенные фракции липидов. Одновременно свободные радикалы атакуют эластические и коллагеновые волокна сосудистой стенки, формируя перекрестные "мостики" и вызывая деструкцию и фрагментацию. Благодаря действию протеаз и лизосомальных ферментов возникает отек и утолщение базальной мембраны сосудов, что способствует развитию гиперкоагуляции и микроциркуляторных нарушений [4].

Нашими ранними исследованиями было показано, что продукт ферментативного ПОЛ – МДА обладает проагрегантной активностью *in vitro* и центральной вазоконстрикторной активностью, что выражается в уменьшении ЛМК при его в/в введении кошкам и повышении сократимости изолированного лоскута мозговых артерий собак [12, 13, 16]. Как видно из табл. 1, МДА обладает также проагрегантной активностью *in vivo*, что проявляется в повышении ААТ на $220,9 \pm 56,3\%$, $172,6 \pm 52,8\%$, $211,1 \pm 4,3\%$ и $148,2 \pm 47,3\%$ на 15, 30, 45 и 60-е сутки ГК соответственно. Причем, не наблюдается четкого параллелизма между повыше-

Таблица 4

Влияние ГК, МДА, ГАМК-миметиков и ВитЕ на интенсивность АЗП и НЗП
 (** $p_2 > 0,05$)

	ВитЕ	СК	15 сут. ГК	30 сут. ГК	45 сут. ГК	60 сут. ГК
		пл.	пл.	пл.	пл.	пл.
МДА n=5; p1,2	ВитЕ пл.	0,0658±0,003 %	0,15±0,003 128,3±12,07**	0,173±0,003 163,4±15,9**	0,1742±0,006** 165,2±16,05**	0,187±0,005 184,8±18,7**
	ВитЕ мемб.	0,0896±0,002 %	0,023±0,002 -74,3±2,4	0,0194±0,001 -78,3±1,6	0,0214±0,002 -76,1±2,08	0,0177±0,001 -80,2±1,01
	АЗП	3,64±0,16 %	73,4±5,63 1918,9±166,7	8,52±0,79 133,6±13,01	44,8±2,86 1131,2±67,8	10,8±1,92 195,9±43,9
	НЗП	1,66±0,18 %	13,66±0,93 729,1±90,3	6,94±0,84 321,04±59,7**	29,2±1,92 1677,5±235,09	23,6±2,7 1332,1±201,3**
ГКК n=5; p1	ВитЕ пл.	0,0664±0,003 %	0,145±0,005 118,7±12,6	0,1694±0,002 155,7±15,6	0,175±0,003 164,1±15,6	0,2±0,01 201,7±19,6
	ВитЕ мемб.	0,0888±0,002 %	0,0268±0,002 -69,7±2,4	0,0234±0,002 -73,6±2,4	0,0252±0,001 -71,6±1,9	0,0195±0,001 -78,01±1,2
	АЗП	3,62±0,19 %	33,4±3,84 824,1±111,5	7,94±0,58 119,3±12,5	41,4±2,07 1046,1±85,4	8,62±0,48 138,1±7,17
	НЗП	1,68±0,13 %	24±2,54 1331,3±136,2	8,8±0,83 427,4±78,8	35±2 1990,4±158,6	26,6±2,7 1500,9±287,6
Вит.Е n=5; p1,2	ВитЕ пл.	0,0662±0,004 %	0,212±0,01 220,4±11,7	0,231±0,01 249,3±15,2	0,243±0,008 267,9±21,3	0,225±0,01 240,3±16,04
	ВитЕ мемб.	0,0886±0,002 %	0,0314±0,002 -64,5±2,1	0,0262±0,001 -70,3±1,9	0,028±0,0007 -68,3±1,5	0,0223±0,0008 -74,8±0,84
	АЗП	3,58±0,23 %	28,8±2,16 706,2±64,8	7,46±0,71 108,3±13,5	32,6±2,4 812,7±75,6	8,26±0,42 131,1±11,9**
	НЗП	1,6±0,27 %	10,62±1,01 577,6±122,6	2,8±0,15 79,5±34,8	5,72±0,36 263,5±46,7	7,76±0,93 392,2±73,5
П n=5; p1,2	ВитЕ пл.	0,067±0,002 %	0,155±0,006 131,4±9,6**	0,1756±0,003 162,3±9,8**	0,18±0,004 168,9±11,7**	0,204±0,004 204,7±13,3**
	ВитЕ мемб.	0,0882±0,002 %	0,0286±0,001 -67,5±1,19	0,025±0,001 -71,6±1,8	0,0272±0,001 -69,1±1,39	0,0208±0,001** -76,4±0,89
	АЗП	3,6±0,24 %	32,4±2,07** 804,6±100,7**	7,84±0,63** 117,7±7,8**	34,6±2,4 865,6±105,6	7,68±0,43 113,4±3,25
	НЗП	1,62±0,21 %	11,4±1,51 614,9±136,8	3,28±0,46 104,4±31,1	20±1,58 1151,4±194,9	17,2±1,92 976,7±188,8
ПК n=5; p1,2	ВитЕ пл.	0,0666±0,002 %	0,1552±0,006 133,1±7,7**	0,176±0,003 164,5±10,8**	0,1804±0,004 171,2±14,4**	0,2±0,009** 200,6±17,8**
	ВитЕ мемб.	0,0874±0,003 %	0,0284±0,001** -67,2±1,4	0,0248±0,001** -71,5±2,5**	0,0268±0,001 -69,2±2,0	0,0206±0,0008** -76,4±1,2**
	АЗП	3,56±0,27 %	32,8±1,78** 826,6±101,5**	7,88±0,58** 121,5±7,96**	35±2,12 888,4±105,7**	7,74±0,41 117,7±6,39
	НЗП	1,6±0,18 %	11,8±1,3 646,9±126,3	3,32±0,42 108,6±24,8	20,4±1,14 1189,8±179,4	17,8±1,64 1022,8±151,8
ГАМК n=5; p1,2	ВитЕ пл.	0,0662±0,002 %	0,161±0,006 143,6±15,8	0,1782±0,004 169,5±10,9**	0,1734±0,004** 162,1±8,7**	0,198±0,005** 199,6±18,2**
	ВитЕ мемб.	0,0832±0,01 %	0,0348±0,0008 -57,5±6,3	0,0288±0,001 -64,7±6,2	0,0378±0,001 -53,8±7,8	0,0223±0,0008 -72,7±4,5
	АЗП	3,64±0,21 %	26,8±2,38 637,4±66,4	7,2±0,46 97,8±7,57**	27±2,82 644,6±100,3	6,88±0,54 89,5±18,3
	НЗП	1,66±0,11 %	8,22±0,49 396,7±39,2	2,96±0,43 78,3±23,3	15,4±1,94 827,5±98,1	11±1,58 564,1±99,9

нием ААТ и понижением ЛМК. Так, наибольшее понижение ЛМК под действием МДА отмечается на 30-е сутки ГК ($-33,67 \pm 1,3\%$), а наибольшее повышение ААТ и гематокрита отмечается на 15-е сутки ГК, когда понижение ЛМК минимально ($-25,34 \pm 1,55\%$). Вышеуказанные данные позволяют судить о разной чувствительности тромбоцитов и эндотелия сосудов к МДА в различные сроки ГК.

Кроме того, причиной повышения ААТ и понижения ЛМК под действием МДА могут стать изменения активностей АОФ, которые носят однотипный характер, однако более выражены по сравнению с динамикой изменений активностей АОФ животных ГКК (табл. 2). Однако под действием МДА содержание АГП и МДА в плазме и мембране эритроцитов понижается по сравнению с теми же показателями группы ГКК, что можно объяснить мембранными эффектами МДА, который, встраиваясь в структуру мембран, может понизить интенсивность НЗП, активность которого ниже активности НЗП группы ГКК (табл. 2 и 4). Та же картина наблюдается и под действием витамина Е, активность которого проявляется только при захвате витамина Е мембраной клетки. Наверно, этим можно объяснить меньший прирост интенсивности ААТ в группах животных, получавших витамин Е и МДА, по сравнению со степенью прироста ААТ группы ГКК.

В патогенезе изменений сосудистого тонуса и функций клеток крови большую роль играет функциональное состояние системы "сосудистая стенка — клетки крови". Известно, что состояние сосудистой стенки может оказать влияние на функциональное состояние клеток крови, а функциональная активность последних отражается на тонусе сосудов. Однако очень трудно выделить ведущий патогенетический механизм изменений функциональной активности тромбоцитов и тонуса мозговых сосудов в условиях ГК, так как слишком много факторов могут оказать воздействие на сосудистую и тромбоцитарную функцию.

Нашими ранними работами было показано, что ГАМК и ее производные обладают антиоксидантной активностью *in vitro*. Причем, антиоксидантная активность циклических производных превосходит таковую самой ГАМК, что может быть связано с химической структурой этих соединений [14]. Однако в условиях *in vivo* ГАМК превосходит по своей антиоксидантной активности как П, ПК, так и ВитЕ, что проявляется в положительной динамике изменений актив-

ностей АОФ (табл. 2), АЗП (табл. 4), а также в меньшем приросте в плазме и мембране эритроцитов АГП и МДА (табл. 3). ВитЕ более эффективно угнетает НЗП, чем ГАМК, за исключением лишь 30-х суток ГК, когда ГАМК незначительно превосходит ВитЕ в способности угнетать НЗП (ГАМК: $78,3 \pm 23,3\%$, ВитЕ: $79,5 \pm 34,8\%$), что можно объяснить мембранными эффектами ВитЕ. Прирост содержания АГП в плазме и мембране эритроцитов под действием ВитЕ ниже такового под действием ГАМК лишь в условиях 30-суточной ГК. Под действием ВитЕ содержание этого витамина в плазме превосходит содержание ВитЕ под действием ГАМК во все сроки ГК, однако ГАМК эффективнее ВитЕ повышает его содержание в мембранах эритроцитов во все сроки ГК. Причем, следует отметить, что свободный ВитЕ (в плазме) не имеет активности и повышение его содержания в плазме не говорит о положительной динамике, так как одновременно может наблюдаться уменьшение содержания ВитЕ в мембранах. Более того, повышение уровня ВитЕ в плазме может свидетельствовать о повышении перекисного повреждения мембран. О положительной динамике можно говорить при понижении количества витамина Е в плазме и повышении в мембранах эритроцитов под действием ГАМК, связанном с улучшением энергетики клетки благодаря ее метаболическим и антигипоксическим эффектам, что может способствовать захвату витамина Е мембранами эритроцитов. Улучшение реологических свойств крови под действием ГАМК можно объяснить ее прямой вазодилатирующей, антигипоксической, антиоксидантной и антиагрегантной активностями [1]. Витамин Е почти не влияет на ЛМК и повышает гематокрит во все сроки ГК за исключением 15-суточной ГК.

Таким образом, ГАМК-миметики и витамин Е могут компенсировать возникающие при гипокинетическом стрессе нарушения мозгового кровообращения благодаря регуляции интенсивности процессов ПОЛ и тем самым уменьшению возможности пертурбации эндотелиальных клеток, нормализации активности АОФ с уменьшением концентрации соединений, обладающих прямой (H_2O_2 , МДА) и непрямо (липидные эндопероксиды) вазоконстрикторной, а также проагрегантной активностью. Кроме того, компенсация мозгового кровотока в условиях ГК происходит благодаря уменьшению ААТ. Наиболее эффективна в этом отношении ГАМК.

Поступила 15.02.04

**Ուղեղի արյան շրջանառության խանգարումների հեմոռեոլոգիական
ասպեկտները սակավաշարժության պայմաններում և նրանց համադրումը
ԳԱԿԹ միմետիկներով և վիտամին Ե-ով**

Ա.Ն. Մանուկյան

Սակավաշարժության պայմաններում նկատվում է ուղեղի արյան շրջանառության (ՌԲԱԸ) նվազում՝ աճած հեմատոկրիտով (<) և քլոմբոցիտների ագրեգացիոն ակտիվության ուժեղացմամբ (ԹԱԱ) պայմանավորված բարձրացած արյան մածուցիկության հետևանքով: Սակավաշարժության պայմաններում նկատվող ճարպերի գերօքսիդացման ուժեղացումը կարող է հեմոդինամիկ տեղաշարժերի

պատճառ հանդիսանալ, քանի որ այդ պայմաններում նկատվող ճարպերի գերօքսիդացման միջանկյալ արգասիք հանդիսացող մալոնային երկալդեհիդի կուտակումը բերում է ինչպես Հ-ի, այնպես էլ ԹԱԱ բարձրացման: ԳԱԿԹ միմետիկները և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:

Hemorheological aspects of cerebral blood flow infringements in hypokinesia conditions and their correction by GABA mimetics and vitamin E

A.H. Manukyan

In hypokinesia condition a decrease in local cerebral blood flow (CBF) is noted owing to the increase in blood viscosity stipulated by the rise of hematocrit (H) and platelet aggregating activity (PAA) increase. The intensification of lipid peroxidation processes (LPO) may be the reason of hemodynamic changes, since malonic dialde-

hyde – a product of lipid degradation, accumulation of which is observed in LPO intensification, increases both PAA and H. GABA and its derivatives as well as vitamin E are capable of regulating above mentioned changes compensating CBF violations.

Լիտերատուրա

1. *Առոյան Վ.Ս.* Գիպոկինեզիա և մոզգային արյան շրջանառությունը. Մ., 1999.
2. *Բարսեղյան Ս.Ժ., Կանյան Ա.Տ., Կնարյան Վ.Ա., Արաքելյան Լ.Ա.* Երկրորդ համաշխարհային պատերազմի հետևանքների և բուժման հարցերը. Երևան, 1998, XXXVIII, 1-2, ժ. 10.
3. *Բերեզով Կ.Կ., Բուրով Կ.Ս., Վոլկով Լ.Վ. և օր.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
4. *Բոբիլով Լ.Ե.* Երկրորդ համաշխարհային պատերազմի հետևանքների և բուժման հարցերը. Երևան, 1998, 1, ժ. 74.
5. *Վլադիմիրով Կ.Ս., Արաքելյան Լ.Ա.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
6. *Գաբրիելով Բ.Բ., Միսկորյան Կ.Կ.* Լաբորատոր լիտերատուրա. Երևան, 1983, 3, ժ. 33.
7. *Գաբրիելով Կ.Կ., Կաշիկով Կ.Կ.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
8. *Գրիգորյան Կ.Կ.* Երկրորդ համաշխարհային պատերազմի հետևանքների և բուժման հարցերը. Երևան, 1997, 1-2, ժ. 2.
9. *Դմիտրիև Լ.Փ., Իվանով Կ.Կ., Իվանով Կ.Կ. և օր.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
10. *Դուբինին Կ.Կ.* Երկրորդ համաշխարհային պատերազմի հետևանքների և բուժման հարցերը. Երևան, 1998, 1, ժ. 80.
11. *Լանկին Վ.Յ., Վիլերտ Ա.Մ.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
12. *Մանուկյան Ա.Ա., Միրզոյան Ս.Ա., Առոյան Վ.Ս.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
13. *Մանուկյան Ա.Ա., Միրզոյան Ս.Ա., Առոյան Վ.Ս.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
14. *Մանուկյան Ա.Ա.* Երկրորդ համաշխարհային պատերազմի հետևանքների և բուժման հարցերը. Երևան, 1997, 37 (3-4), ժ. 66.
15. *Մանուկյան Ա.Ա., Առոյան Վ.Ս.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
16. *Միրզոյան Ս.Ա., Միկրտչյան Ս.Լ., Մանուկյան Ա.Ա.* Կն.: Մանուկյան Վ.Ս. Կարգավորումը և վիտամին Ե-ն կարող են կարգավորել վերոհիշյալ տեղաշարժերը՝ կարգավորելով ՌԲԱԸ փոփոխությունները:
17. *Մորոզով Կ.Կ.* Երկրորդ համաշխարհային պատերազմի հետևանքների և բուժման հարցերը. Երևան, 1998, 398.

18. Степанян З.В. Автореферат на соискание ученой степени канд. мед. наук. Ереван, 2000.
19. Aksenova V.M., Gogoleva O.I. Gig.Tr.Prof.Zabol., 1992, p. 25.
20. Born G.V.R. J. Physiol. (London), 1962, p. 67.
21. Brown M.M., Marshall J. Br. Med. J., 1982, 284:1733.
22. Brown M.M., Marshall J. Lancet, March 1985, 16:604.
23. Duggan D.D. Arch. Biochim. Biophys., 1954, 84(1), p. 116.
24. Gryglewski R.J., Bunting S., Moncada S., Flowe R.J., Vane J.R. Prostaglandins, 1976, 12: 685.
25. Haggendal E., Norback B. Acta Chir. Scand., 1966, (suppl.):364:3.
26. Hakopian V.P., Kocharyan A.G., Yedigaryova L.V., Manukyan A.H., Hakopyan A.A. XXI collegium Internationale. Neuro-Psychopharmacologicum Congress. Glasgow, United Kindom, July 12-16 1998, PT08025.
27. Hakopian V.P., Kocharyan A.G., Manukyan A.H. 2nd European congress of pharmacology. Drugs against disease to improve quality of life: gateway to the 21st century through EPHAR symposia. Budapest, Hungary, 3-7 July. Fundamental and clinical pharmacology, 1999; 13(suppl. 1):PW70.
28. Hakopyan V.P., Melkonyan K.V., Manukyan A.H. 60th international congress of FIP. Pharmacy World Congress. "Pharmacy in the 21st century; the way forward", Vienna, Austria, 26-31 August 2000, CBS-P-228.
29. Kocharian A.G., Hakopian V.P., Manukyan A.H. et al. VI World confer. on clinical pharmacology and therapeutics, Argentina, Buenos-Aires, 1996, p.111
30. Kostjuk V.A., Poljuschovich G.S. Bull. Exper. Biol. and Med., 1999;2:137.
31. Krivokhizhina I.V., Kanyukov S.A., Ermolaeva E.N., Marysheva E.F. Kazan Med. J., Abstracts, 2002, 4, p. 273.
32. Kugiyama K., Motoyama T., Hirashima O., Ohgushi M., Soejima H., Misumi K., Kawano H., Miyao Y., Yoshimura M. J.Am.Coll.Cardiol., 1998;32(1):103.
33. Libmer G., Davie R., Baur A. Blood, 1970, 36(2), p. 111.
34. Lowry O., Rosenbrough N., Farr A. J. Biol. Chem., 1952, 193(1), p. 265.
35. Luliano L., Violi F., Pedersen J.Z. et al. Arch.Biochem.Biophys., 1992; 209(8): 220.
36. Lynch S., Frei B., Morrow J. et al. Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol., 1997;17(11):2975.
37. Nishikimi M., Rao N., Yagi K. Biochim. Biophys. Res. Commun., 1972, 46(2), p. 849.
38. O'Brien J.R. Platelet aggregation. Part II. Some results of a new study. J. Clin. Pathol., 1962;15:452.
39. Ohara Y., Peterson T.E., Zheng B., Kuo J.F., Harrison D.G. Arterioscler. Thromb., 1994, 14:1007.
40. Otero P., Viana M., Herrera E., Bonet B. Free Radic. Res., 1997; 104(6):619.
41. Patrigniani P., Santini G., Panara M.R., Sciulli M.G. et al. Br. J. Pharmacol., 1996, 116, p. 1295.
42. Pinto R., Bartley W. Biochim. J., 1969, 112, p. 109.
43. Rodriguez-Martinez M., Alonso M., Redondo J., Salaries M., Marrin J. Br.J.Pharmacol., 1998;123(1):113.
44. Rubanyl G.M., Vanhoutte P.M. Am.J.Physiol., 1986; 260:H822-7.
45. Schmid-Schonbein H. Eur. Neurol., 1983; 22(suppl. 1):2.
46. Schneider R., Wobker G., Willmes K., Jung F., Kiesewetter H. Klin. Wochenschr., 1986, 64:357.
47. Tanner F.C., Noll G., Boulanger C.M., Luscher T.F. Circulation, 1991; 83:2012.
48. Thomas D.J. Stroke, 1982; 13:285.
49. Thomas S., Davies M., Stocker R. Chem.Res.Toxicol., 1998; 1389(5):484.
50. Wintrobe M.M. Clinical hematology. 5th edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1961.
51. Yoshioka T., Kawada K., Shimoda T., Mori M. Amer. J. Obstet. and Gynecol., 1979, 135(3), p. 372.

Связывающая способность сывороточного альбумина в условиях длительной гипокинезии

И.Ж. Лорян

ЕрГМУ им. М.Гераци, кафедра фармакологии

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: гипокинезия, сывороточный альбумин, связывающая способность альбумина, свободные жирные кислоты

Сывороточный альбумин (СА) – важнейший транспортный белок плазмы крови, обладающий аффинитетом к широкому спектру эндогенных и экзогенных лигандов, включая лекарства [3,14,15].

Установление модулирующего действия ряда эндогенных метаболитов (свободных жирных кислот (СЖК), билирубина, желчных кислот, глюкозы и др.) на связывающую функцию альбумина объяснило одну из причин изменения фармакокинетических параметров лекарств при ряде патологических состояний [10,13,15].

В этом аспекте большой интерес представляет изучение фармакокинетических параметров, в частности связывающей функции альбумина при гипокинезии (ГК), широко распространенном патологическом состоянии, сопровождающемся глубокими нарушениями в обменных процессах [1,5,11]. Немногочисленные данные о сдвигах в чувствительности организма к лекарствам свидетельствуют об изменении фармакокинетики в условиях ГК, однако роль транспортной функции альбумина в данном вопросе не установлена [2,8,9].

Исходя из вышеизложенного, целью данного исследования является определение общей концентрации альбумина, содержания СЖК и влияния этих показателей на связывающую способность альбумина (ССА) в условиях ГК различной продолжительности.

Материал и методы

Исследования проведены на 55 белых беспородных крысах-самцах массой 180–200 г. ГК достигалась помещением крыс в индивидуальные клетки-пеналы из органического стекла сроком на 15, 30 и 45 суток. Контрольные крысы содержались в обычных условиях вивария. Материалом для исследования служила сыворотка крови, получаемая после декапитации под эфирным наркозом.

Исследование свойств альбумина сыворотки кро-

ви подопытных животных проводилось флюоресцентным методом с использованием зонда К-35 (набор реактивов «Зонд-альбумин», серия ОП-0893, «Серум-альфа», Россия), предложенным Ю.И. Миллером и Г.Е. Добрецовым [4,7]. Интенсивность флюоресценции измеряли на флюоресцентном спектрофотометре «Hitachi MPF-2A» (Япония) в стандартных кварцевых кюветках сечением 1х1 см. Флюориметрия проводилась при длине возбуждающего света 420 нм, флюоресценции – 520 нм. Калибровку флюорометра проводили по нативным сывороткам 10 контрольных крыс с известной концентрацией альбумина. На основе флюоресцентных исследований вычислялись показатели – эффективная концентрация альбумина (ЭКА) и общая концентрация альбумина (ОКА). Связывающая способность альбумина определялась как соотношение ЭКА(г/л) к ОКА(г/л) × 100%.

Массовую концентрацию альбумина (МКА) определяли методом микроанализа с помощью бромкрезолового пурпурного (Delta, Армения) согласно прилагаемой инструкции.

Концентрацию СЖК в сыворотке крови определяли колориметрическим микрометодом при длине волны 492 нм по Н.Г. Schuster [18] и выражали в ммоль/л.

Значения измеряемых величин представлены в виде средних величин (X) из n результатов измерений и стандартного отклонения (SD). Достоверность различий между измеряемыми параметрами определяли по t-критерию Стьюдента, двухвыборочного для двустороннего распределения. Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Microsoft Excel 2000.

Результаты и обсуждение

Учитывая, что ССА в первую очередь зависит от количества альбумина в плазме крови, нами было изучено его содержание в исследуемые сроки ГК следующими методами: унифицированным методом, с

Таблица

Изменения показателей ОКА и МКА сыворотки крови в контроле и при ГК различной продолжительности ($\bar{X} \pm SD$)

Методы	Контроль	ГК15 суток	ГК30 суток	ГК45 суток
ОКА(г/л)	39,75±5,4	45,6±3,37	46,1±3,96	42,2±7,37
МКА(г/л)	39,75±6,1	44±11,6	41,8±7,67	43±3,7
n	10	15	15	15

использованием бромкрезолового пурпурного (МКА) и флуоресцентного зонда К-35 (ОКА).

Результаты исследования, приведенные в таблице, показывают, что во все исследуемые сроки ГК ОКА сыворотки крови, определенная двумя указанными выше методами, совпадает и остается в пределах нормы (35–50 г/л). По литературным данным, ОКА уменьшается лишь в поздние сроки ГК (49–70 суток), что согласуется с нашими данными [9].

На рис. 1 показана динамика изменений показателей ЭКА и ССА. ЭКА это концентрация свободных, не занятых никакими лигандами центров связывания альбумина в сыворотке крови. ССА – характеризует удельную функциональную активность альбумина по связыванию веществ. Из рис. 1 видно, что показатели ЭКА и ССА снижаются во все сроки ГК. Так ССА наиболее снижена на 15-е (на 26%) и в особенности на 45-е сутки ГК (на 51%). На 30-е сутки ГК ЭКА практически не изменяется (данные являются статистически недостоверными), а ССА снижается лишь на

15%. Снижение ЭКА, в особенности на 15- и 45-е сутки ГК, свидетельствует о появлении определенных факторов в крови, влияющих на третичную структуру СА, приводящих к уменьшению связывания зонда СА, что и приводит к уменьшению интенсивности флуоресценции К-35.

Уменьшение ССА при неизменности общего содержания альбумина в крови было выявлено при ряде других патологий (острый инфаркт миокарда, печеночная и почечная недостаточность, перитонит, шизофрения и др.) различными методами [3,4,6].

Изучение причин блокирования центров связывания молекулы альбумина при различных физиологических и патологических состояниях выявило ряд факторов, приводящих к снижению ССА. К ним относятся целый ряд низкомолекулярных лигандов: СЖК, билирубин, желчные кислоты, глюкоза. Исследователи считают СЖК наиболее важными регуляторами связывания веществ с альбумином. Модулирующее действие СЖК на молекулу альбумина, осуществляемое по аллостерическому механизму, зависит не только от длины цепей (пальмитиновая, олеиновая, стеариновая и др.), но и от их количества в плазме крови.

Учитывая данные о роли СЖК как модуляторов ССА, мы решили установить взаимосвязь между концентрацией СЖК и направленностью в изменениях показателей, характеризующих ее в указанные сроки ГК. Необходимость изучения СЖК диктуется также тем фактом, что ГК является хроническим стрессом, сопровождающимся активацией симпатоадреналовой системы, приводящей к усилению липолиза и наводнению плазмы крови СЖК. По нашим данным (рис. 2), концентрация СЖК повышается в 2–3 раза во все сроки ГК по сравнению с контролем, но наиболее вы-

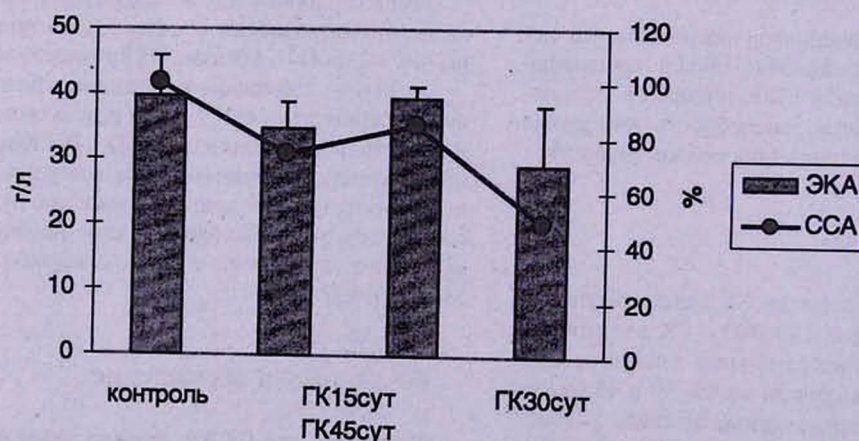


Рис. 1. Динамика изменений эффективности концентрации сывороточного альбумина и его связывающей способности у интактных и гипокинетичных крыс

раженное повышение наблюдается на 15- и 45-е сутки ГК.

Учитывая тот факт, что характер модулирующего действия СЖК зависит от молярного соотношения СЖК/альбумин, нами было рассчитано также молярное соотношение СЖК/ОКА в различные сроки ГК (рис. 2). Известно, что при соотношении, равном 2 и менее, происходит аллостерическое увеличение связывающей способности, а при соотношении, равном более 2 – уменьшение [10,13,15]. Расчеты показали,

что на 15- и 45-е сутки ГК, когда выявлена пониженная ССА, соотношение СЖК/ОКА выше 3, а на 30-е сутки ГК, когда ССА незначительно понижена, соотношение СЖК/ОКА равно 2,29. На правомерность такой интерпретации взаимосвязи вышеперечисленных показателей в исследуемые сроки ГК указывает статистически достоверная отрицательная корреляционная связь на 15- и 45-е сутки ($r=-0,44$ и $r=-0,67$, соответственно).

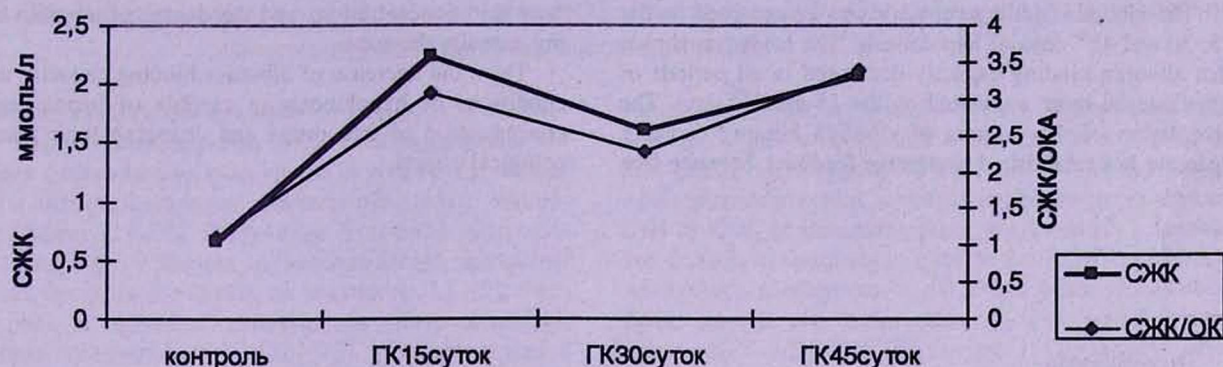


Рис. 2. Динамика изменений содержания СЖК сыворотки крови и молярного соотношения СЖК/ОКА в исследуемых группах. Уровень значимости различий по сравнению с контролем во всех группах составил $p<0,001$

Таким образом, проведенные исследования показали, что в условиях продолжительной ГК происходит снижение ССА, наиболее выраженное на 15- и 45-е сутки. Общее количество альбумина в исследуемые сроки ГК не изменяется и сохраняется в пределах контрольных величин. Одной из основных причин снижения ССА в условиях ГК является резкое увеличение концентрации СЖК в крови экспериментальных животных. Наблюдаемое в условиях ГК снижение ССА

способно привести к увеличению концентрации свободной формы лекарств и изменению фармакологического эффекта последних. Кроме того, результаты сопоставления определения общего количества альбумина в сыворотке крови унифицированным методом с флюоресцентным методом (набор реактивов «Зонд-альбумин») дает основание рекомендовать последний для определения концентрации альбумина в клинических исследованиях.

Поступила 27.01.04

Արբուսների կապող ունակությունը երկարատև սակավաշարժության պայմաններում

Ի.Ժ. Լոռյան

Հետազոտվել է արյան շիճուկի արբուսների կապող ունակությունը սակավաշարժության 15-, 30- և 45-րդ օրերին: Յույց է տրված, որ արբուսների կապող ունակությունը նվազել է սակավաշարժության

հետազոտվող բոլոր ժամանակաշրջաններում, սակայն առավել արտահայտված անկում դիտվել է 15 և 45-րդ օրերին: Սակավաշարժության պայմաններում արբուսների կապող ունակության նվազման

սպառնալից պարզաբանումը բացահայտել է ազատ ճարպաթթուների և շիճուկային ալբումինի կապող ունակության իջեցման միջև հակադարձ կոռելյացիոն կապի առկայությունը:

Եզրակացվում է, որ սակավաշարժության պայ-

մաններում ալբումինի կապող ունակության նվազումը ունակ է բերել դեղերի ազատ ձևերի կոնցենտրացիայի բարձրացման և վերջիններիս ֆարմակոլոգիական էֆեկտի փոփոխման:

Albumin binding capacity under conditions of prolonged hypokinesia

I.Zh. Loryan

The albumin binding capacity was investigated on the 15, 30 and 45th days of hypokinesia. The study has shown that albumin binding capacity decreased in all periods of hypokinesia, more expressed on the 15 and 45th days. The elucidation of the reasons of albumin binding capacity decrease has established a negative feedback between free

fatty acid concentrations and the degree of albumin binding capacity decrease.

Thus, the decrease of albumin binding capacity under conditions of hypokinesia is capable of increasing the concentration of free drugs and changing their pharmacological effects.

Литература

1. Акопян В.П. Гипокинезия и мозговое кровообращение. М., 1999.
2. Акопян В.П., Мелконян К.В., Самвелян В.М., Ширинян Э.А., Мирзоян Н.Р. Экспер. и клин. фармакология, 1997, 5, с. 31.
3. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине, кн. I. М., 1994.
4. Грызунов Ю.А., Добрецов Г.Е. Альбумин сыворотки крови в клинической медицине, кн. II. М., 1998.
5. Коваленко Е.А. Гипокинезия (тез. докл.). М., 1997, с. 35.
6. Лопухин А.А., Добрецов Г.Е., Грызунов Ю.А. Бюл. экспер. биол. и мед., 2000, 130, 7, с. 4.
7. Миллер Ю.И., Добрецов Г.Е. Клин. лаб. диагностика, 1994, 5, с. 20.
8. Носков В.Б. Гипокинезия (тез. докл.). М., 1997, с. 60.
9. Федоров И.В. Обмен веществ при гиподинамии. М., 1982, с. 68.
10. Черкас Л.П., Киричек Л.Т. Изучение фармакологической активности дигоксина и строфантина при гипокинезии различной продолжительности. Харьков, 1983.
11. Bhattacharya A.A., Grune T., Curry S. J. Mol. Biol., 2000, 303:721.
12. Booth F.W., Manu V. Chakravarthy J. Appl. Physiol., 2002, 93:3.
13. Goodman, q Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, Copyright, 10/e, 2001.
14. Hamilton J.A. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, 2002, 67:65.
15. He X.M., Carter D.C. Nature, 1992, 358:209.
16. Vorum H., Honore B. J. Phar. Pharmacol., 1996, 48:870.
17. Petipias I., Ananyo A., Bhattacharya A.A., Sue Twine, JBC, 2001, 25:22804.
18. Schuster H.G., Pilz K.L. Med. labor.-diagn., 1979, 20:212.

Х-облучение эритроцитарных мембран и цитохрома $b_{558}III$ *in vitro* стимулирует агрегацию последнего и снижает его O_2^- -продуцирующую и метгемоглобин-восстанавливающую активность

Р.М.Симонян, Г.М.Симонян, М.А.Бабаян, М.А.Симонян

Институт биохимии им. Г.Х.Бунятыана НАН РА

375014 Ереван, ул.П.Севака, 5/1

Ключевые слова: цитохром b_{558} , эритроцитарные мембраны, метгемоглобин, феррогемоглобин, нитроксильный радикал, восстановление

Под воздействием Х-лучей (рентгеновское облучение) происходит радиолиз воды с образованием активных форм кислорода *in vitro* и *in vivo* [1–12], а ферменты антиоксидантного действия оказывают защитный эффект [18–20]. Облучение Х-лучами эритроцитов стимулирует липидную пероксидацию эритроцитарных мембран и снижает их текучесть [13, 17]. Особая роль в процессе денатурации эритроцитарных мембран придается O_2^- и H_2O_2 [13], которые наряду с нитроксильным радикалом ($NO^\bullet$) являются сигнальными молекулами оксидативного повреждения [16]. При этом $NO^\bullet$ способен превратить оксигемоглобин (оксиНб) в метНб во внутрисосудистом пространстве головного мозга крыс, что является нежелательным фактором для кислородного гомеостаза в мозговой ткани [14, 22]. Превращение оксиНб в метНб наблюдается и в водных растворах под воздействием $NO^\bullet$, образующихся из органических нитритов [10]. Однако по предварительным результатам [2], эритроцитарный мембранный цитохром $b_{558}III$ (этот белок является ФАД, $NO^\bullet$ -содержащим и НАДРН-зависимым O_2^- -продуцирующим гликогемопротейном), наоборот, превращает метНб в оксиНб *in vitro* [21]. С другой стороны, цитохром $b_{558}III$ очень чувствителен к воздействию H_2O_2 [3], уровень которого в самих эритроцитах при Х-облучении повышается. Однако вопрос о механизме прямого воздействия Х-лучей на состояние цитохрома $b_{558}III$ – нового функционально-структурного элемента мембран эритроцитов пока остается нерешенным.

Материал и методы

Цитохром $b_{558}III$ выделяли из человеческих эритроцитарных мембран (по 10 мл) и очищали биотехнологическим способом [8] без использования детергента в качестве солибилизирующего агента эритроци-

тарных мембранных белков [4] до электрофоретически гомогенного состояния и растворяли в 0.01 М калий-фосфатном буфере (КФБ), pH 7.4. Другую порцию эритроцитарных мембран очищали (промывали) 0.04 М КФБ до полного удаления следов Нб и элементов плазмы и смешивали с 0.1 М КФБ. Далее образцы препаратов цитохрома $b_{558}III$ и эритроцитарных мембран (по 10 мл) подвергали облучению Х-лучами (доза – 1.75, 3.5 и 5.25 Гр) *in vitro*. НАДРН-зависимую O_2^- -продуцирующую активность цитохрома $b_{558}III$ определяли нитротетразолиевым синим тестом (НТС). За единицу O_2^- -продуцирующей активности принимали то количество цитохрома $b_{558}III$, которое вызывает 50% увеличение образования формазана (при 560 нм) в результате восстановления НТС супероксидными радикалами ($O_2^\bullet$). Удельная O_2^- -продуцирующая активность цитохрома $b_{558}III$ [2] была определена в расчете на 1 мл этого гемопротеина. МетНб-восстанавливающую активность цитохрома $b_{558}III$ определяли спектрофотометрическим методом путем регистрации плотности оптического поглощения оксиНб (при 555 нм), образующегося под воздействием определенного количества этого гемопротеина (поглощение метНб при 565 нм равнялось 1.0, а поглощение цитохрома $b_{558}III$ при 530 нм в реакционной смеси составляло 0.02) [21]. Эта реакционная смесь нагревалась в кварцевых кюветах при 36° в течение 4–5 ч, затем без смешивания реакционной смеси регистрировался оптический спектр поглощения оксиНб при 555 нм.

Оптические спектры поглощения и кинетические кривые образования оксиНб регистрировали на спектрофотометре "Specord M-40" (Германия) с длиной оптического пробега 1 см.

Результаты и обсуждение

В отличие от необлученных эритроцитарных мем-

бран, при их облучении X-лучами часть полученного из них цитохрома $b_{558}III$ переходит в нерастворимый в 0.04 М КФБ осадок (происходит агрегация этого гемопропротеина). При увеличении доз облучения повышается доля осаждаемого цитохрома b_{558} . Этот осадок растворяется при pH 9.5 (после диализа против воды с соответственной нейтрализацией этого цитохрома).

Его оптический спектр поглощения в основном совпадает со спектром цитохрома b_{558} , не осевшего при облучении X-лучами (рис.1 а,б.). Хотя отношение A_{412}/A_{530} уменьшалось в 1.5–1.7 раза, после облучения X-лучами в аналогичном режиме раствора цитохрома $b_{558}III$ *in vitro* явления самоагрегации или потери растворимости не происходит. Однако плотность

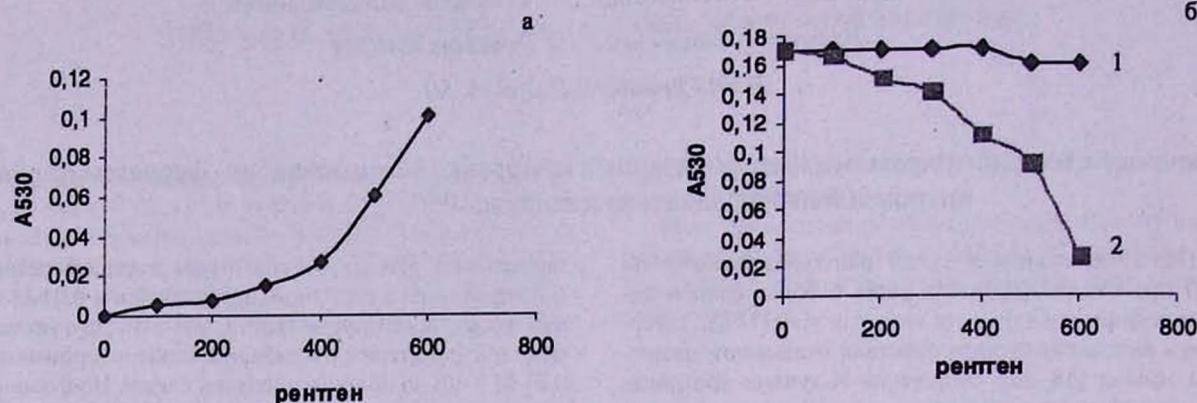


Рис.1. Плотность оптических поглощений агрегированного (а) и неагрегированного (б) цитохрома $b_{558}III$ из мембран эритроцитов после облучения этих мембран *in vitro* и растворов цитохрома $b_{558}III$ различными дозами X-лучей:

а – для цитохрома $b_{558}III$ после солиubilизации его осадка при pH 9.5 с дальнейшим диализом против воды и центрифугирования;

б – 1 – для неагрегированного цитохрома $b_{558}III$ из облученных эритроцитарных мембран;

2 – для облученного цитохрома $b_{558}III$.

поглощения полосы Core (при 412 нм) несколько снижалась (A_{412}/A_{530} уменьшалось в 1.2–1.3 раза). По-видимому, в результате радиолитического разложения воды *in vitro* образовавшаяся H_2O_2 несколько уменьшает нативность цитохрома $b_{558}III$ [3]. Усиление агрегации цитохрома $b_{558}III$ из облученных эритроцитов, возможно, связано с некоторым превращением (покраснением) цитохрома $b_{558}III$ (это белок кислого характера [7]) в цитохром $b'_{558}III$ (это белок сильнокислого характера, плохо растворимый в 0.4 М КФБ [9]). Фактически, X-лучи изменяют нативность тех групп, которые ответственны за растворимость цитохрома $b_{558}III$. Эффект превращения цитохрома $b_{558}III$ в цитохром $b'_{558}III$ наблюдается и при некоторых разновидностях злокачественных новообразований (рак грудной железы [5] и саркома-45 [6]). НАДРН-зависимая O_2^- -продуцирующая активность цитохрома $b_{558}III$ в облученных эритроцитарных мембранах (в гетерогенной фазе) снижается больше, чем при облучении препарата цитохрома $b_{558}III$ (рис.2). С другой стороны, метНб-восстанавливающая активность (скорость образования оксиНб) заметно снижена у цитохрома $b_{558}III$, полученного из облученных эритроцитов (рис.3). Можно

констатировать, что с повышением доз X-облучения из-за усиления перекисного окисления фосфолипидных остатков эритроцитарных мембран происходит снижение текучести этих мембран и увеличение агрегации цитохрома $b_{558}III$ с уменьшением его O_2^- -продуцирующей и метНб-восстанавливающей активности, что свидетельствует в пользу нового механизма оксидативного повреждения эритроцитарных мембран при облучении X-лучами.

Способность цитохрома $b_{558}III$ восстанавливать метНб, скорее всего, связана с NO^+ , который, находясь в лигандном окружении Fe^{+3} цитохрома $b_{558}III$, может входить в комплексное соединение с метНб [5, 6] и восстанавливать его. В отличие от других NO^+ -продуцирующих систем цитохром $b_{558}III$ в эритроцитах превращает метНб в оксиНб. Это, несомненно, положительный эффект, т.к. при злокачественных новообразованиях уровень метНб в эритроцитах на 20–30% возрастает [11]. МетНб не способен переносить к клеткам молекулярный кислород, что приводит к определенной степени анемии и нарушению кислородного гомеостаза организма.

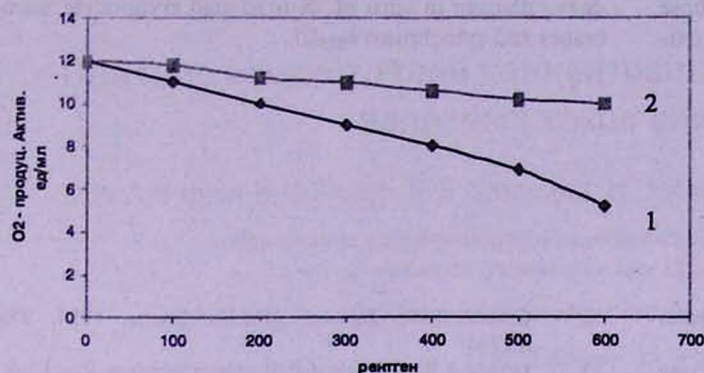


Рис.2. НАДРН-зависимая O_2^- -продуцирующая активность цитохрома $b_{558}III$:

- 1 – из облученных эритроцитарных мембран;
2 – из облученных растворов цитохрома $b_{558}III$

Можно заключить, что в соответствующих местах локализации эритроцитарных мембран толерантность

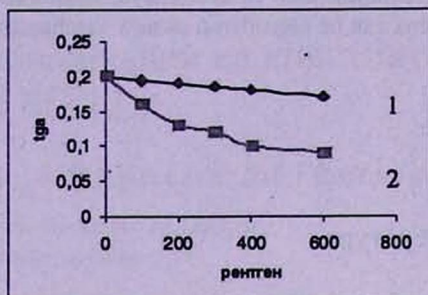


Рис.3. Скорость образования оксиHb (555 нм) после восстановления метHb под воздействием цитохрома $b_{558}III$:
1 – под воздействием водных растворов цитохрома $b_{558}III$ после облучения различными дозами X-лучей;
2 – под воздействием цитохрома $b_{558}III$, полученного из облученных различными дозами X-лучей эритроцитарных мембран

цитохрома $b_{558}III$ против X-лучей больше *in vitro*, чем *in vivo*.

Поступила 12.01.04

Էրիթրոցիտների թաղանթների և ցիտոքրոմ $b_{558}III$ -ի *in vitro* X-ճառագայթահարումը խթանում է ցիտոքրոմ $b_{558}III$ -ի ագրեգացումը և նվազեցնում նրա O_2^- գոյացման և մետHb վերականգնման ակտիվությունը

Ռ.Մ.Սիմոնյան, Գ.Մ.Սիմոնյան, Մ.Ա.Բաբայան, Մ.Ա.Սիմոնյան

Էրիթրոցիտների թաղանթների և ցիտոքրոմ $b_{558}III$ -ի *in vitro* X-ճառագայթահարման դոզաների աճին զուգընթաց (1.75, 3.5, 5.25 Գր) խթանվում է ցիտոքրոմ $b_{558}III$ -ի ագրեգացումը և նվազում նրա ՆԱԴՓՀ-կախյալ O_2^- -գոյացման և մետHb վերականգնման ակտիվությունները: Ընդ որում, ջրային լուծույթում ցիտոքրոմ $b_{558}III$ -ի դիմադրողականությունը X-ճա-

ռագայթահարման հանդեպ ավելի է, քան էրիթրոցիտների թաղանթներում:

Բերված երևույթները կարելի է դիտարկել որպես էրիթրոցիտների թաղանթների և ցիտոքրոմ $b_{558}III$ -ի X-ճառագայթահարմամբ հարուցված օքսիդատիվ վնասման նոր մեխանիզմներ:

X-irradiation in erythrocyte membranes and cytochrome $b_{558}III$ *in vitro* results in the increase in aggregation of cytochrome $b_{558}III$ and decrease in its O_2^- -producing and methemoglobin reducing activities

R.M. Simonyan, G.M. Simonyan, M.A. Babayan, M.A. Simonyan

During elevation of the dosage of *in vitro* X-irradiation (1.75, 3.5, 5.25 Gr) of erythrocyte membranes and cytochrome $b_{558}III$, increase in the aggregation and decrease in

NADPH-dependent O_2^- -producing and metHb-reducing activities of cytochrome $b_{558}III$ take place. Moreover, the tolerance to X-irradiation of cytochrome $b_{558}III$ is higher

in water solution than in erythrocyte membranes. These phenomena can be considered as new mechanisms of oxi-

dativ damage in vitro of X-irradiated erythrocyte membranes and cytochrome b_{558} III.

Литература

1. Гусев В.А., Брусов О.С., Панченко Л.Ф. Вопросы мед. химии, 1980, 3, с. 240.
2. Симонян Г.М., Симонян Р.М., Бабалян М.А., Степанян И. Э. и др. Мед. наука Армении, 2003, XLIII, 1, с.30.
3. Симонян Г.М., Григорян Г.Г., Симонян Р.М., Симонян М.А. В кн.: Актуальные вопросы военной медицины. Ереван, 1999, с.48.
4. Симонян Г.М., Григорян Г.Г., Симонян М.А., Симонян Р.М. Способ получения цитохромов b из мембран эритроцитов. Лицензия изобр. N908 Армпатента. Ереван, 2001.
5. Симонян Г.М., Симонян Р.М., Бабалян М.А., Нерсисян А.К., Симонян М.А. Мед. наука Армении, 2003, XLIII, 2, с. 31.
6. Симонян Г.М., Нерсисян А.К., Симонян М.А., Галоян А.А. Сб. докл. Междунар. конф. "Биоантиоксидант". М., 2002, с.576.
7. Симонян М.А., Бабалян М.А., Симонян Г.М. Биохимия, 1995, 60(12), с.1977.
8. Симонян М.А., Симонян Г.М., Мелконян М.М. Способ получения металлопротеинов крови. Лицензия изобретения N 341 Армпатента. Ереван, 1997.
9. Симонян М.А., Галоян А.А., Симонян Г.М., Мелконян Р.В. Докл. НАН РА, 1997, 97, с.62.
10. Balcioglu A., Watkins C.J., Maher T.J. Neurochem. Res., 1998, 23(5), p. 815.
11. Della R.F., Granata A., Broccio M., Zizilli A., Broccio G. Anticancer Res., 1995, 15, p.2089.
12. Girotti A.W., Thomas J.P. J. Biol. Chem., 1984, 259, p.1744.
13. Girotti A.W., Thomas J.P. Biochem. Biophys. Res. Com., 1984, 118(2), p. 474.
14. Gonzalez-Mora J.L., Martin F.A., Rojas-Diaz D. et al. J. Neurosci. Methods, 2002, 119 (2), p. 151.
15. Greenstock C.L. Free Radicals, Aging and Degenerative Disease. Alan R. Liss. Inc., 1986; 197.
16. Hancock J.T. Br. J. Biomed. Sci., 1997, 54(1); 38-46 (110ref.).
17. Liu P., Shen H., Zhang W. Di-San. Junui. Daxue. Xuebao, 1997, 19(4); 366.
18. Petkau A. Free Radicals, Aging and Degenerative Disease. Alan R. Liss. Inc., 19 1986; 481.
19. Petkau A., Kelly K., Chelack W.S., Garefoot C. Biochem. Biophys. Res. Com., 1976, 70(2); 452.
20. Simonyan M.A., Nalbandyan R.M. Biochem. Biophys. Res. Com., 1979, 90(4); 1207.
21. Simonyan G.M., Simonyan R.M., Babayan M.A., Simonyan M.A., Galoyan A.A. Int. Conf. "The role of the biologically active substances in the integrative activity of the organism" Collected articles, Yerevan State Med. University, 2003; p. 148.
22. Venugopalan C.S., Krautmann M.J., Holmes E.P., Maher T.J. J. Auton. Pharmacol., 1998, 18(5); 281-286.

Влияние внеклеточной концентрации ионов калия на кинетику калиевых токов клеток РС-12

Г.А.Абгарян, В.В.Кучер, В.Б.Аракелян, К.Э.Косемян, А.В.Аракелян, Л.Р.Григорян

Ереванский государственный медицинский университет им.М.Гераци

Институт физиологии им.О.О.Богомольца, Киев

Ереванский государственный университет

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: ионные каналы, кинетика ионных токов, активация и инактивация

Исследованию ионной проводимости возбудимых мембран посвящено огромное число работ. Несмотря на значительные успехи в этой области, молекулярный механизм проводимости ионных каналов окончательно не выяснен. В особенности это относится к природе воротных токов [7]. Известно, что открывание и закрывание ионных каналов в возбудимых мембранах связано с перемещением заряженных воротных частиц под действием электрического поля. Особый интерес представляют работы, в которых, помимо потенциала, обнаружено и влияние других физических факторов на воротный процесс. Можно надеяться, что этот сложный процесс может быть понят в результате анализа и сопоставления различных по своей природе причин действия на воротные частицы. В этой связи исследование влияния градиента осмотического давления на кинетику ионных токов представляет определенный интерес, поскольку осмотический поток воды модифицирует свойства натриевых и калиевых каналов, и таким образом появляется возможность варьированием величины водного потока получить дополнительную информацию о механизме функционирования ионных каналов [3,8]. В работах [5,6] показано, что водный поток действует на воротное устройство натриевого канала. В работе [2] исследовано влияние внеклеточного верапамила на кинетику инактивации калиевых каналов в нейроне *Helix*. Установлено, что верапамил эффективно ускорял процесс инактивации, причем увеличение скорости инактивации не зависит от того, в каком состоянии находятся калиевые каналы – проводящем или непроводящем. В качестве фактора, влияющего на воротный процесс калиевых каналов, используют внеклеточный калий, в частности показано, что внеклеточный калий немонокотонным образом влияет на кинетику калиевых каналов [1,4]. В данной работе исследовано влияние внеклеточной концентрации ионов калия на кинетику калиевого тока через клетки РС-12.

Материал и методы

В работе была использована линия клеток феохромоцитомы крысы РС-12, которая является клеточной линией нейронного происхождения. Эта нейросекреторная линия представляет собой трансформированные хромоаффинные клетки, полученные из мозгового слоя коры надпочечников крысы [9]. РС-12 является удобной моделью для изучения процессов, протекающих в нервных тканях, поскольку они могут неограниченно делиться *in vitro*, дифференцироваться под действием определенных факторов и приобретать некоторые свойства, присущие зрелому симпатическому нейрону [9]. Потенциалзависимая калиевая проводимость клеток РС-12 является доминирующей, что позволяет использовать их в качестве адекватной модели для исследования потенциалзависимости и кинетических характеристик калиевых токов.

Калиевые токи были получены фиксацией потенциала на целой клетке методом «patch-clamp». Метод позволяет непосредственно регистрировать ионные токи, которые протекают через мембрану при заданном уровне мембранного потенциала. Сущность метода состоит в том, что мембранный потенциал почти мгновенно смещают до некоторого нового значения и поддерживают его на этом уровне при помощи электронной схемы с обратной связью (рис. 1).

Ток, протекающий через мембрану, измеряют отдельным усилителем. Метод позволяет контролировать мембранный потенциал, осуществлять «прямоугольное» изменение мембранного потенциала с одновременной непосредственной регистрацией электрического тока, текущего через мембрану. Зарегистрированный ток может быть разделен на отдельные ионные компоненты, которые дают непосредственно информацию об активности ионных каналов. Количественное описание кинетики активации интегрального калиевого тока клеток РС-12 можно

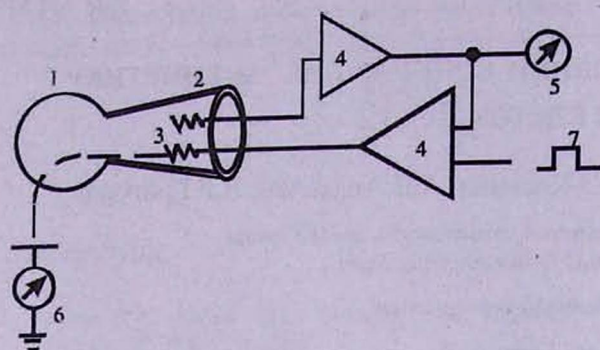


Рис.1. Схема фиксации потенциала на целой клетке методом «patch-clamp».

1 — клетка; 2 — микропипетка; 3 — электроды; 4 — усилители; 5 — вольтметр; 6 — амперметр; 7 — источник напряжения

представить уравнением:

$$I_K = g_{K\max} \cdot \left(1 - \exp\left\{-t/\tau_{aK}\right\}\right)^4 \cdot (U - U_K), \quad (1)$$

где I_K — плотность калиевого тока; $g_{K\max}$ — средняя максимальная удельная проводимость калиевых каналов; t — время; τ_{aK} — постоянная времени активации интегрального тока; U — мембранный потенциал; U_K — равновесный потенциал для K^+ , рассчитанный по уравнениям Нернста, исходя из концентраций K^+ во внеклеточном и внутрипипеточном растворах.

Инактивацию интегрального калиевого тока можно представить как сумму неинактивирующегося и инактивирующегося тока с одноэкспоненциальной инактивацией:

$$I_K = \left[g_{K\max1} + g_{K\max2} \cdot \exp\left\{-t/\tau_{iK}\right\}\right] \cdot (U - U_K), \quad 2$$

где I_K — плотность калиевого тока; $g_{K\max1}$ — средняя

максимальная удельная проводимость неинактивирующихся калиевых каналов; $g_{K\max2}$ — средняя максимальная удельная проводимость инактивирующихся калиевых каналов; τ_{iK} — постоянная времени инактивации интегрального тока.

При определенных значениях $g_{K\max}$, $g_{K\max1}$, $g_{K\max2}$ кинетические постоянные времени τ_{aK} , τ_{iK} подбирали таким образом, чтобы среднеквадратичная разница между экспериментальными точками на соответствующем интервале и значениями, полученными из уравнений (1) и (2), была наименьшей. Калиевые токи через клетки PC-12 измеряли при внеклеточной концентрации ионов калия в 5, 10, 15 и 20 мМ.

Результаты и обсуждение

На рис. 2 представлены конкретные кривые изменения кинетики калиевого тока в контроле (рис.2 А) и при значении внеклеточной концентрации ионов калия в 20 мМ (рис.2 Б) при различных значениях мембранного потенциала. Нами были получены ана-

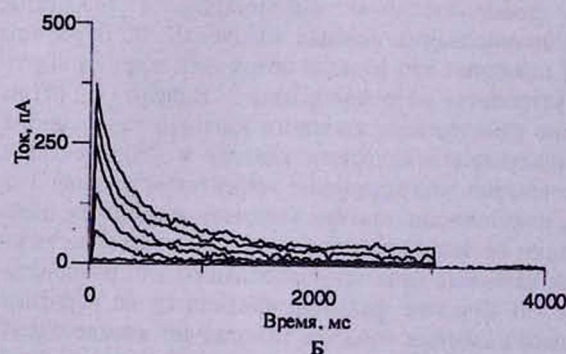
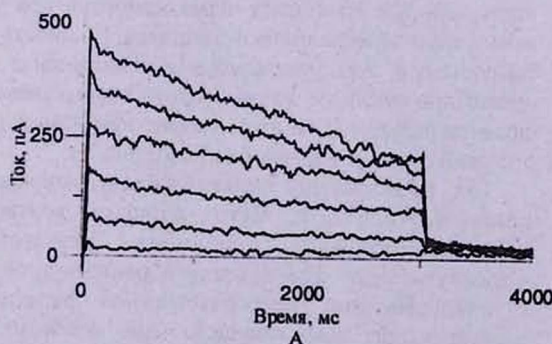
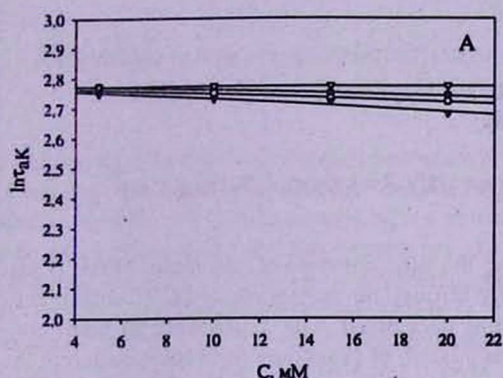


Рис.2. Группа интегральных калиевых токов клеток PC-12 при изменении мембранного потенциала от его начального значения (-80 мВ) до фиксированного потенциала в интервале от -10 (верхняя кривая) до +40 мВ с шагом 10 мВ и длительностью 1 с.

А — контроль;

Б — внеклеточная концентрация ионов калия равна 20 мМ.

пологичные кривые для других значений внеклеточной концентрации ионов калия (5, 10 и 15 мМ). Сопоставив экспериментальные кривые из рис.2 с теоретическими зависимостями (1) и (2), можно определить постоянные времени активации и инактивации при заданном значении внеклеточной концентрации ионов калия. Эксперименты показали, что постоянная времени активации с увеличением концентрации ионов калия во внеклеточном растворе почти не изменяется. Напротив, постоянная времени инактивации заметно зависит как от концентрации калия во внеклеточном растворе, так и от потенциала на мембране.



- Мембранный потенциал равен 10 мВ
- Мембранный потенциал равен 20 мВ
- △ Мембранный потенциал равен 30 мВ
- ▽ Мембранный потенциал равен 40 мВ

При исследовании механизма активации и инактивации проводимости канала важным является этап выяснения вида функциональной зависимости постоянной времени активации и постоянной времени инактивации от концентрации ионов калия во внеклеточном растворе. С этой целью экспериментально полученные постоянные времени активации и инактивации были представлены в логарифмических координатах – зависимость логарифма постоянной времени активации (инактивации) от концентрации внеклеточного калия – рис.3, из которого видно, что постоянная времени активации примерно на два порядка меньше

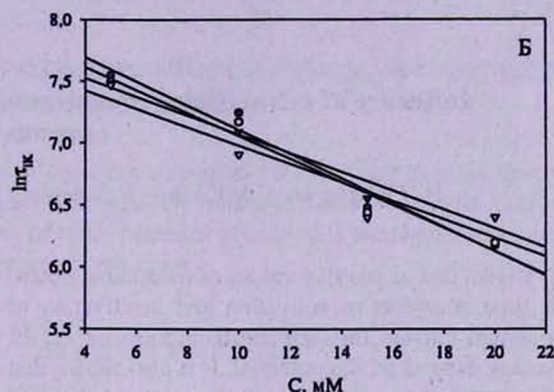


Рис.3. Зависимость логарифма постоянной времени активации (А) и инактивации (Б) от внеклеточной концентрации ионов калия при различных значениях мембранного потенциала. τ_{iK} и τ_{aK} выражены в мс, а прямые через точки проведены методом наименьших квадратов.

постоянной времени инактивации, т.е. активация является быстрым процессом. Из рис.3.(А) видно также, что в области положительных значений мембранного потенциала (от 10 до 40 мВ) постоянная времени активации практически не зависит от концентрации ионов калия во внеклеточном растворе. Следовательно, можно написать:

$$\tau_{aK} = \tau_{a0} \quad (3)$$

Зависимость же логарифма постоянной времени инактивации линейно уменьшается с увеличением концентрации ионов калия во внеклеточном растворе (рис.3.(Б)). Причем эта зависимость практически одна и та же для потенциалов 10, 20, 30 и 40 мВ.

$$\tau_{iK} = \tau_{i0} \exp(-\gamma C) \quad (4)$$

где τ_{i0} слабо зависит от C

Из рис.3 (А, Б) видно, что при положительных зна-

чениях потенциала на мембране постоянные времени активации и инактивации слабо зависят от потенциала.

Полученные экспериментальные данные свидетельствуют об экспоненциальной зависимости постоянной времени инактивации от концентрации ионов калия во внеклеточном растворе. Это обстоятельство может свидетельствовать об активационном механизме влияния концентрации ионов калия во внеклеточном растворе на процесс инактивации калиевой проводимости клеток PC-12.

Таким образом, показано, что с увеличением концентрации ионов калия во внеклеточном растворе процесс инактивации ускоряется и слабо зависит от мембранного потенциала. Зависимость постоянной времени активации от концентрации ионов калия во внеклеточном растворе незначительна. Основываясь на этом, можно считать, что изменение концентрации калия влияет на механизмы инактивации, а незначительное изменение кинетики активации может являться проявлением связи между механизмами активации и инактивации.

Поступила 23.10.03

Կալիումի իոնների արտաբջջային կոնցենտրացիայի ազդեցությունը PC-12 բջջերի կալիումային հոսանքների կինետիկայի վրա

Ն.Ն.Աբգարյան, Վ.Վ.Կուչեր, Վ.Բ.Արակելյան, Կ.Է.Կոսեմյան, Ա.Վ.Արակելյան, Լ.Ռ.Գրիգորյան

Ցույց է տրված, որ թաղանթի վրա պոտենցիալի դրական արժեքների դեպքում PC-12 բջջերի թաղանթներով անցնող կալիումային հոսանքի ակտիվացման և ինակտիվացման հաստատունները թույլ են կախված պոտենցիալից: Հաստատված է նաև, որ կալիումի իոնների արտաբջջային կոնցենտրացիայի

մեծացմանը զուգընթաց կտրուկ նվազում է ինակտիվացման ժամանակի հաստատունը, իսկ ակտիվացման ժամանակի հաստատունը գործնականում չի փոփոխվում: Ինակտիվացման ժամանակի հաստատունի կախվածությունը կալիումի իոնների արտաբջջային կոնցենտրացիայից ունի էքսպոնենցիալ տեսք:

Influence of extracellular concentration of potassium on the kinetics of potassium currents in PC-12 cells

N.N.Abgaryan, V.V.Kucher, V.B.Arakelyan, K.E.Kosemyan, H.V.Arakelyan, L.R.Grigoryan

It is shown that at positive values of membrane potential the time constants of activation and inactivation of the potassium current through the membrane of PC-12 cells weakly depend on the potential. It is also shown that with the increase in the extracellular concentration of potassium ions the time constant of inactivation falls

sharply and the time constant of activation of the potassium current through the membrane of PC-12 cells practically remains unchanged. The dependence of time constant of inactivation of potassium ion concentration in the extracellular solution has an exponential form.

Լիտերատուրա

1. *Աբգարյան Գ.Ա.* Исследование нелинейных фото- и электроиндуцированных явлений в сложных неметаллических соединениях и микрогетерогенных структурах биологической природы. Док. дисс. Ереван, 1998.
2. *Костюк П.Г., Крышталь О.А.* Механизмы электрической возбудимости нервной клетки. М., 1981.
3. *Крышталь О.А., Осипчук Я.В., Пидопличко В.И.* ДАН СССР, 1981, т. 259, 5, с. 1253.
4. *Лопатин А.Н., Кондратьев П.Е., Логинов Б.В., Мирошник Е.И.* Биологические мембраны, 1988, т. 5, 7, с. 711.
5. *Чижмаков И.В., Сорокина З.А.* ДАН СССР, 1987, т. 292, 4, с. 989.
6. *Чижмаков И.В., Сорокина З.А.* Нейрофизиология, 1986, т. 18, 4, с. 518.
7. *Armstrong C.M., Bezanilla F.* Nature, 1973, 242, p.459.
8. *Suleymanian M.A., Ayrapetyan S.N., Arakelyan V.B., Ayrapetyan V.Y.* Cell. and Mol. Neurobiology, 1993, 13, 2, p.183.
9. *Greene L.A., Tischler A.S.* Adv. Cell. Neurobiol., 1982, 3, p. 373.

Качественно-количественный состав и деацилирование фосфолипидов мембран митохондрий крыс после воздействия внешнего электростатического поля

Г.Г. Арцруни, Ю.В. Тадевосян, Т.Б. Батикян

Ереванский государственный медицинский университет им. М.Гераци,
375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Институт молекулярной биологии НАН РА
375014 Ереван, ул. Асратяна, 7

Ключевые слова: электростатическое поле, митохондриальные мембраны, фосфолипиды, деацилирование, фосфолипазы, лизофосфолипаза

Одним из регулирующих факторов многих свойств и функций биомембран является микровязкость липидного матрикса, которая определяется количественными соотношениями как фосфолипидов (ФЛ) и их лизоформ, так и насыщенных и ненасыщенных жирных кислот. Липидная сбалансированность липопротеинового бислоя и его структурно-функциональное состояние обусловлены работой целого ряда мембраносвязанных липид-модифицирующих ферментных систем, таких как деацилазы, реацилазы, диэстеразы, трансметилазы и др. Вышеизложенное дает основание полагать, что одной из возможных причин биологической активности внешних электростатических полей (ЭСП) являются изменения активности мембраносвязанных липид-модифицирующих ферментов.

В состоянии относительного покоя мембраны клеток характеризуются установленным в них динамическим равновесием всех морфофункциональных параметров липопротеинового бислоя. Любое внешнее воздействие на клетку в зависимости от его длительности и интенсивности приводит к кратковременному или хроническому, обратимому или необратимому смещению существующего в покое равновесного состояния липидного бислоя.

Ранее было показано [1–3], что воздействие ЭСП приводит к модификации липидного компонента эритроцитарных и митохондриальных мембран (ММ) и существенно влияет на их функциональное состояние. В указанных работах приводятся косвенные данные об изменении количества свободных жирных кислот в митохондриях гепатоцитов крыс после воздействия ЭСП. Была выявлена также [4] активация процессов деацилирования фракции фосфатидилхолинов (ФХ) в эритроцитарных мембранах крыс после часового *in vivo* действия ЭСП.

Целью данного исследования явилось изучение *in vivo*

влияния внешних ЭСП на активность фосфолипаз (ФЛаз) А₁, А₂ и лизоФЛазы, а также на качественно-количественный состав ФЛ мембран митохондрий гепатоцитов крыс.

Материал и методы

Эксперименты проводили на двух группах белых беспородных крыс-самцов одного возраста массой 120–150 г: первая группа – контрольные животные, вторая – крысы, подвергнутые часовому воздействию ЭСП напряженностью 200 кВ/м при помощи установки конденсаторного типа [5]. Животные контрольной группы также помещались в модельную камеру, но без подачи напряжения. Как в опытной, так и в контрольной группах исследовалось по 20 крыс.

Сразу после воздействия ЭСП животные подвергались декапитации, и митохондрии гепатоцитов выделяли общеизвестным методом [6] в 0,25 М сахарозе, забуференной 0,04 М Tris-HCl буфером, pH 8,3. Получение ММ осуществляли 10-кратным замораживанием-оттаиванием фракции митохондрий с последующим центрифугированием в течение 20 мин при 10000 g. Белок определяли по методу Lowry [7].

Активность мембраносвязанных ФЛаз и лизоФЛаз определяли в 0,5 мл инкубационной среды 0,04 М Tris-HCl буфера (pH 8,3), содержащей в качестве экзогенных субстратов по 0,5 нМ предварительно эмульгированного в буфере ультразвуковым дезинтегратором УЗДН-2Т 1-ацил-2-[¹⁴C]олеоил-ФХ (уд. акт. 50–60 мКи/ммоль) либо 1-[¹⁴C]пальмитоил-лизоФХ (уд. акт. 57 мКи/ммоль) производства фирмы "Amersham" (Великобритания). В реакционную среду вводили также по 20 нМ немеченных субстратов, 150–200 мкг мембранного белка и по 5 мМ Са²⁺ или ЭГТА.

После инкубации в качающейся водяной бане в течение 20 мин при 37° реакции останавливали 2 мл холодной смеси хлороформ – метанол (1:2, об/об). Липиды, экстрагированные методом Bligh, Dyer [8], разделяли двухэтапной одномерной ТСХ, как описано нами ранее [9]. Радиоактивность проявленных в парах иода и идентифицированных соответствующими хроматографически чистыми стандартами ("Sigma", США) липидных фракций определяли радиосканирующим прибором ("Berthold", Германия) и просчитывали в сцинтилляционной жидкости Bray [10] на спектрометре Roche-Bioelectronique, SL-4221 (Франция).

Количественное определение разделенных ТСХ отдельных ФЛ фракций проводили по методу Erster et al. [11].

Каждое экспериментальное условие было воспроизведено в четырех различных экспериментах по пять параллелей для каждой экспериментальной точки. Данные подвергали статистической обработке по методу Стьюдента. На рисунках представлены среднеарифметические значения данных $\pm$ стандартные отклонения.

Результаты и обсуждение

В препаратах ММ нами было обнаружено (рис. 1, а) Ca^{2+} -зависимое образование 2-[^{14}C]олеил-лизоФХ – прямого продукта реакции деацилирования экзоген-

ного субстрата 1-ацил-2-[^{14}C]олеил-ФХ относительно мало изученной ФЛазой A_1 . При этом относительно низкую (по сравнению с ФЛазой A_2) активность отмеченной деацилазы в исследуемых мембранах полностью подавляло хелатирование ионов кальция ЭГТА. Эти данные дополняют малочисленные сведения литературы [12,13] о функционировании в биомембранах ФЛазной активности типа A_1 .

В этих же условиях эксперимента был также выявлен довольно высокий уровень Ca^{2+} -зависимой активности ФЛазы A_2 (рис. 1, б). В присутствии ЭГТА отмеченная деацилазная активность частично (более чем на 30%) подавлялась в ММ. Эти результаты подтверждают данные литературы [14,15] о наличии в гепатоцитах и Ca^{2+} -зависимой ФЛазы A_2 .

В экспериментах с использованием 1-[^{14}C]пальмитоил-лизоФХ в качестве экзогенного субстрата ММ контрольных крыс была выявлена (рис. 1, в) высокая активность лизоФЛазы. Примечателен факт достоверного, но неполного подавления активности данного фермента в присутствии ионов кальция. Следовательно, наряду с подтверждением известного факта наличия в ММ ФЛазной активности типа A_2 , полученные нами данные свидетельствуют о возможном функционировании в отмеченных мембранных структурах также и каскадной системы деацилирования ФХ, включающей Ca^{2+} -активируемую ФЛазу типа A_1 и субстратзависимую лизоФЛазу. Ранее нами было обнаружено [9] наличие подобной системы и в других мембранных структурах клеток.

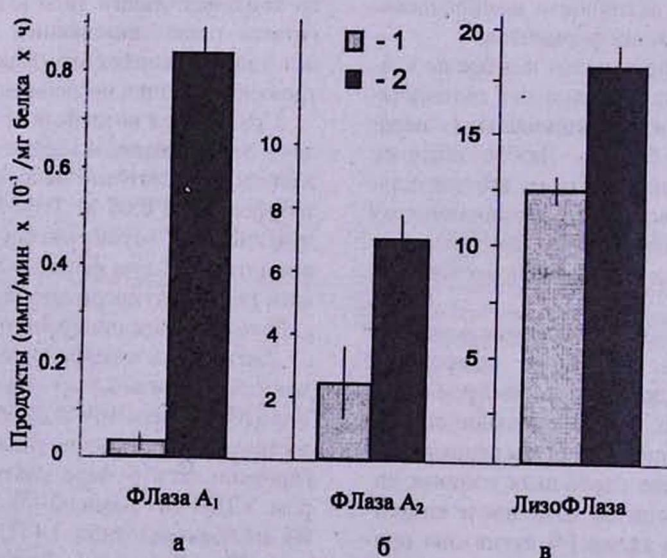


Рис. 1. Активность фосфолипаз A_1 (а), A_2 (б) и лизофосфолипазы (в) митохондриальных мембран в присутствии 5мМ ЭГТА (1) или 5мМ Ca^{2+} (2). На ординатах рисунков представлена радиоактивность продуктов реакций, пересчитанная на мг белка и время

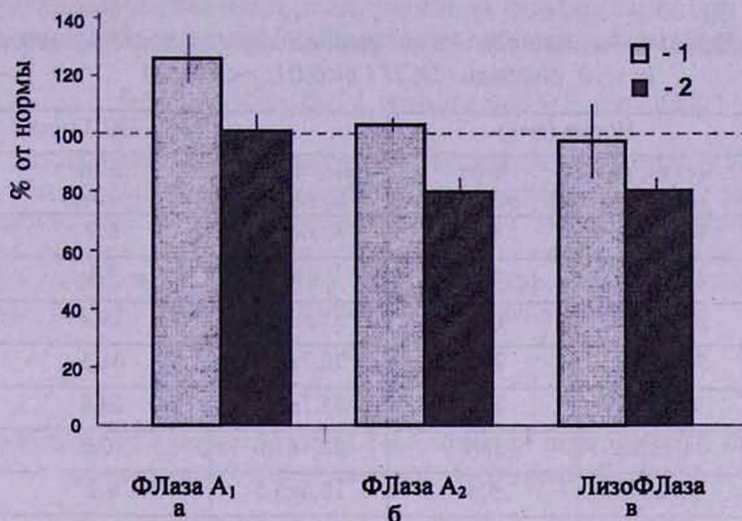


Рис. 2. Эффекты часового *in vivo* действия ЭСП на активность фосфолипаз А₁ (а), А₂ (б) и лизофосфолипазы (в) в митохондриальных мембранах в присутствии ЭГТА (1) или Са²⁺ (2). За 100% принята ферментативная активность в норме.

Опыты по исследованию часового *in vivo* воздействия внешнего ЭСП на мембраносвязанные ФХ-деацилирующие ферментные системы ММ проводили в аналогичных вышеотмеченным экспериментальных условиях. При этом по сравнению с нормой действие ЭСП в ММ приводило (рис. 2, а) к активации ФЛазы А₁ (на 24%) с накоплением 2-[¹⁴С]олеил-лизоФХ только в условиях хелатирования Са²⁺ ЭГТА. Действие ЭСП приводило к понижению Са²⁺-зависимой активности ФЛазы А₂ (рис. 2, б), что указывает на возможное превалирование процессов утилизации [¹⁴С]олеиновой кислоты в ММ. При исследовании действия ЭСП на активность мембраносвязанной лизоФЛазы митохондрий гепатоцитов по сравнению с нормой не наблюдалось (рис. 2, в) достоверных сдвигов в процессе ферментативного высвобождения из 1-[¹⁴С]пальмитонил-лизоФХ свободной [¹⁴С]пальмитиновой кислоты как в присутствии 5 мМ ионов кальция, так и при их хелатировании ЭГТА.

Исходя из результатов данной серии экспериментов, можно заключить, что эффект часового *in vivo* воздействия ЭСП по сравнению с нормой в ММ проявляется в относительно незначительном, но достоверном повышении и понижении активности, соответственно Са²⁺-независимой ФЛазы А₁ и Са²⁺-зависимой ФЛазы А₂. Активность же лизоФЛазы в идентичных экспериментальных условиях не претерпевает существенных изменений.

Ранее полученные нами экспериментальные данные [4] свидетельствовали о достоверной активации мембраносвязанных процессов деацилирования фрак-

ции ФХ в эритроцитарных мембранах под действием внешнего ЭСП. На основании представленных выше данных можно сказать, что при часовом *in vivo* действии ЭСП в ММ имеют место определенные сдвиги в активности ферментных систем деацилирования ФЛ. Можно также предположить, что происходит активация мембраносвязанных реактиаз, идентификация и характеристика которых в настоящее время является предметом наших исследований. Обнаруженные нами противоположные эффекты воздействия поля на эритроцитарные и ММ, по всей вероятности, можно объяснить большей лабильностью клеточных мембран по отношению к изучаемому физическому фактору, чем внутриклеточных мембранных образований.

Результаты исследования качественно-количественного состава ФЛ в ММ свидетельствуют (таблица) только о небольшом (24,2 % по сравнению с нормой), но достоверном повышении суммарного количества этих соединений при часовом *in vivo* действии ЭСП. Межфракционные же соотношения (% от сумм отдельных типов ФЛ) не претерпевали существенных отклонений. Они для всех исследованных фракций находились в пределах $\pm 6\%$. Следовательно, в ММ животных, подвергнутых воздействию внешнего ЭСП, на фоне повышения общей суммы ФЛ сохраняется свойственный для нормы оптимальный статус межфракционных количественных соотношений, что, по всей вероятности, имеет первостепенное значение для сохранения целостности ММ, невзирая на их функциональное состояние.

Фосфолипиды мембран гепатоцитов в норме и после часового *in vivo* действия ЭСП ($p < 0,01$; $p < 0,001$)

Фосфолипиды	Норма (n=6)		ЭСП (n=8)		
	мкг Ф _n на мг белка	% от суммы	мкг Ф _n на мг белка	% от суммы	% от нормы
ЛизоФХ	12,1±1,2	6,7	15,6±1,5	6,9	128,9
СФМ	10,6±2,8	5,9	9,9±1,9	4,4	93,4
ФХ	29,1±1,7	16,1	31,9±1,5	14,2	109,6
ФИ+ФС	50,9±7,8	28,2	70,7±8,5	31,5	138,9
ФЭ	39,7±3,7	22,0	55,7±4,6	24,8	140,3
ФК	28,7±3,8	15,9	22,4±1,6	10,0	78,0
КЛ	9,7±0,8	5,4	18,4±3,5	8,2	189,7
Сумма	180,8	100	224,6	100	124,2

Иная картина наблюдалась при сравнении с нормой абсолютного содержания (% от нормы) каждой отдельной фракции ФЛ мембран гепатоцитов при воздействии ЭСП. Выявленные сдвиги свидетельствовали о закономерных нарушениях в различных мембранных механизмах липидной модификации при действии ЭСП. Так, повышение уровня лизоФХ (28,9%) в опыте на фоне одновременной стабильности (109,6%) содержания ФХ подтверждает вышеприведенные данные об отсутствии активирующего эффекта ЭСП на мембранные процессы деацилирования ФЛ. Количественные сдвиги всех остальных фракций ФЛ при этом также указывают на превалирование в ММ синтетических процессов отмеченных соединений.

Изменения в активности мембраносвязанных процессов деацилирования и реацилирования ФЛ в мембранных структурах клеток, несомненно, приводят к изменению микровязкости липидного бислоя, что может оказать существенное влияние на их функциональное состояние. Возможно, что одной из причин выявленных нами ранее [1–3] многочисленных сдвигов в структурном и функциональном состоянии митохондрий при действии ЭСП является изменение микровязкости липидного бислоя мембран.

Говорить о конкретных механизмах действия ЭСП на мембранные структуры преждевременно, однако, основываясь на тех физических процессах, которые происходят в мембране при наложении внешних по-

лей, можно сделать ряд предположений. Так, воздействие внешних электрических полей приводит к поляризации мембранных белков и ФЛ, изменению объемной плотности электрического заряда в пределах бислоя, перераспределению плотностей заряда на поверхности отдельных слоев. Эти первичные физические изменения в мембране, вызываемые воздействием ЭСП, могут влиять на внутримембранные модификационные кооперативные механизмы, поддерживающие "метаболический статус покоя". В указанных механизмах важную роль играет липидный компонент, который благодаря быстрым изменениям активности мембраносвязанных ферментных систем обмена липидов может осуществлять ответную реакцию мембранных структур клетки на изучаемое воздействие. Изменение активности отмеченных ферментных систем может происходить вследствие непосредственного действия ЭСП на их структурную организацию. Подобное предположение основывается на собственных и литературных данных [16–19] об изменении структурной организации биологических макромолекул, в частности белков, при действии ЭСП. Однако не исключено также, что представленные здесь и обнаруженные нами ранее сдвиги в активности изучаемых ферментов являются следствием не только непосредственного действия ЭСП на них, но и его опосредованного действия через различные физико-химические и метаболические механизмы регуляции этих ферментных систем.

Поступила 15.01.04

Անհատների հեղափոխություն միտքը ներդրումների ֆոսֆորիլաիդների որակա-քանակական
կազմը և ապագայից մինչև արտաքին էներգիա և տաքության օգտագործման պայմաններում

Գ.Գ. Արծրունի, Յու.Վ. Թադևոսյան, Թ.Բ. Բադիկյան

Ուսմանսիրվել է առնետների հեպատոցիտների միտոքոնդրիումային թաղանթների ֆոսֆոլիպիդային կազմի A_1 , A_2 ֆոսֆոլիպազային եւ լիզոֆոսֆոլիպազային ակտիվությունների վրա 200 *կՎՄ* ինտենսիվությամբ արտաքին էլեկտրաստատիկ դաշտի 1-ժամյա ազդեցությունը: Ցույց է տրվել, որ նշված

ցուցանիշներով դաշտի iv vivo ազդեցությունը բերում է ֆոսֆաթիդիլիտալինային բաղադրամասի ապահացի-
լացման թաղանթ-կապված պրոցեսների ակտիվաց-
ման, եւ որպես հետեւանք՝ միտոքոնդրիումների թա-
ղանթների ֆոսֆոլիպիդների կազմի յուրահատուկ
փոփոխությունների:

Quantitative-qualitative composition and deacylation of phospholipids in mitochondria of rat hepatocytes at external electrostatic field action

G.G. Artzruny, Yu.V. Tadevosyan, T.B. Batikyan

The action of external electrostatic field with intensity of 200 kW/m and duration of 1 hour on the phospholipid composition of rat hepatocyte mitochondrial membranes and activities of phospholipases A_1 , A_2 and lysophospholipase has been investigated. It has been shown that

only in vivo action the electrostatic field of such parameters brings to the activation of the membrane-associated processes of phosphatidylcholine fraction deacylation as well, as to the specific changes in the phospholipid composition of membranes.

Литература

1. Арицруни Г.Г., Тер-Маркосян А.С., Киракосян К.Г. Биол. журн. Армении, 1987, XL (5), с. 423.
2. Арицруни Г.Г., Баджсисян С.А., Манукян Р.А. Биол. журн. Армении, 1992, XLV (1), с. 43.
3. Мкртчян С.Л., Арицруни Г.Г. Биол. журн. Армении, 1978, XXI (7), с. 750.
4. Арицруни Г.Г. Глобус науки, 2001, 1(1), с. 33.
5. Арицруни Г.Г. Установка для изучения воздействия электростатических полей на биообъекты. Мат. конф. мол. уч., посвящ. XXV съезду КПСС. Ереван, 1975, с. 32.
6. Масолова И.М., Горская И.А., Шольц К.Д. В кн.: Методы современной биохимии. М., 1975, с. 45.
7. Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr R.H., Randall P.J. J. Biol. Chem., 1951, 193, (1):265.
8. Bligh E.G., Dyer W.J. Canad. J. Biochem. Physiol., 1959, 37:911.
9. Тадевосян Ю.В., Асатрян Л.Ю., Батикян Т.Б. и др. Биохимия, 1996, 61(8), с. 1414.
10. Bray G.A. Anal. Biochem., 1960, 1:279.
11. Erster J.R., Zeterstrom R., Linberg O. Acta Chem. Scand., 1950, 4:942.
12. Martin T.W., Wisolmerski R.B. J. Biol. Chem., 1987, 262(2):13086.
13. Salman M., Rottem S. Biophys. Acta., 1995, 1235(2):369.
14. Adachi J., Togoshima S., Osawa T. Arch. Biochem. Biophys., 1983, 296: 118.
15. Bodiani K., Lu X., Artur G. Biochem. J., 1992, 288:965.
16. Оанесян О.В., Арицруни Г.Г. Биофизика, 1985, 30(6), с. 955.
17. Rabinowitz J.R. J. Theor. Biology, 1982, 99:377.
18. Bean C.R., Bennet A.V. Biopolymers, 1973, 12(4):817.
19. Kalia A., Kotheker V. Indian J. Biochem., 1985, 22(2):93.

Экспериментальное обоснование целесообразности применения кортикального костного матрикса для эминопластики височно-нижнечелюстного сустава

А. Д. Еномян, Ю. М. Погосян, А. В. Азнаурян, М.З. Бахшиян

*Кафедра пластической и челюстно-лицевой хирургии НИЗ РА
Кафедра гистологии, цитологии и эмбриологии ЕрГМУ им. М. Гераци*

375051 Ереван, пр. Комитаса, 49/4

Ключевые слова: височно-нижнечелюстной сустав, кролики, костный матрикс

Для лечения внутренних нарушений височно-нижнечелюстного сустава (ВНЧС), в частности хронического и привычного вывихов, применяются ортопедические, хирургические и консервативные методы, а также их комбинация. Увеличение высоты суставного бугорка ВНЧС для коррекции инконгруэнтности суставных поверхностей и предупреждения выхода головки нижней челюсти из суставной ямки предложено еще А.А. Лимбергом в 1938 г. [1]. Для этого автор применял хрящевой аутоотрансплантат. С той же целью впоследствии использовались аутокость (из скуловой дуги путем резекции с последующей транспозицией), размельченный аллогенный хрящ, тефлон, акриловые пластмассы, полупротезы из хромкобальтового сплава или титана и даже собственный суставной диск [5, 7, 9, 11]. Для достижения стабильного послеоперационного результата трансплантируемый материал, который используется для увеличения высоты суставного бугорка (эминопластики), должен обладать определенными свойствами. В частности, он не должен вызывать реакцию иммунологического отторжения, должен легко подвергаться моделированию, обладать достаточной прочностью, чтобы противостоять механическим усилиям, оказываемым головкой нижней челюсти. Также важно, насколько травматичное оперативное вмешательство необходимо для фиксации трансплантата.

Для получения аутохряща или кости требуется дополнительная операция и, следовательно, причиняется излишняя травма, причем пересаженная кость, лишенная питания, проходит стадию физиологической деминерализации с последующей васкуляризацией и перестройкой. Пересаженный под надкостницу аллохрящ трансформируется в органотипичную костную ткань, однако поднадкостничное пространство, образуемое при отслойке надкостницы с нижнего края скуловой дуги, не может быть достаточным для обеспечения такой высоты трансплантируемого материала,

который предупредил бы выход головки нижней челюсти из суставной ямки. Хрящ, пересаженный не поднадкостнично, в большинстве случаев лизируется.

Успехи в области материаловедения открыли широкие перспективы применения для наращивания высоты суставного бугорка различных имплантатов из тефлона, акриловых пластмасс, нержавеющей стали, виталлиума, титана, силиконов, пропласта, керамики и других материалов. Однако несмотря на биосовместимость некоторых материалов, они вызывают реакцию капсулообразования и не обеспечивают надежных отдаленных результатов. Нередко в послеоперационном периоде встречаются различные осложнения, и такие конструкции приходится удалять.

Выбор вида трансплантата для эминопластики ВНЧС не имеет достаточного теоретического и экспериментального обоснования, а в научной литературе в основном описываются лишь результаты клинического применения той или иной методики.

Цель исследования — показать в эксперименте на животных целесообразность применения кортикального костного матрикса (ККМ) для эминопластики ВНЧС, выяснить условия, необходимые для полноценного остеогенеза под воздействием ККМ.

Материал и методы

В качестве экспериментальных животных нами были выбраны практически полностью здоровые 20 кроликов (породы калифорнийская и шиншилла) массой 1100–1400 г в возрасте 6–8 мес. Выбор именно этих животных обусловлен несколькими причинами. После забоя одной особи можно получить необходимое количество костной ткани для изготовления ККМ, обеспечивающего потребности эксперимента. Размеры черепа, и в частности скуловой дуги, позволяют технически произвести операцию трансплантации

изготовленного ККМ под скуловой дугой в проекции суставного бугорка. Биомеханика движений нижней челюсти в ВНЧС приблизительно воспроизводит данную функцию человека, обеспечивая аналогичные условия для трансплантированного ККМ.

Для потребностей эксперимента нами заранее заготовлен кроличий ККМ. Для этого трубчатые кости отдельно взятого кролика-донора были тщательно очищены от мягких тканей, деминерализованы в 1,2 Н растворе соляной кислоты с последующей нейтрализацией в фосфатном буфере [4, 6].

Суть операции заключалась в следующем. Животным-реципиентам пересаживали ККМ в область нижнего края скуловой дуги по проекции суставного бугорка. Для этого с соблюдением правил асептики в специально оборудованной операционной под общей анестезией препаратом Рометар (0,2 мл на 1000 г в/м) в сочетании с местным обезболиванием (3,0–4,0 мл 0,5 % раствора лидокаина гидрохлорида) производили разрез кожных покровов параллельно проекции скуловой дуги длиной 2,0–2,5 см. Ткани послойно рассекали до обнажения скуловой дуги. Далее при помощи распатора отслаивали надкостницу со скуловой дуги и

просверливали 2 сквозных отверстия в ней при помощи бормашин на малых оборотах. Параллельно производили охлаждение кости стерильным физиологическим раствором. Через просверленные отверстия проводились титановые лигатуры сечением в 4,5 мм, при помощи которых к нижнему краю скуловой дуги фиксировали ККМ соответствующих размеров. Фиксацию производили попарным скручиванием разноименных концов проведенных лигатур с охватом ККМ. Целостность надкостницы восстанавливали узловыми швами кетгутотом. Ткани зашивали послойно.

Животных разбили на 2 группы. Животным первой группы (I) пересаживали ККМ без предварительного удаления кортикального слоя с нижнего края скуловой дуги. У животных второй группы (II) перед тем как трансплантировать ККМ, удаляли кортикальный костный слой с нижнего края скуловой дуги при помощи фрезы, тем самым оголяя губчатую кость. В пределах обеих групп выделили по две подгруппы. В первой подгруппе ККМ фиксировали ординарно, т.е. без подшивания пучков жевательной мышцы, а во второй подгруппе обеих групп к фиксированному ККМ подшивали пучки жевательной мышцы (схема).



Операции длительностью 15–20 минут животные переносили без осложнений. Раны зашивали послойно и присыпали порошком стрептоцида без использования повязки. Содержали животных на рациональной, сбалансированной диете. Выводили из эксперимента на 7, 14, 30, 90 и 180-е сутки (декапитацией под наркозом). Фотографировали анатомические препараты. Производили рентген-снимки черепа в двух проекциях с визуализацией области скуловой дуги. Скуловую дугу с трансплантированным ККМ выделяли блоком, фиксировали в 10 % растворе формалина и производили деминерализацию в 1,2 Н растворе соляной кислоты. Гистологические препараты изготавливали по принятой методике, окрашивали гематоксилин-эозином и по Ван Гизону.

Результаты и обсуждение

Впервые применение деминерализованной кости для восстановления костных дефектов, в частности для замещения остеомиелитических полостей, было предложено Senn в 1889 году. В 1965 г. M.R.Urist с соавт. на основании экспериментальных исследований доказали существование костного белка – индуктора, способного при наличии определенных условий вызывать активный остеогенез не только в костном ложе, но и вне его, например, при внутримышечной пересадке [10].

Мы выбрали именно ККМ для эмбиопластики ВНЧС не случайно. Во-первых, ККМ не вызывает реакций иммунологического отторжения, а остеиндуктивные способности ККМ доказаны многочисленными исследованиями [2–4, 6, 8]. Во-вторых, техниче-

ски получение трансплантируемого материала как в эксперименте, так и в клинике не связано с большими материальными затратами и, что важно, не требуется дополнительной операционной травмы для забора трансплантата, как при аутотрансплантации. В-третьих, ККМ легко моделируется соответственно форме и размерам скуловой дуги и желаемой высоте суставного бугорка, и его можно надежно фиксировать к скуловой дуге при помощи титановых лигатур по вышеописанной методике. В-четвертых, физиологический процесс деминерализации, который неминуемо происходит при трансплантации костей, в данном случае происходит *in vitro*, что значительно ускоряет процесс формирования органотипичной кости.

Анализ гистогрaмм и рентгенограмм в 4 сериях эксперимента выявил следующие результаты.

В подгруппе I^I (т.е. с трансплантацией ККМ под скуловую дугу без предварительной декорткации нижнего края и без миотизации пучками жевательной мышцы) на 7–14-е сутки на гистопрепаратах отчетливо заметно формирование очагов грубоволокнистой костной ткани. Островки последней местами сливались друг с другом. По краям островков и в зоне соприкосновения трансплантата с материнской костью (скуловая дуга) были видны скопления остеобластов. На 30-е сутки эксперимента в отдельных случаях было отмечено прорастание кровеносных сосудов в ККМ, заметны также единичные костные полости для образующихся остецитов, местами прослеживались слабо формирующиеся гаверсовы системы (рис.1). На 90-е сутки в отдельных случаях наблюдалось форми-

рование гаверсовых систем, однако большинство из них не имело правильной ориентации. Тем не менее, замечена слабовыраженная перестройка грубоволокнистой костной ткани в пластинчатую. На 180-е сутки опыта остались лишь отдельные очаги грубоволокнистой костной ткани, содержащие незначительное количество кровеносных сосудов. Плотного костного спая в зоне соприкосновения ККМ со скуловой дугой не обнаружено. Рентгенологически в сроки от 7 до 30 дней выраженных изменений не наблюдалось. На 90-е сутки обнаружены неровные контуры нижнего края скуловой дуги и начальные признаки реминерализации ККМ. На 180-е сутки отчетливо прослеживалась тень регенерата в области трансплантированного ККМ.

В подгруппе I^{II} (т.е. с трансплантацией ККМ под скуловую дугу без предварительной декорткации нижнего края скуловой дуги, но с миотизацией ККМ пучками жевательной мышцы) в общем динамика развивающихся процессов остеогенеза отличалась от предыдущей серии (подгруппа I^I) лишь тем, что прорастание кровеносных сосудов в формирующуюся костную ткань происходило на более ранних сроках эксперимента – на 7-е сутки. Вростание кровеносных сосудов прослеживалось вплоть до 30-х суток эксперимента. Плотного костного спая в зоне соприкосновения ККМ со скуловой дугой, так же как и в предыдущей серии, не обнаружено.

В подгруппе II^I (т.е. с трансплантацией ККМ под скуловую дугу с предварительной декорткацией нижнего края скуловой дуги, без миотизации ККМ

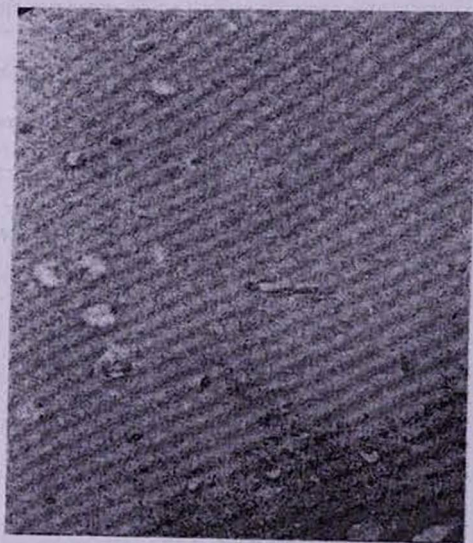


Рис.1. Прорастание сосудов, формирование гаверсовых систем (I^I, 30-е сутки). Гематоксилин-эозин, ув.10х10



Рис.2. Сформированные кровеносные сосуды, базофильный осеоид (II^I, 14-е сутки). Гематоксилин-эозин, в.10х20



Рис.3. В костных лакунах видны остеобласты, местами остециты (II¹, 14-е сутки). Гематоксилин-эозин, ув.10х10

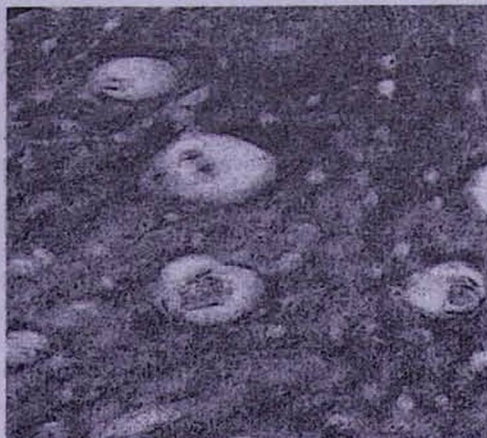


Рис.4. Остеоны с формирующимися вставочными системами (II¹, 180-е сутки). Гематоксилин-эозин, ув.10х10

пучками жевательной мышцы) на 7–14-е сутки эксперимента наблюдались очаги грубоволокнистой костной ткани, и в отличие от тех же сроков контрольной серии опытов (I¹ и I²) местами была заметна активная ее перестройка в пластинчатую костную ткань. Наблюдалось вращение сосудов в костную ткань преимущественно со стороны материнской кости (рис.2). В некоторых участках происходило преобразование остеобластов в остециты (рис.3). Наряду с вышеописанной картиной встречались участки только грубоволокнистой ткани без элементов перестройки. На 30-е сутки местами были заметны концентрически расположенные вокруг кровеносных сосудов развивающиеся остециты.

Среди образовавшихся островков костной ткани обнаружены участки гемопоэтической дифференцировки костного мозга. На 90-е сутки наряду с очагами

грубоволокнистой костной ткани были заметны формирующиеся остеоны, в отдельных случаях без правильной ориентации. Местами обнаружены участки костной ткани с включенными в нее нерассосавшимися фрагментами трансплантата. На 180-е сутки наблюдалось ослабление остеогенеза, отчетливо прослеживалась сформировавшаяся пластинчатая костная ткань с плотным спаем, образованным между трансплантатом и материнской костью. Между остеонами были заметны формирующиеся вставочные системы (рис.4). Рентгенологически на 7-е сутки после операции определялся дефект кортикальной пластинки нижнего края скуловой дуги в виде ровной линии. На 14-е сутки созданный дефект кортикальной пластинки определялся в виде нечеткой линии, а на 30-е сутки экспериментальные контуры дефекта становились почти необозримыми, и на границе костного ложа начинала



Рис.5а. Тень костного регенерата под скуловой дугой (II¹, 180-е сутки)



Рис. 5б. Рентген-снимок в аксиальной проекции, видна тень регенерата (II¹, 180-е сутки)

появляться тень регенерата. Через 3 месяца (на 90-е сутки) тень регенерата под скуловой дугой определялась более массивной. К окончанию эксперимента, на 180-е сутки, рентгенологически в области трансплантированного ККМ и титановых лигатур выявлена тень костного регенерата, мало отличающаяся от материнской кости (рис. 5а и 5б).

В подгруппе II^{II} (т.е. с трансплантацией ККМ под скуловую дугу с предварительной декортикацией нижнего края скуловой дуги и миотизацией ККМ пучками жевательной мышцы) на 7-е сутки эксперимента четко прослеживались базофильно окрашенные участки осеоида. В ряде препаратов наблюдалось вращение многочисленных кровеносных сосудов в формирующуюся грубоволокнистую костную ткань, причем как со стороны материнской кости, так и мышечных волокон. Дифференцировка остеобластов в остециты, их концентрическое расположение вокруг кровеносных сосудов свидетельствовало о формировании остеонов



Рис. 6. Формирующийся костный мозг между балками костной ткани (II^{II}, 90-е сутки). Гематоксилин-эозин, ув.7х10

Таким образом, во всех четырех подгруппах пересаженный костный матрикс в течение времени (к 90–180-м суткам) перестраивается с образованием органической костной ткани, однако перестройка происходит более интенсивно при декортикации нижнего

уже в самые ранние сроки эксперимента. Вышеописанный процесс нарастал к 14–30–90-м суткам эксперимента. Следует отметить, что наряду со столь интенсивным образованием пластинчатой костной ткани кое-где сохранялись участки (островки) грубоволокнистой костной ткани. К 90-м суткам наблюдалось также образование участков костномозговой ткани (рис.6). К концу эксперимента, на 180-е сутки, в области трансплантата выявлена костная ткань, обладающая морфологическими признаками, характерными для данной области. Была сформирована кортикальная пластинка в области фиксированных титановых лигатур, плотный костный спай с материнской костью, а также костномозговой канал. Макроскопически на этом сроке трудно было отличить границу перехода материнской кости в новообразованную (рис.7). Рентгенологически полученные результаты были аналогичны результатам в подгруппе II^I.



Рис.7. Новообразованная кость под скуловой дугой (II^{II}, 180-е сутки)

края скуловой дуги и миотизации трансплантата. Исходя из полученных результатов, можно рекомендовать применение ККМ в клинической практике с целью увеличения высоты суставного бугорка ВНЧС.

Поступила 13.01.04

Քոնք-սփործնության հողի հողաթմբի բարձրացման նպատակով կեղևային ոսկրային մատրիքսի կիրառման փորձարարական հիմնավորում

Ն.Դ. Ենոքյան, Յու.Մ. Պոգոսյան, Ա.Վ. Ազնաուրյան, Մ.Զ. Բախշինյան

Փորձարարական կենդանիների (ճագարների) այտային աղեղի ստորին եզրի շրջանում ամրացվել է ապահանքայնացված կեղևային ոսկրային մատրիքս (ԿՈՍ)՝ հողային թուփ ստանալու նպատակով: Ժամանակի ընթացքում (90-180 օր) ոսկրային մատրիքսը ենթարկվել է վերակառուցման՝

կազմափոխվելով օրգանոտիպիկ ոսկրի: Սակայն վերականգնման պրոցեսների արագությունը միատեսակ չի եղել: Այն ավելի արտահայտված է եղել, երբ այտային աղեղի ստորին եզրը դեկորտիկացվել է, միաժամանակ տրանսպլանտատը միտիզացվել է:

Experimental reasons for using the cortical bone matrix for the temporomandibular joint eminoplasty

H.D. Yenokyan, Yu.M. Pogosyan, A.V. Aznauryan, M.Z. Bakhshinyan

A cortical bone matrix (CBM) was fixed under the zygomatic arch of the experimental rabbit for creating an articular eminence. The CBM was reformed into organotypic bone tissue during 90-180 days. However, the regeneration processes were not similar in different cases. They were more significant when the cortical bone layer of the

lower side of zygomatic arch was moved off and the muscles were attached to the CBM.

Taking into account the results of the experiment we suggest using the CBM for temporomandibular joint eminoplasty.

Литература

1. Лимберг А.А. Учебник хирургической стоматологии. М., 1938, с. 479.
2. Ломницкий И.Я., Ли Л.Н. Стоматология, 1991, 2, с. 54.
3. Назаренко М.Ю., Воложин А.И., Диденко В.И., Дьяконова С.В., Ульянов С.А. Стоматология, 1990, 3, с.19.
4. Папилян А.В. Клинико-экспериментальное обоснование применения костно-матричных трансплантатов при лечении воспалительных и деструктивных заболеваний челюстей. Канд.дис. Ереван, 1999, с.132.
5. Сукачев В.А. Стоматология, 1977, 56 (2), с. 94.
6. Сысолятин П.Г., Тулунова И.Г. Респ. сборн. научн.

7. трудов «Получение и клиническое применение деминерализованных костных трансплантатов». Л., 1987, с. 64.
8. McLeod N.M., Saeed N.R., Hensher R. Br. J.Oral Maxillofac. Surg., 2001, Feb; 39(1), p. 63.
9. Neigel J.M., Rezicka P.O. Ophthal. Plast. Reconstr.Surg., 1996 Jun; 12 (2): 108.
10. Segami N., Kaneyama K., Tsurusako S., Suzuki T. J Craniomaxillofac. Surg., 1999, 27 (6), p. 390.
11. Urist M.R., Dowell T.A., Hay P.H., Strets B.S. Clin. Orthop., 1968, p. 59.
12. Waitatani K., Shirasuna K., Morioka S., Saka M., Aikawa T., Matsuya T. J Osaka Univ. Dent. Sch., 1992, 32, p.1.

Comparative analysis of anti-amyloid β immune responses generated after different routes of immunization with plasmid encoding A β -peptide immunogen fused with IL4

D.T. Babikyan

*The Institute for Molecular Medicine
16371 Gothard Str., Huntington Beach, CA 92647*

*The Center of Medical Genetics of NAS of Armenia
Zakyan 5/1, Yerevan 375010, Armenia*

Key Words: Alzheimer's disease, A β peptide, immunization, DNA vaccine

Alzheimer's Disease (AD) is the most common form of dementia that increases in incidence with age. The pathology of the disease is associated with the presence of neuritic and diffuse plaques in the brain. The main components of plaques, A β_{42} or A β_{40} , are 42 or 40 amino acid peptides that result from abnormal cleavage of membrane bound Amyloid Precursor Protein (APP) by the β and γ secretases. Recently several groups have reported that immunization with A β peptide formulated in CFA/IFA adjuvant dramatically increases the clearance of amyloid plaques from brain tissues in APP/Tg mice models of AD. In addition, active immunization not only protects vaccinated mice from functional memory deficits but also improves pathology of AD-like disease in older animals [5,15,19,27]. On the other hand passive administration of anti-A β monoclonal antibodies to APP transgenic mice also resulted in the decrease of A β level in the brain and improved the pathology of AD-like disease [3, 8]. More recently, it has been demonstrated [9] that passive immunization in fact could rapidly reverse memory deficits in an object recognition task in 24-month old PDAPP (APP gene driven by a platelet-derived (PD) growth factor promoter) mice without altering brain A β burden. Thus, the results reported by different groups indicate that A β is a major target for a vaccine development against AD.

Based on these impressive results and the lack of adverse autoimmune-type reactions to A β -immunotherapy in the several animal models (mice, rabbits, guinea pigs and monkeys), Elan in collaboration with Wyeth-Ayerst began clinical trials with their AN-1792 vaccine on AD patients. Unfortunately, the trial was halted when approximately 5% of the participants developed some degree of meningoencephalitis [4,12, 28,29,33]. The cause of the meningoencephalitis in a subset of the patients has not yet been determined, and all of the patients were reported to respond favorably to treatment for the meningoencephalitis

[28]. Interestingly, the antibody titers did not correlate with the severity of signs and symptoms in the AN-1792 clinical trial, and some of the patients that developed meningoencephalitis did not have detectable levels of anti-A β antibodies [13]. This suggests that the adverse reaction to A β -immunotherapy was not due to the humoral antibody response, but rather to a T helper 1 (Th1) cell-mediated autoimmune response to AN-1792. This interpretation of the adverse response to AN-1792 is supported by the case report by Nicoll et al. [21] on the neuropathology of human Alzheimer's disease after immunization with multiple doses of the AN-1792 vaccine. Examination of the brain revealed the presence of T lymphocyte meningoencephalitis and infiltration of macrophages in white matter areas. The potentially exciting results from the case report were that extensive areas of the neocortex contained very few A β -plaques. This suggests that A β -immunotherapy may be capable of reducing the amyloid load in the human brain as was previously shown for APP/Tg mice. Additional data supporting the concept of A β -immunotherapy have recently been reported by Hock et al. [14]. These authors provided the first evidence that antibodies against A β can slow the cognitive decline in AD patients (n=30) involved in the AN-1792 clinical trial. Although, the study by Hock et al. [14] was small (a total 30 patients) and the meningoencephalitis side effect remained a problem, the data presented showed that the concept of vaccination may be possible [34].

Another strategy is to use passive DNA vaccination technique. Previously using this technique, potent humoral and cellular immune responses were generated against viral and tumor antigens [1,2,10,25,32]. Accordingly, in this study several plasmids were constructed for inoculation of mice by three different routes of immunization.

Materials and Methods

Mice

Eight or ten week-old female BALB/c and B6/SJL mice were purchased from Jackson laboratories and housed in the animal facility at the Institute for Brain Aging and Dementia, UCI. All animals were housed in a temperature and light-cycle controlled facility.

DNA Constructs

In order to develop DNA (genetic) vaccine against AD, four different plasmids were constructed: pmA β ₄₂, encoding transmembrane form of A β ₄₂; psA β ₄₂, encoding secreted form of A β ₄₂; pA β ₂₈-IL4 and pA β ₄₂-IL4 encoding chimeric proteins, where human IL4 is fused with human

A β ₂₈ (spanning first 28 were A β ₄₂) or A β ₄₂ respectively. To generate these constructs, DNA fragment encoding A β ₄₂ and A β ₂₈ peptides was amplified on human APP cDNA template by PCR. The pmA β ₄₂ was constructed by cloning A β ₄₂ PCR fragment into pVAC (InvivoGen) expression vector in the frame between IL2 signal sequence and C-terminal transmembrane anchoring domain of the placental alkaline phosphatase (PLAP) at BamHI/BglII restriction sites. The psA β ₄₂ was generated introducing stop codon at the end of A β ₄₂ sequence and cloning it into pVAC expression vector using BamHI/NheI restriction sites, which allowed to delete PLAP domain from the plasmid. The following primers were used for the construction of transmembrane and secreted forms of A β :

5'-GGAAGATCTCTCGCTATGACAACACCGCCACCACATG-3'
5'-GCTAGCTTACGCTATGACAACACCGCCACCACATG-3'
5'-GATATCGATGCAGAAATCCGACATGAC-3'

reverse for mA β ₄₂
reverse for sA β ₄₂
forward for A β

In order to use the same pVAC vector for cloning of IL4-A β ₄₂ and IL4-A β ₂₈ fusion proteins, IL2 signal sequence was removed from the vector since IL4 gene contains its own leader sequence. NcoI/BamHI fragment of pVAC vector was amplified by PCR with primers excluding

IL2 signal sequence and recombined into the same vector digested with NcoI and BamHI restriction enzymes. Plasmids encoding IL4-A β ₄₂ (pA β ₄₂-IL4) and IL4-A β ₂₈ (pA β ₂₈-IL4) fusion proteins were generated by overlapping PCR technique using the following primers:

5'-GGGCCACCATGGGTCTCAACCCCCAGCTAG forward for IL4
5'-CCTGAGTCATGTCGGAATTCTGCATCGGCGCCCGAGTAATCCATTTGCATGATGCTCTTTAGG reverse for IL4
5'-CCTAAAGAGCATCATGCAAAATGGATTACTCGGGCGCCGATGCAGAAATCCGACATGACTCAGG forward for A β
5'-GCTAGCTACGCTATGACAACACCGCCACCACATG reverse for A β ₄₂

Briefly, in the first PCR reaction, two DNA fragments corresponding to murine IL4 or human A β peptides (A β ₄₂ or A β ₂₈) were amplified by the creation of overlapped sequences at expected junctions. In the second PCR reaction the amplified DNA fragments were then combined and the full-length IL4-A β ₄₂ or IL4-A β ₂₈ hybrid DNAs were obtained using forward primer for IL4 gene and reverse primer for A β ₄₂ or A β ₂₈ sequences, respectively. The amplified DNA fragments were treated with BamHI and NheI restriction enzymes and ligated into pVAC vector with deleted IL2 gene leader sequence. The structure of psHA-mC3d3 encoding HA of influenza and 3 copies of C3d component of complement was described previously [26]. The correct sequences of generated DNA constructs were confirmed by nucleotide sequence analysis. All plasmids were purified by Endofree plasmid maxi kit (Qiagen). Purity of DNA was confirmed by UV spectrophotometry (260nm/280nm absorbance ratio >1.7) and gel electrophoresis.

Transfection of cells and expression of plasmids

Transfection of CHO cells with psA β ₄₂, pA β ₂₈-IL4 and pA β ₄₂-IL4 was discussed earlier [10]. To detect the expression of pmA β ₄₂ plasmid, 8x10⁵ CHO cells were tran-

siently transfected with 2 μ g of pmA β ₄₂ by Lipofectamine Plus Reagent (Invitrogen) and expression of the plasmid was analysed by immunoprecipitation (IP) in the lysate of transfected cells. Briefly, transfected CHO cells were harvested after 48 h of growth at 37°C, 10% CO₂ in DMEM-10% FBS by trypsinization, washed with PBS and resuspended in 6M guanidine-HCl. After sonication, the cell lysate was dialyzed against 50mM Tris-HCl buffer containing 0.5M guanidine-HCl. The first cell lysate was mixed with 0.5 μ g monoclonal anti-A β 6E10 antibodies (Signet) and 10 μ l of Protein G Sepharose beads (Amersham) and incubated at 4°C overnight. After incubation beads were collected by centrifugation at 1000x g, washed twice with PBS, resuspended in electrophoresis sample buffer, boiled 3 min and loaded onto 16% Tricine-SDS-polyacrylamide gel. HRP-conjugated protein markers were used as molecular weight standards. Proteins were transferred on the nitrocellulose membrane by electroblotting at constant voltage 100V in 25 mM Tris, 192 mM glycine and 20% methanol as a transfer buffer. Non-specific binding was blocked by incubating membrane in TBS containing 5% nonfat dry milk and 0.05% Tween-20 overnight at 4°C. The nitrocellulose membrane was incu-

bated with monoclonal anti-human-A β 6E10 antibodies (0.2 mg/ml) in the same buffer followed by washing with TBS-Tween-20, and incubation with HRP-anti-mouse secondary antibodies and visualized by enhanced chemiluminescence detection using Luminol reagent (Santa Cruz Biotechnology).

Immunization

Immunization of mice with experimental plasmids was performed either by needle intramuscularly (i.m.), intradermally (i.d.) or by gene-gun bombardment into the skin. Groups of eight mice (two independent experiments with 4 animals in each study) were injected i/m (into quadriceps muscle) with 100 μ g DNA vaccine in 100 μ l PBS. Before i.d. injection mice were anesthetized with avertin, shaved, and inoculated with 15 μ g DNA vaccine in 50 μ l PBS (1-2 cm distal from mouse tail base). Gene gun immunizations were performed on shaved abdominal skin using Helios gene-gun (Bio-Rad) as it was described [26]. Briefly, mice were bombarded twice with doses containing 1 μ g of DNA per 0.5 mg of $\sim$ 1 μ m gold beads (DeGussa-Huls Corp.) at a helium pressure setting of 400 psi. Several groups of mice were used as controls. One group of positive control mice (8 animals) were immunized by needle subcutaneously (s.c.) with A β ₄₂ peptide mixed with CFA and boosted biweekly with the same antigen formulated in IFA. Other two groups of positive control mice (8 animals in each) were immunized by needle (i.d. and i.m.) or by gene-gun bombardment with pcHA-3C3d. Finally, a group of eight mice immunized with vector was used as a negative control. Immunization and boosts were carried out by the same method biweekly and sera were collected after 7-8 days of each boost and used for the detection of anti-A β ₄₂ or anti-HA antibodies.

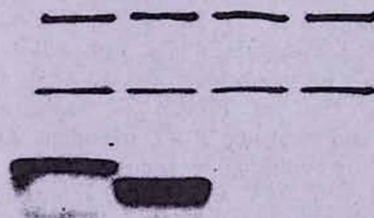


Fig. 1. Expression of A β ₄₂ (lane 1, 2) gene cassettes in CHO cells transfected with appropriate plasmid. Protein was recovered from cell lysate by IP and analyzed on 16.5% Tricine-polyacrylamide gel followed by WB. In IP and WB monoclonal anti-A β antibody 6E10 have been used. Lane 1, lysate of cells transfected with pmA β ₄₂; Lane 2, supernatant of cells transfected psA β ₄₂; Lane 3, supernatant of cells transfected with vector.

ELISA

To detect binding of antisera to immunogen, wells of 96-well plates (Immulon II) were coated with 2.5 μ M of human A β ₄₂ in Bicarbonate Coating Buffer (pH 9.7) and incubated overnight at 4°C. They were then washed and blocked with 3% nonfat dry milk in Tween-20 Tris Buffer Solution (TTBS) (1-2 h at 37°C). After washing of the wells primary sera from experimental and control mice were added in duplicate at indicated dilutions. After incubation (overnight at 4°C) and washing, HRP-conjugated anti-mouse IgG was added as recommended by manufacturer (Jackson Labs). Plates were incubated for 1 h at 37°C, washed, and freshly prepared OPD substrate solution (o-phenylenediamine in 0.05M phosphate-citrate buffer, pH 5.0) was added to develop the reaction. All plates were analyzed spectrophotometrically at 405 nm. Anti-HA antibodies were detected by ELISA exactly as it was described earlier [26].

Results and Discussion

Preparation and expression of plasmids

The results of transfection and expression of psA β ₄₂, pA β ₂₈-IL4 and pA β ₄₂-IL4 were discussed earlier [10]. Western Blotting analyses revealed that the molecular size of tmA β ₄₂ was slightly higher of 4 kD as a result of fusion with anchoring domain of PLAP (Fig. 1). Importantly, transfected cells produced significant quantities of A β ₄₂ since they formed a band, which was much more intensive than the band formed by 5 ng purified A β ₄₂ peptide. There weren't A β peptides in the lysate of the cells transfected with vector DNA.

Generation of antibody responses to A β peptides

First BALB/c mice were injected i.d or i.m. with psA β ₄₂, pmA β ₄₂, pA β ₄₂-IL4 and pA β ₂₈-IL4. The groups of eight mice were immunized and boosted 3 times biweekly. It appeared that after i.d. immunization and three boosts with plasmid encoding A β ₄₂ peptide alone or A β ₄₂ peptide fused with IL4 did not generate anti-A β antibodies. In contrast, positive control BALB/c mice immunized s.c. with A β ₄₂ peptide formulated in CFA/IFA induce robust antibody production as it was expected from the previous data [6]. Importantly, i.d. injection of psHA-mC3d3 (positive control for DNA vaccination) also generated robust anti-HA antibodies after three boosts. Thus, DNA vaccination with control plasmid demonstrated that the technique chosen for this study in general is working very well. Of course mice immunized with vector (negative control group) did not induce either anti-A β ₄₂ or anti-HA antibody production. Of note i.m. immunization of mice with plasmids encoding A β immunogen also did not induce production of specific antibodies. Thus, DNA immunization failed to induce humoral anti-A β immune responses in case of i.d. or i.m. injections. After failure to induce immune humoral responses by i.m. or i.d. immuni-

zations, it was decided to use more powerful technique – gene-gun bombardment for immunization of mice. Previously it was shown that fusion of gene encoding viral antigen with IL4 gene dramatically enhance humoral immune responses [16]. Thus, in this study it was attempted to use the same strategy to generate anti-AB antibodies in wild-type mice. Again mice immunized with vector did not induce anti- $A\beta_{42}$ antibody production, whereas injection of psHA-mC3d3 generated only anti-HA specific antibodies (data not shown). More

importantly, even gene-gun technique did not allow generating anti- $A\beta_{42}$ antibodies after immunization with ps $A\beta_{42}$ or pmAb42. In the group of mice immunized with p $A\beta_{42}$ -IL4, half of eight experimental mice generated robust anti- $A\beta_{42}$ immune response after only two boosts with p $A\beta_{42}$ -IL4, whereas two mice responded moderately, and the remaining two mice responded weakly (Fig. 2a). Titer of antibodies in the pooled sera was detected in two separate experiments (four mice in each experiment) and was equal to 1:3200 (Fig. 2b).

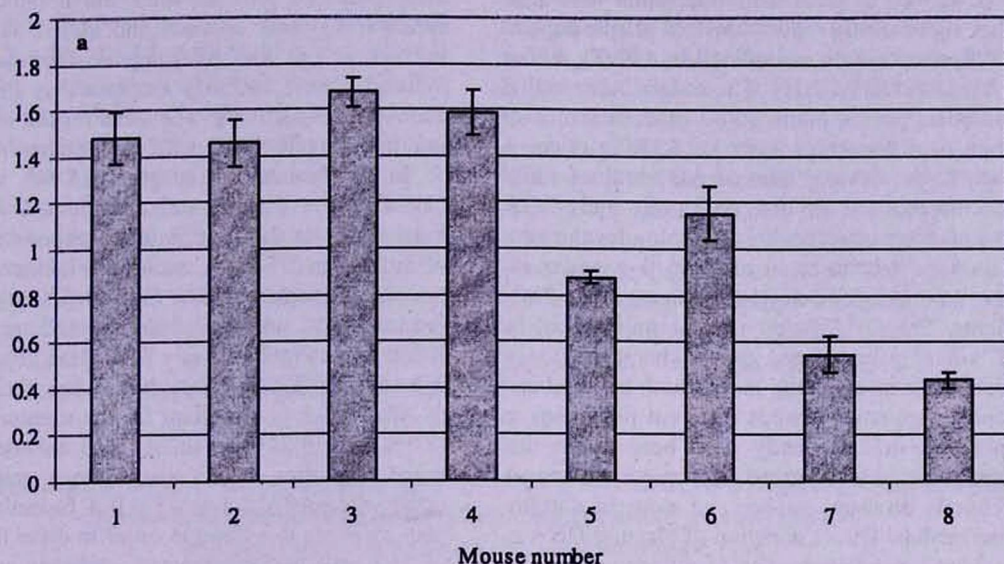
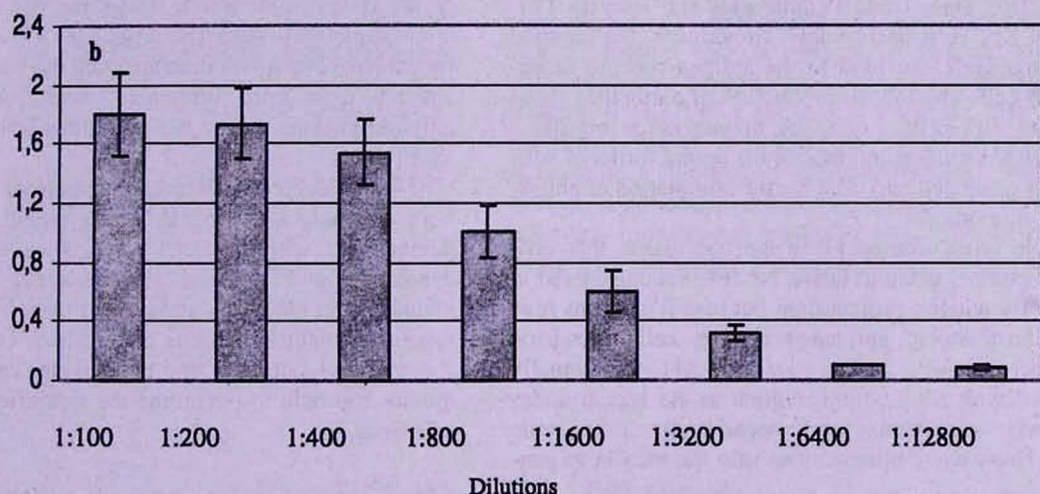


Fig. 2. Generation of anti- $A\beta_{42}$ antibodies after gene-gun immunization of eight B6/SJLFI mice with plasmids encoding IL4- $A\beta_{42}$ fusion protein. One microgram of plasmid was administrated three times and eight days after the last boost sera were collected and anti- $A\beta_{42}$ antibodies (total Ig) have been detected.

a) Serum of each mouse was diluted 1:250 and used in ELISA (SD represents results from three separate tests with the same sera).



b) Titer of anti- $A\beta_{42}$ antibodies was detected in the pooled sera from immunized mice (SD represent two separate experiments with sera of mice).

Thus, i.d., i.m. and gene-gun immunizations failed to induce significant antibody production in wild-type mice vaccinated with these prototype DNA vaccines, encoding soluble or transmembrane forms of A β ₄₂. But the presence of murine IL4 molecule as a molecular adjuvant in the plasmids encoding human A β peptides (A β ₄₂ or A β ₂₈) was critical for the generation of anti-A β antibodies after bombardment with gene-gun immunization.

Recently, immunotherapy as a possible treatment for AD has received considerable attention. It has been demonstrated that active immunization of APP/Tg mice with fibrillar A β ₄₂, as well as passive immunization with anti-A β antibodies significantly reduce amyloid plaque deposition, neuritic dystrophy, and astrogliosis in APP/Tg mouse models of AD [3,8,15,19,27,33]. These data indicate that anti-A β antibodies play a major role in the clearance of A β deposition from the brain tissue of APP/Tg mice. A new approach to the development of AD vaccines could be DNA vaccine encoded A β antigen. In this study DNA vaccination technique was decided to employ for the generation of immune responses to amyloid β peptides involved in the deposition of β -amyloid plaques in the brain of AD patients. The DNA-based vaccine belongs to the category of "killed" vaccines and yet has characteristics of a "live" vaccine, because it could induce both humoral and cellular immune responses against different pathogens in different animal models. Recently it has been shown that DNA immunization induces protective immune response against infectious diseases, cancer and even in autoimmune disease models. Direct injection of plasmid DNA in vivo results in prolonged expression of antigen and activation of both humoral and cellular immune responses. Among advantages of DNA vaccination are the versatility in the choice of the route of administration, the relative ease to construct and produce large amounts of recombinant molecules, production of intracellular peptide(s) and secretion of extracellular peptide(s), which can be directed toward MHC class I and II molecules and activate Th1/CTL and Th2 cells accordingly. In addition, the secreted soluble molecule can bind to the antigen-specific receptors on B cells and induce production of antibodies using help from Th2 cells. For DNA immunization constructions encoded soluble and membrane bound forms of A β ₄₂ were first generated and used for the stimulation of anti- β -amyloid antibodies.

Muscle is considered to be the best tissue that efficiently expresses plasmid DNA, but it is not considered to be a site for antigen presentation because it contains few, if any, professional antigen-presenting cells (dendritic cells, macrophages). In this case, few APC that actually get loaded with antigen and migrate to the lymph nodes are poorly stimulatory and occasionally tolerogenic [17,30]. However, immunizations into the muscle in gen-

eral induce favorable antibody production in DNA vaccinated animals [7,31,32]. In contrast, inoculation of immunogens into the skin tissue leads to the transfection of epithelial cells as well as direct transfection of dendritic cells and thereafter endogenous antigen synthesis and processing. Thus, i.d. immunization results in the production of antibodies and activation of dendritic cells, which migrate to regional lymph nodes and stimulate activation of cellular immune responses [23]. Based on these data, wild-type mice were immunized i.m. or i.d. using psA β ₄₂ and pmA β ₄₂ constructs. Surprisingly, four inoculations of these plasmids into the mice did not induce B cell responses. Control animals inoculated i.d. with psHA-mC3d3, or s.c. with A β ₄₂ peptide formulated in adjuvant induced robust antibody responses to influenza antigen and A β ₄₂, respectively. The same results we obtained after i.m. immunization and gene-gun bombardment.

In addition to advantages of DNA vaccination discussed above DNA vaccination could also manipulate magnitude and nature of immune responses by co-delivery of molecular adjuvants, such as cytokines, co-stimulatory molecules and others. The IL12 and IL4 cytokines help to generate Th1 and Th2 subsets of T cells respectively [20,24] and simultaneously inhibit the generation of opposite subset [11,22]. Thus, to enhance antibody responses to A β ₄₂ which is important for the immunotherapy of AD [3,5,8,9,15,19,27] one should also enhance Th2-type immune responses. Using this strategy, mice were immunized with pA β ₄₂-IL4 or A β ₂₈-IL4. Selection of this dominant cytokine was done in order to drive the development of Th2 cells and subsequently enhance antibody production. As shown in Fig. 2, plasmids encoding both immunogens and murine IL4 induced significant amounts of anti-A β ₄₂ antibodies only in case of gene-gun bombardment. Notably, as shown earlier [10] DNA vaccination with the same chimeric forms of plasmids generated antibodies are mostly of IgG1 isotype, whereas the level of IgG2a is very low which shows the polarization of immune response toward Th2 type. Also these antibodies are functional since it was demonstrated the binding of pooled antisera from mice immunized with pA β ₄₂-IL4 to β -amyloid plaques on the brain sections from a severe AD case [10].

Future studies with immunization of APP/Tg mice with plasmids encoding IL4-A β ₄₂ or/and IL4-A β ₂₈ will demonstrate whether DNA vaccination can reduce the deposition and promote the clearance of β -amyloid plaques from the brain, and protect mice from developing functional memory deficits and whether co-expression of IL4 or other cytokines and chemokines can improve immunity and help to overcome the side effects of standard adjuvants.

Поступила 11.01.04

Հակամիլոիդ β իմունային պատասխանների ձևավորման համեմատական վերլուծությունը IL4 գենի հետ միակցված Aβ-պեպտիդ իմունոգենը կոդավորող պլազմիդով փաթեթ ճանապարհներով իմունիզացումից հետո

Դ. Թ. Բաբիկյան

Ալցհեյմերի հիվանդության (ԱՀ) բնորոշ առանձնահատկություններից մեկը ամիլոիդ-β պեպտիդի նորմալից ավել ընթացող ճեղքավորումն է, գլխուղեղի նեյրոններում այս պեպտիդի արտաբջջային կուտակումը և նստվածքների ձևավորումը սկզբնականների տեսքով: Սի շարք հետազոտական խմբեր ցույց են տվել, որ 15 ամսեկան APP (Amyloid Precursor Protein) տրանսգեն (APP/Tg) մկների ակտիվ (Aβ₄₂ պեպտիդի ներմուծումը) կամ պասիվ (մոնոկլոնալին հակա-Aβ հակամարմինների ներմուծումը) իմունիզացումը հանգեցնում է գլխուղեղից β-ամիլոիդ սկավառակների արագընթաց մաքրմանը և ԱՀ նմանվող նյարդապաթոլոգիական երևույթների թուլացմանը: Այս տվյալները ցույց են տալիս, որ հակա-Aβ հակամարմինները էական դեր են խաղում ԱՀ բուժման գործընթացում:

Ներկա աշխատանքում փորձ է կատարված ուսումնասիրել հակա-Aβ հակամարմինների խթանումը տարբեր ԴՆԹ պատվաստանյութերով իմունիզացված մկների մոտ: Որպես ԴՆԹ պատվաստանյութեր կիրառվել են պլազմիդներ, որոնք կազմված են Aβ միմիզներից (pmAβ₄₂ և psAβ₄₂) կամ համապատասխան Aβ միմիզներից, որը կցված է մոլեկուլային ադյուվանտի՝ մկան IL4 գենի հետ (pAβ₄₂-IL4 կամ pAβ₂₈-IL4): ԴՆԹ իմունիզացումը և հետագա մի քանի բուստերը (իմունային պատասխանի ուժեղացումը) բերում են հակա-Aβ իմունային պատասխանի ձևավորմանը միայն pAβ₄₂-IL4 և pAβ₂₈-IL4 պլազմիդներով իմունիզացված մկների մոտ: Այս տվյալները ցույց են տալիս մոլեկուլային ադյուվանտի վճռորոշ դերը հակա-Aβ իմունային պատասխանի առաջացման գործընթացում: Բացի այդ, այս աշխատանքում ցույց է տրված նաև, որ միայն գենային «ատրճանակով» պատվաստումն է խթանում պոտենցիալ իմունային պատասխան:

Сравнительный анализ антиамилоидных β-иммунных ответов, образовавшихся после иммунизации разными путями с плазмидой, кодирующей Aβ-пептидный иммуноген, связанный с IL4

Д. Т. Бабикиан

Одним из характерных признаков болезни Альцгеймера (БА) является аномальное и внеклеточное накопление β-амилоидного пептида (Aβ₄₀ и Aβ₄₂) в виде бляшек на нейронах головного мозга. Различными исследователями показано, что активная (введение Aβ₄₂ пептида) или пассивная иммунизация (введение моноклональных анти-Aβ антител) 15-месячных APP трансгенных (APP/Tg) мышей приводит к ускоренному очищению β-амилоидных бляшек из головного мозга и ослаблению нейропатологических признаков, схожих с БА. Эти данные свидетельствуют о существенной роли анти-Aβ антител в лечении БА. Настоящая работа посвящена изучению индукции анти-Aβ антител в мышцах, иммунизированных различными

ДНК вакцинами. В качестве таковых мы использовали плазмиды, состоящие из Aβ мини-генов (pmAβ₄₂ и psAβ₄₂) или из определенного Aβ мини-гена, связанного с молекулярным адъювантом – мышинным IL4 геном (pAβ₄₂-IL4 или pAβ₂₈-IL4). ДНК иммунизация и ряд повторных бустов привели к образованию анти-Aβ иммунного ответа только после вакцинации с помощью pAβ₄₂-IL4 и pAβ₂₈-IL4 плазмид. Эти данные свидетельствуют о решающей роли молекулярного адъюванта в процессе генерации анти-Aβ иммунного ответа. В дополнение было показано, что только вакцинация с помощью генетического «ружья» позволила индуцировать потенциальный иммунный ответ.

References

1. Agadjanyan M. G. et al. J. Immunol., 1999, 162, p.3417.
2. Agadjanyan M. G. et al. AIDS Res. Hum. Retroviruses,

1997, 13, p.1561.

3. Bard F. et al. Nat. Med., 2000, 6, p.916.

4. Birmingham K., Frantz S. Nat. Med., 2002, 8, p.199.

5. *Chen G. et al. Nature*, 2000, 408, p.975.
6. *Cribbs D. H. et al. Int. Immunol.*, 2003, 15, p.505.
7. *Davis H. L., Whalen R. G., Demeneix B. A. Hum. Gene Ther.*, 1993, 993, p.151.
8. *DeMatos R. B. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2001, 98, p.8850.
9. *Dodart J.-C. et al. Nature Neuroscience*, 2002, advanced online publication.
10. *Ghochikyan A. et al. Eur. J. Immunol.*, 2003, 33, p.3232.
11. *Glimcher L. H., Murphy K. M. Genes Dev.*, 2000, 14, p.1693.
12. *Greenberg S. M., Bacskaï B. J., Hyman B. T. Nat. Med.*, 2003, 9, p.389.
13. *Hock C. et al. Nat. Med.*, 2002, 8, p.1270.
14. *Hock C. et al. Neuron*, 2003, 38, p.547.
15. *Janus C., Chishti M. A. Westaway D. Biochim. Biophys. Acta*, 2000, 1502, p.63.
16. *Kim J. J. et al. Journal of Interferon and Cytokine Research*, 1999, 19, p.1.
17. *Kurtz C., Kosaka H., Carbone F. R., Miller J. F., William R. J. Exp. Med.*, 1997, 186, p.239.
18. *Lemere C. A., Maron R., Selkoe D. J., Weiner H. L. DNA Cell Biol.*, 2001, 20, p.705.
19. *Morgan D. et al. Nature*, 2000, 408, p.982.
20. *Mosmann T. R. Sad S. Immunol. Today*, 1996, 17, p.138.
21. *Nicoll J. A. et al. Nat. Medicine*, 2003, 9, p.448.
22. *O'Shea J. J., Paul W. E. Nat. Immunol.*, 2003, 3, p.506.
23. *Raz E. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994, 91, p.9519.
24. *Romagnani S. Immunol. Today*, 1997, 18, p.263.
25. *Ross T. M., Xu Y., Green T. D., Montefiori D. C., Robinson H. L. AIDS Res. Hum. Retroviruses*, 2001, 17, p.829.
26. *Ross T. M., Xu Y., Bright R. A., Robinson H. L. Nat. Immunol.*, 2000, 1, p.127.
27. *Schenk D. et al. Nature*, 1999, 400, p.173.
28. *Schenk D. Nat. Rev. Neurosci.*, 2002, 3, p.824.
29. *Steinberg D. Scientist*, 2002, p. 22.
30. *Suss G. Shortman K. J. Exp. Med.*, 1996, 183, p.1789.
31. *Ulmer J. B. et al. Science*, 1993, 259, p.1745.
32. *Wang B. et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1993, 90, p.4156.
33. *Weiner H. L., Selkoe D. J. Nature*, 2002, 420, p.879.
34. *Winblad B., Blum K. I. Neuron*, 2003, 38, p.1.

Одной из целей исследования Y-хромосомы является составление древа, демонстрирующего эволюционные взаимосвязи современных Y-хромосом, для определения ее происхождения и ветвей.

Нами проведено исследование полиморфизмов (генетических маркеров) Y-хромосомы в армянской популяции.

Армянское нагорье расположено у северной границы Ближнего Востока над Сирией и Месопотамией. Оно разделяет Анатолийское плато до запада от горного Иранского Азербайджана и Курдистана. Армения постепенно переходит в высокогорье Центральной Анатолии, а доступ к Черному морю в направлении северо-запада закрыт Понтийскими Альпами. Армянское плато лежит на высоте 1500–2000 м над уровнем моря. Армянский язык является независимой языковой семьей индоевропейской группы.

Археологические раскопки свидетельствуют, что Армянское плато в Восточной Анатолии было одним из самых ранних колыбелей цивилизации, датируемой ранним каменным веком [5].

Что такое генетические маркеры? Генетические маркеры представляют собой некодируемые участки хромосом, которые подвержены изменениям, происходящим из поколения в поколение. К ним относятся вставки или делеции ДНК в характерных участках хромосом (indels), однонуклеотидные полиморфизмы (snips или SNPs), в которых меняется определенный нуклеотид (A→G, T→C), микро- и мини-сателлиты. Вставки или делеции (indels) и однонуклеотидные полиморфизмы (snips) происходят довольно редко, и они считаются полиморфизмами редких и уникальных событий. Микросателлиты являются последовательностями нуклеотидов длиной в 2–5 нуклеотидов, повторяющихся в виде тандемов. Размер повторяющихся единиц в мини-сателлитных последовательностях может меняться от 3–4 до 10–15 нуклеотидов [6].

Нами использованы 16 биаллельных полиморфиз-

мов Y-хромосомы с целью проведения анализа 486 образцов из 7 областей Армении. Гаплогруппы Y-хромосом, выявленные среди армянских мужчин, сравнивали с гаплогруппами Y-хромосом соседних стран.

Гаплогруппа включает индивидуумы со схожими биаллельными полиморфизмами и гаплотипами. Гаплотип представлен количеством повторов определенных аллелей или маркеров на Y-хромосоме. Гаплотип – набор сцепленных аллелей, наследуемых вместе.

Материал и методы

Образцы крови были взяты от 486 неродственных мужчин из разных областей современной Армении. Нами были выделены следующие районы Армении: Карабах, Лори, Ширак, Сюник, Севан, Арарат и Западная Армения (в этот район были сгруппированы мужчины, имеющие предков из разных областей Западной Армении). Исследуемые индивидуумы были отобраны и сгруппированы, принимая во внимание миграцию в 3 поколениях.

Материалом исследования служила ДНК, выделенная из цельной периферической крови. Для выделения геномной ДНК использовали специальный набор фирмы "Purgene" – "Gentra", США.

Образцы ДНК были генотипированы 16 биаллельными маркерами, которые являются вставками или делециями ДНК в характерных участках хромосом (indels), и однонуклеотидными полиморфизмами (SNPs): M17(del), M175(del), M20A, M9G, M45A, M89T, M173C, M130T(RPS4YT), M52C, M170C, M172G, M124T, M96C, M174C, TatC, YAP(Y Alu вставка). Наименование маркеров проведено согласно Underhill et al. [7], за исключением YAP – согласно Hammer et al. [8] и TatC – согласно Zerjal et al. [9].

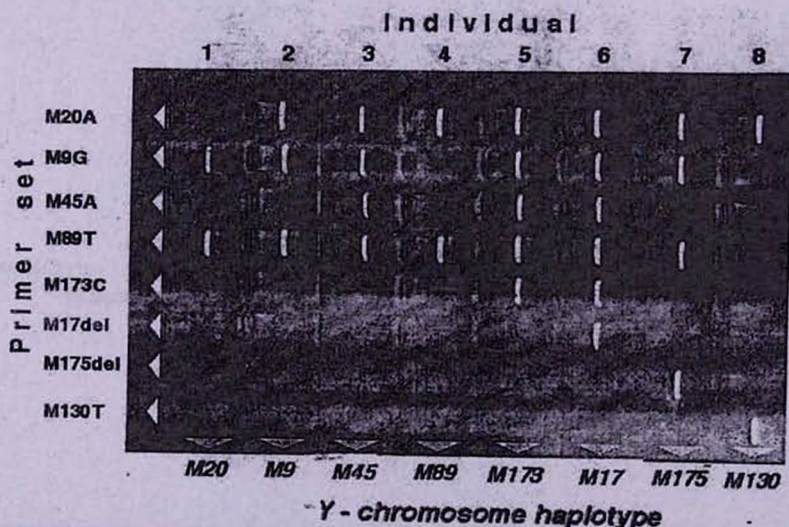


Рис. 2. Образец визуализации по соответствующим маркерам.

Типирование проводилось методом аллель-специфичной ПЦР-амплификации со специфичными праймерами, предназначенными для амплификации только в присутствии характерного полиморфизма.

Генотипирование образцов проводилось в два этапа. На первом этапе были генотипированы следующие маркеры: M20A, M9G, M45A, M89T, M173C, M17 (del), M175(del), M130T(RPS4YT).

Маркер M20A является предковым, он создан как контроль амплификации. Например, при наличии полиморфизма M20A нет амплификации на уровне M20A, а имеется амплификация на уровне M9G и M89T. Если есть наличие полиморфизма M45A, то наблюдается амплификация на M20A, M9G, M45A и M89T (рис.2).

Исходя из результатов первого этапа, планируется второй этап. Например, если на первом этапе выявлен полиморфизм M9G, то в дальнейшем эта ДНК субтипируется на TatC; M89T на M52C, M170C, M172G и т.д. Таким образом, соответственно субтипируются остальные маркеры.

Визуализация продуктов амплификации проводится в 1,5% агарозном геле ("Sigma", "Invitrogen").

Результаты и обсуждение

Используя 16 полиморфизмов редких уникальных событий, были генотипированы 486 образцов и идентифицировано 7 гаплогрупп Y-хромосомы (номенклатура гаплогрупп согласно Консорциуму по Y-хромосоме - UCC, 2000, (α) Jobling and Tyler-Smith). В группе, исследуемой нами, были выявлены следующие гаплогруппы (Hg): Hg1, Hg2, Hg3, Hg9, Hg21, Hg26, Hg28.

Частота гаплогрупп в процентах, выявленная в изученной нами группе, показана на рис. 3.

Hg1 – наиболее распространенная в Западной Европе. Полагают, что Hg1 исходит из группы Граветтанской культуры [10], которая прибыла в Европу из Средней Азии около 25 000 лет назад.

Частота Hg1, согласно O.Semino et al. [10], составляет: среди ирландцев – 81%, шотландцев – 79, басков – 73, испанцев – 68, французов – 50, евреев-сефардов – 30, персов – 27, турок – 20, грузин – 19%.

Согласно данным S.Wells et al. [11], высокая частота Hg1 отмечается у туркмен – 52% и у армян – 43%.

Согласно данным M. Weale et al. [12], частота Hg1 в разных регионах Армении составляет: в Арапате – 0.2273, на севере – 0.2222, в Сюнике – 0,40, в Карабахе – 0.4279, на западе – 0.2222.

Частота Hg1 в исследуемых нами группах в общем составила 32,52% (рис. 3).

Распределение гаплогрупп по регионам отображено в таблице.

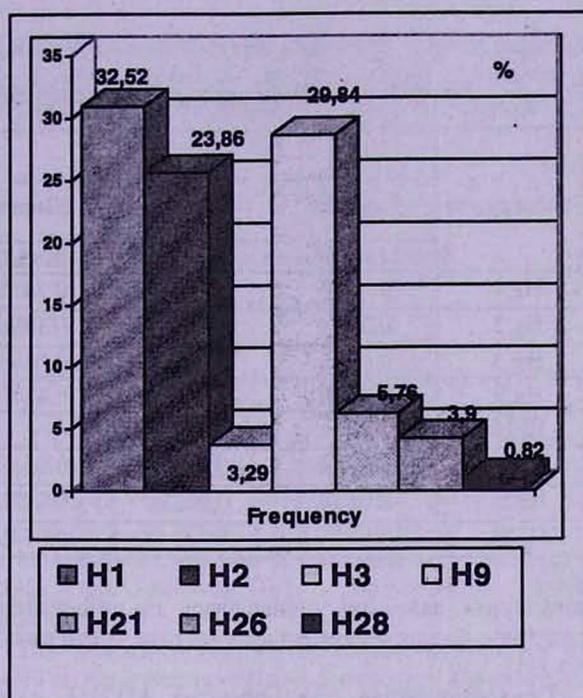


Рис. 3. Распределение частоты гаплогрупп Y-хромосомы в армянской популяции

Hg2 наиболее часто встречается в Южной и Восточной Европе. Считается, что представители этой группы являются потомками неолитических фермеров (новый каменный век) Среднего Востока, которые были первыми, кто начали заниматься земледелием в Европе ~ 8000 лет назад. По данным O.Semino [10], процент Hg2 у шотландцев – 19, басков – 8, французов – 25, португальцев – 16, турок – 25, грузин – 48.

Согласно исследованиям M. Weale et al. [12], частота Hg2 в различных регионах Армении составляет: в Арапате – 0.5909, на севере Армении – 0.5873, в Сюнике – 0.4286, в Карабахе – 0.4233, в Западной Армении – 0.5778.

В исследованной нами группе частота Hg2 составила 23,86%. Распространение Hg2 в исследованных нами районах показано в таблице.

O.Semino и соавт. [10] полагают, что Hg 9(SNP M172G) около 15 000–20 000 лет. Генетический вклад неолитических фермеров в европейский геном наиболее ярко выражен в популяциях, проживающих вдоль Средиземноморского побережья, по сравнению с Центральной Европой. Расселение неолитических фермеров повлияло больше на Южную Европу, чем на Центральную [10]. Процент Hg9, по данным O.Semino [10], следующий: французы – 13, баски – 4,5, ливанцы – 29, турки – 40, грузины – 33,3.

Наибольшая частота Hg9 выявлена в кавказских

Распространение частоты гаплогрупп Y-хромосомы в 7 регионах армянской популяции

Гаплогруппа	Регион						
	Карабах	Лори	Ширак	Сюник	Севан	Арабат	Западная Армения
	N=70	N=75	N=58	N=72	N=69	N=65	N=77
Hg 1	0.4143	0.3333	0.2415	0.3610	0.2899	0.3384	0.2856
Hg 2	0.2713	0.2133	0.1896	0.2777	0.2609	0.2460	0.2077
Hg 3	0.0286	0.0133	0.0345	0.0416	0.0434	0.0154	0.0519
Hg 9	0.2000	0.3466	0.4310	0.1666	0.3040	0.3230	0.3376
Hg16	—	—	—	—	—	—	—
Hg21	0.0428	0.0400	0.0517	0.1388	0.0434	0.0460	0.0389
Hg26	0.0428	0.0533	0.0172	0.0138	0.0434	0.0307	0.0649
Hg28	—	—	0.0345	—	0.0145	—	0.0129

популяциях, далее она уменьшалась по направлению к востоку, достигая наименьшей частоты среди монголов [11].

Генотипирование полиморфизма M172G, выявляющее Hg9, проведено нами впервые в армянской популяции на большой выборке. Частота Hg9 в исследованной нами группе составила 29,84%, а ее распределение по регионам представлено в таблице. Выявление гаплогрупп Y-хромосомы, проведенное в нашей работе, дополняет ранее проведенные исследования.

Армения занимает важное место в контексте экс-

пансии ранней человеческой популяции и развития языка. Армяне имеют выраженную этническую однородность, сохраненную в течение многих веков, несмотря на историко-географические изменения.

Нами продолжают исследования по изучению и выявлению генетических маркеров Y-хромосомы по микросателлитным повторам, которые дополняют и расширяют представления о генетической однородности или возможном разнообразии армянской популяции.

Поступила 23.01.04

Y-прототипный гаплогруппный анализ и его значение в изучении армянской популяции

Р. С. Зюлиханян

Учелены в работе частоты гаплогрупп Y-хромосомы в 7 регионах армянской популяции. Анализ показал, что частота гаплогруппы Hg9 в армянской популяции составляет 29,84%, что является одним из самых высоких значений среди других популяций. Это свидетельствует о том, что гаплогруппа Hg9 имеет древнее происхождение и распространена в армянской популяции.

Y-прототипный гаплогруппный анализ показал, что гаплогруппа Hg9 имеет древнее происхождение и распространена в армянской популяции. Это свидетельствует о том, что гаплогруппа Hg9 имеет древнее происхождение и распространена в армянской популяции. Анализ показал, что частота гаплогруппы Hg9 в армянской популяции составляет 29,84%, что является одним из самых высоких значений среди других популяций. Это свидетельствует о том, что гаплогруппа Hg9 имеет древнее происхождение и распространена в армянской популяции.

Особенностью гаплогруппы Hg9 является то, что она встречается только в армянской популяции. Это свидетельствует о том, что гаплогруппа Hg9 имеет древнее происхождение и распространена в армянской популяции.

Учелены в работе частоты гаплогрупп Y-хромосомы в 7 регионах армянской популяции. Анализ показал, что частота гаплогруппы Hg9 в армянской популяции составляет 29,84%, что является одним из самых высоких значений среди других популяций. Это свидетельствует о том, что гаплогруппа Hg9 имеет древнее происхождение и распространена в армянской популяции. Анализ показал, что частота гаплогруппы Hg9 в армянской популяции составляет 29,84%, что является одним из самых высоких значений среди других популяций. Это свидетельствует о том, что гаплогруппа Hg9 имеет древнее происхождение и распространена в армянской популяции.

Հայկական պոպուլյացիայում բացահայտված Y-քրոմոսոմի հապլոխմերների վերաբերյալ ներկայացված տվյալները լրացնում են մինչ այժմ կատարված

հետազոտությունների արդյունքները և իրենց ավանդն են ներդրում հայերի պոպուլյացիոն գենետիկայի հետազոտության մասին հարցերի պնդմանը:

Study of unique event polymorphisms of Y-chromosome in Armenian population

K.H. Hovhannesian

The past decade of advances in molecular genetic technology has opened a new era for evolutionary studies, particularly in the science of human evolution.

Y-chromosome is a large (~60Mb) linear molecule located in the nucleus and does not pass through female mitosis or meiosis. Y-chromosome includes few known genes and contains many different kinds of sequences, such as tandem and dispersed repeat families in addition to unique sequences.

Blood samples were taken from 486 unrelated Armenian men from different regions of Armenia: Karabakh, Lori, Shirak, Syunik, Sevan, Ararat and historical Western Armenia. Samples were genotyped with 16 biallelic mark-

ers: M17(del), M175(del), M20A, M9G, M45A, M89T, M173C, M130T(RPS4YT), M52C, M170C, M172G, M124T, M96C, M174C, TatC, YAP(Y alu insertion). Using 16 polymorphisms (UEPs) genotyped in all 486 samples we identified 7 Y-chromosome haplogroups: Hg 1, Hg 2, Hg 3, Hg 9, Hg 21, Hg 26 and Hg 28.

Percentage of Hg1 was 32,52%, Hg2 - 23,86%, Hg3 - 3,29%, Hg9 - 29,84%, Hg21 - 5,76%, Hg26 - 3,9%, Hg28 - 0,82%.

The data concerning Y-chromosome haplogroups revealed in Armenian population complement the investigations conducted before and give a donation in genetics of Armenian population.

Литература

1. Stoneking M. *Evol. Anthropol.*, 1993, 2, p. 60.
2. Affara N.A. *et al. Cytogenet. Cell. Genet.* 1994, 67, p. 360.
3. Lahr M.M. and Foley R. *Evol. Anthropol.*, 1994, 3, p. 48.
4. Jobling M.A. and Tyler-Smith C. *Elsev. Sci.*, 1995, 11, p. 449.
5. David Marshall Lang *Armenia. Cradle of civilization.* 2nd edition, George Allen & Unwin publishers, 1978.
6. Горбунова В.Н., Баранов В.С. *Введение в*

молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. М., 1997.

7. Underhill P.A. *et al. Nat. Genet.*, 2000, 26, p. 358.
8. Hammer M.F. and Horai S. *Am. J. Hum. Genet.*, 1995, 56, p. 951.
9. Zerjal T. *et al. Am. J. Hum. Genet.*, 1997, 60, p. 1174.
10. Semino O. *et al. Science*, 2000, 290, p. 1155.
11. Wells S. *et al. Am. J. Hum. Genet.*, 2002, 71, p. 466.
12. Yepiskoposyan L. *et al. Hum. Genet.*, 2001, 109, p. 659.

Методы выявления туберкулеза гениталий у женщин

О.Л.Соцкая, М.Д. Сафарян

ЕрГМУ им. М. Гераци, кафедра фтизиопульмонологии

375025 Ереван, ул.Корюна, 2

Ключевые слова: туберкулез гениталий, кольпоскопия, полимеразная цепная реакция

По сообщениям ученых разных стран [3, 11, 12, 15] ближнего и дальнего зарубежья, в мире повсеместно отмечается рост заболеваемости туберкулезом. В Армении туберкулез гениталий у женщин (ТГЖ) характеризуется острым течением, туберкулезной интоксикацией (71,4%), наличием асцитов (44,6%) и полисерозитов (13,6%) [9].

Несмотря на наличие успехов в вопросах диагностики ТГЖ [1,4], данное заболевание и по сей день остается одним из трудно диагностируемых. Для социально необеспеченных слоев населения современные высокоэффективные методы диагностики, такие как лапароскопия, малодоступны. Бактериологическое исследование, являющееся одним из основных методов верификации диагноза, обладает невысокой чувствительностью (3,2–28,8%) и требует длительного времени [4,9]. Немаловажное значение имеют и трудности взятия клинического материала для верификации диагноза. Инвазивные методы получения материала противопоказаны при остром течении заболевания, так же как и провокационные туберкулиновые пробы. Вследствие анергического состояния организма чувствительность к туберкулину в 40% случаев отсутствует [9]. Кроме того, в современной литературе недостаточно освещены вопросы выявления ТГЖ с помощью ультразвукового и кольпоскопического методов [7,10], в то время как их неинвазивность и доступность очевидны.

В цель настоящего исследования входит установление эффективности полимеразной цепной реакции (ПЦР) для диагностики туберкулеза, а также проведение корреляционного анализа между ПЦР и данными кольпоскопии, ультразвукового исследования (УЗИ), бактериологического и бактериоскопического методов.

Материал и методы

Обследовано 27 больных с подозрением на ТГЖ.

Исследованию были подвергнуты: отделяемое цервикального канала (14), менструальная кровь (3), промывные воды влагалища (5), экссудат (1), моча (11), отделяемое свища (1).

Всем больным произведено рентгенологическое исследование легких, проба Манту с 2 ТЕ ППД-Л, УЗИ, бактериологическое исследование на микобактерии туберкулеза (МБТ), ПЦР-диагностика, кольпоскопия (кроме девственниц – 5). Трех пациенткам произведена лапароскопия, 8–диагностическая лапаротомия, 4–биопсия шейки матки, 3–цервикогистеросальпингография (ЦГСГ), 2–парацентез, 5–компьютерная томография, 1–ядерная магнитная резонансная томография.

Для ПЦР-диагностики использовали коммерческие ПЦР-диагностикумы “Туберкулез амплист 1” фирмы “Ниармедик” (Москва), предназначенные для амплификации фрагмента последовательности гена *Is986* *Microbacterium tuberculosis*, и специфичный для 4 человеческих видов микобактерий.

Выделение ДНК проводилось в соответствии с инструкцией изготовителя. Для исследования промывных вод влагалища и менструальной крови использовались методики, предложенные фирмой-поставщиком, с некоторыми модификациями. Результаты учитывались исследованием продуктов амплификации методом электрофореза в агарозном геле. Полученные результаты документировались фотографированием гелей.

Микробиологическое исследование проводилось путем окрашивания мазков по Цилю-Нильсену для последующей бактериоскопии и методом посева на среды Левенштейна-Йенсена и Финна-2. УЗИ проводилось на аппарате “Toshiba 1CAL32” (Япония) и “General Electric RT 2800” (США), кольпоскопия – на кольпоскопе фирмы “ZEISS” с увеличением от 5 до 25 раз. Лапароскопию выполняли смотровым и манипуляционным лапароскопом фирмы “Olympus” (Япония) и фирмы “Karl Storz” (ФРГ). Особое внимание уделялось наличию асцита, тубоовариаль-

ных образований, гипопластической матки, свищей, диффузного напряжения мышц передней брюшной стенки, увеличения лимфатических узлов.

При определении клинических проявлений ТГЖ руководствовались классификацией, рекомендованной МЗ РСФСР от 13.10.89г. Н21-08/11-332 и модифицированной нами в отношении форм поражения брюшины [9].

Результаты и обсуждение

Обследованные женщины разделены на 2 группы: I (контрольная) – 8 больных с неспецифическими гинекологическими заболеваниями и II (основная) – 19 с активным ТГЖ.

Результаты выявления МБТ в исследуемом материале оказались положительными при ПЦР у 16 (84,2%) пациенток, при бактериоскопии – у 1 (5,7%), при посеве – у 5 (26,3%).

Наиболее высокий процент выявления МБТ методом ПЦР был в группе с выраженными воспалительными изменениями в придатках матки (90%), причем при поражении только придатков положительный результат получен в 75,0% случаев, при вовлечении в процесс и тела или шейки – у всех больных. В группе с незначительными воспалительными изменениями процент обнаружения МБТ ПЦР-методом составил 87,5%. Следует отметить, что как в группе с выраженными, так и с незначительными воспалительными изменениями процесс выявления МБТ методом ПЦР-анализа зависел от уровня поражения и степени распространенности туберкулезного процесса (85,7% – только придатки, 100% – придатки и тело).

Обращает на себя внимание высокая частота вовлечения в процесс брюшины (68,4%). В 21,1% случаев ТГЖ сопровождался полисерозитами. Анализ характера поражения брюшины показал, что экссудативные формы встречаются в 57,9%, а рубцово-спаечные – в 10,5% случаев. Причем, в свою очередь, экссудативные формы поражения были подразделены на три разновидности: экссудативную (42,1%), экссудативно-слипчивую (10,5%), казеозно-язвенную (5,3%). Сопоставляя характер поражения брюшины с выявляемостью МБТ методом ПЦР установлено, что при экссудативном и экссудативно-слипчивом поражении брюшины результаты ПЦР-анализа оказались положительными у всех больных. Последнее свидетельствует о том, что процент выявления МБТ методом ПЦР является наибольшим при экссудативных формах поражения.

Следовательно, результат ПЦР-анализа зависит от клинической формы, степени поражения и характера вовлечения в процесс брюшины.

У 3 больных результаты ПЦР-анализа были отрицательными. У 1 больной с казеозно-язвенным пора-

жением брюшины и придатков матки бактериоскопически и бактериологически МБТ также не выявились. В данном случае диагноз был верифицирован гистологическим исследованием операционного материала. У 1 больной с выраженным обширным поражением брюшины в виде бугорковых высыпаний диагноз был поставлен во время лапароскопии и верифицирован гистологическим методом. Многократные результаты посева и скопии также оказались отрицательными. У девочки 15 лет с задержкой полового развития и незначительными воспалительными изменениями в придатках матки диагноз подтвержден обнаружением МБТ в промывных водах влагалища методом посева. Отрицательный результат ПЦР-анализа в данном случае, возможно, объясняется неадекватной обработкой клинического материала, что соответствует некоторым литературным данным [2,5,6]. Обобщая полученные данные, можно заключить, что даже такой чувствительный метод диагностики как ПЦР-анализ не всегда выявляет МБТ при активном ТГЖ. Аналогичного мнения придерживаются и другие авторы [2, 5, 6, 8, 13, 14,].

ПЦР-негативные результаты послужили основанием для разработки комплекса методов, повышающих эффективность выявления ТГЖ. С этой целью мы сопоставили результаты всех методов рентгенологического, УЗИ, кольпоскопии, бактериологического и ПЦР-диагностики, которые были использованы при первом же обращении пациента с подозрением на ТГЖ. У 3 больных ТГЖ с положительными ПЦР-ответом рентгенография легких выявила "архив" перенесенного туберкулеза, а у 1 – активный туберкулез, в то время как ЦГСГ не обнаружила характерных для данного заболевания рентгенологических признаков. Из этого следует, что рентгенография легких является более информативным методом обследования при первичном обращении, чем ЦГСГ, из-за ограниченности показаний последней при экссудативных формах поражения. Проба Манту с 2ТЕ дала положительный результат лишь в 18,75% случаев, причем у двух подгрупп отмечен "вираж" туберкулиновых проб.

Проведено также сопоставление результатов УЗИ с данными ПЦР. В 68,4% случаев методом УЗИ выявлены жидкость в свободной брюшной полости и (или) малом тазе, осумкованный асцит, множественные внутрибрюшные спайки при экссудативно-слипчивом перитоните, сероцеле. Результаты ПЦР-анализа оказались положительными у 12 из них (92,3%), в то время как бактериологическим методом МБТ выявлены у 6.

Это позволяет рекомендовать УЗИ как безопасный, экономически выгодный скрининг-метод диагностики ТГЖ в комплексном обследовании, в особенности при асцитических формах поражения.

Нами также было произведено сопоставление данных кольпоскопии с результатами ПЦР-анализа. Для этого была взята группа из 14 больных с ТГЖ, кото-

рым произведена кольпоскопия. Туберкулез шейки матки обнаружен у 3 в виде просовидных бугорковых высыпаний и гипертрофии шейки матки. Во всех этих наблюдениях результат ПЦР-анализа оказался положительным, у 2 – обнаружен рост МБТ методом посева. В этой группе диагноз был подтвержден бактериологическим методом в 66.7%, методом ПЦР-анализа – в 100%.

В контрольной группе (8 больных) с неспецифическими гинекологическими заболеваниями с помощью методов УЗИ и кольпоскопии нами не были выявлены

характерные для ТГЖ признаки, результаты ПЦР-анализа в этой группе также оказались отрицательными.

Приведенные данные свидетельствуют, что внедрение ПЦР-технологии в диагностику ТГЖ является перспективным из-за высокой эффективности, специфичности и скорости получения результатов. Эффективность диагностики активного ТГЖ, характеризующегося острым течением и вовлечением в процесс брюшины, значительно повышается при сочетании использования ПЦР-анализа, УЗИ и кольпоскопии.

Поступила 27.10.03

Կանանց սեռական օրգանների տուբերկուլոզի հայտնաբերման եղանակները

O.L. Unglajyan, Մ.Ղ. Սաֆարյան

Սեռական օրգանների տուբերկուլոզի կասկածով հետազոտության է ենթարկվել 27 կին: Մանրաբանական հետազոտությամբ տուբերկուլոզը հայտնաբերվել է դեպքերի 31%-ում, պոլիմերազայի շղթայական ռեակցիայով (ՊՇՌ)՝ 84,2%, ըստ որում, վերջինս ուղիղ համեմատական է կլինիկական երևույթների արտահայտվածության աստիճանին: Ուլտրաձայնային քննության տեղեկատվություն (68,4%) ամենամատարճագույն է պոլիմերազային շղթայական

ռեակցիայով գուգորման պայմաններում՝ հասնելով 92,3%:

Կոլպոսկոպիկ եղանակով հետազոտված կանանցից միայն երեքի սեռական օրգաններում տուբերկուլոզին բնորոշ փոփոխություններ են հայտնաբերվել, մինչդեռ պոլիմերազային շղթայական ռեակցիայով բոլորի մոտ դրական պատասխան է արձանագրվել:

Ways of women genital organs tuberculosis detection

O.L. Sotskaya, M.D. Safaryan

This study included 27 women with suspicion of genital organs tuberculosis. Tuberculosis was detected by bacteriological survey in 31%, by polymerase chain reaction (PCR) in 84,2% of cases. The latter was proportional to the intensity of clinical symptoms. The effectiveness of ultrasound study (68,4%) has increased evidently when combined with PCR, reaching 92,3%. Colposcopic exami-

nation has revealed typical tuberculosis changes only in 3 women, while PCR has detected the presence of tuberculosis in all patients.

Thus, we can consider that PCR is a perspective, specific, rapid method for women genital tuberculosis detection.

Լիտերատուրա

1. Алимбекова О.А. Туберкулез гениталий у женщин в регионе с высоким распространением заболевания

(эпидемиология, диагностика, клиника, лечение). Автореф. дис. докт. мед. наук. М., 1989.

2. Вишневская Е.Б. Проблемы туберкулеза, 2000, 5, с.47.
3. Гарбуз А.Е. Проблемы туберкулеза, 1998, 1, с.32.
4. Колачевская Е.Н. Проблемы туберкулеза, 1998, 5, с.15.
5. Крайненко Е.В., Мальков И.Г. Материалы научно-практ. конф. "Молекулярные основы патогенеза и диагностики туберкулеза и другой легочной патологии". М., 1995, с. 29
6. Мирлина Е.Д., Ланцов В.А., Семеновский А.В. и др. Проблемы туберкулеза, 1998, 1, с. 46.
7. Прилепская В.Н., Роговская С.И., Межевитинова Е.А. Кольпоскопия. Практическое руководство. М., 2001.
8. Радюк С.Н., Рыжов К.А., Мацевич Г.Р. Микробиол., 1998, 3, с. 95.
9. Соцкая О.Л. Клиническое течение генитального туберкулеза у женщин в Армении и современные принципы его диагностики. Дис. канд. мед. наук. Ереван, 1998.
10. Хачкурузов С.Г. УЗИ в гинекологии. Симптоматика. Диагностические трудности и ошибки. СПб., 1999.
11. Хоменко А.Г. В.сб.: Резюме III съезда научно-медицинской ассоциации фтизиатров. Екатеринбург, 1997, с. 5.
12. Шевченко Ю.Л. Пробл. туберкулеза, 2000, 3, с.2.
13. Amicosante M., Richeldi L., Trenti G. et al. J.Clin. Microbiol. 1995, 33, 3, p.629.
14. Richter E., Gened U., Kristen D. et al. Amer. J. Resp. Crit. Care. Med., 1996, 153, 2, p. 380.
15. Sotskaya O., Safaryan M.D., Bayakhchyan A.Yu. Polyserositis in phthisiognacology. 1st European Region Conference of the IUATLD. Hungary, Budapest, 12-15, April 2000.

Зависимость степени атрофии альвеолярного отростка от причины потери зубов

М. С. Петросян

ЕрГМУ им. М. Гераци, кафедра ортопедической стоматологии

375025 Ереван, ул. Корюна, 2

Ключевые слова: атрофия альвеолярного отростка, потеря зубов, сахарный диабет, пародонтит, функциональная перегрузка, экзостоз

Причины полной вторичной адентии разнообразны: кариес и его осложнения, заболевания пародонта, функциональная перегрузка зубов, общие соматические заболевания.

Современные ортопедические подходы к лечению полной вторичной адентии при резко выраженной степени атрофии альвеолярного отростка сводятся к изготовлению полных съемных пластиночных протезов, т.к. при применении имплантатов есть опасность перфорации дна гайморовой пазухи на верхней челюсти и нижнечелюстного канала – на нижней.

Известно, что фиксация и стабилизация изготовленных полных съемных протезов во многом зависит от состояния и типа слизистой оболочки и площади протезного ложа. При резко выраженных степенях атрофии альвеолярного отростка из-за уменьшения последнего уменьшается также круговой замыкающий клапан, что, естественно, неблагоприятно влияет на фиксацию протеза [2,6].

Цель данной работы состоит в выявлении зависимости степени атрофии альвеолярного отростка от причины потери зубов.

Материал и методы

С целью определения взаимосвязи степени атрофии альвеолярного отростка и причины потери зубов было обследовано 95 больных и диагностических

моделей верхних беззубых челюстей. Больные разделены на группы в зависимости от причины потери зубов и степени атрофии альвеолярного отростка (таблица).

Результаты и обсуждение

Как известно, атрофия альвеолярного отростка – необратимое уменьшение объема кости в результате превалирования рассасывания кости над ее созданием со стороны надкостницы, причем протезирование не приостанавливает явлений атрофии, а, наоборот, усиливает их [3]. Это объясняется тем, что альвеолярная кость не приспособлена к восприятию сил сжатия, которые исходят от базиса съемного протеза, а в ряде случаев – неравномерным распределением жевательного давления, направленного преимущественно на альвеолярный отросток, что является результатом неправильного протезирования [3, 5, 7].

Как известно, альвеолярный отросток после удаления зуба подвергается перестройке, причем с заживлением раны перестройка не заканчивается, а продолжается, но уже с преобладанием явлений атрофии. Это вызывается выпадением функции альвеолярного отростка (атрофия бездеятельности), резорбцией на фоне общих и местных заболеваний (пародонтоз, пародонтит, диабет) или старческой (сенильная, возрастная) атрофией альвеолярного отростка [3, 4].

Среди общесоматических заболеваний, вызывающих полную потерю зубов, ведущее место занимает сахарный диабет. Из обследованных 21 больной страдал сахарным диабетом, причем у 15 диабет протекал латентно и был выявлен только после прогрессивной потери зубов за 6–12 месяцев. У этих больных атрофия альвеолярного отростка соответствовала III степени по Шредеру, поскольку заболевание обычно сопровождается пародонтолизом, при котором наблюдается неуклонное прогрессирование выраженных процессов разрушения пародонта с преобладанием вертикально-

Таблица

Причина потери зубов	Степень атрофии альвеолярного отростка		
	I	II	III
Кариес	3	2	2
Заб. пародонта	–	11	31
Соматич. болезни	1	5	15
1+2	–	11	14

го типа деструкции, причем в костной ткани преобладают процессы остеолитиза [1]. Резко прогрессирующий остеолитиз в 5 случаях латентного диабета приводил к образованию болтающегося гребня. У 5 больных, страдающих сахарным диабетом, болезнь была диагностирована ранее, чем были потеряны зубы, больные находились на лечении, обмен веществ в пародонте был компенсированным. Зубы потеряны из-за кариеса и его осложнений, и в этих случаях атрофия альвеолярного отростка была равномерной: в 4 случаях соответствовала II степени, а в одном случае – I степени по Шредеру.

У 15 больных потеря зубов протекала на фоне пародонтоза: у 6 отмечалась II степень, у 9 – III степень атрофии. Образования болтающегося гребня не наблюдалось, так как атрофия альвеолярного отростка происходила синхронно с ретракцией десны. Больные в анамнезе отмечали долгое протекание болезни, из них 15 носили частичные съемные пластиночные протезы. Опорные зубы были утрачены в результате функциональной перегрузки, а альвеолярный отросток в этом участке был атрофирован резко и неравномерно. 27 больных потеряли зубы на фоне пародонтита. У троих из них зубы были шинированы, благодаря чему клинических признаков, свойственных пародонтиту (расшатанность отдельных зубов, веерообразное расхождение центральных зубов и т. д.), не наблюдалось. Зубы были удалены одновременно, и атрофия альвеолярного отростка была равномерной – II степени. У 12 больных на фоне пародонтита наблюдалась травматическая окклюзия, что способствовало перегрузке пародонта зубов и ускорению процесса резорбции кости в этой области, приводящей к потере зубов. У 2 больных был генерализованный пародонтит на фоне сильных нервных переживаний. Зубы удалены одновременно из-за расшатываемости, и атрофия альвеолярного отростка была II степени. У 48 больных полная верхняя беззубость возникла после удаления одиночно стоящих зубов, из которых в 33 случаях они имели

патологическую подвижность, в остальных случаях были удалены с целью создания полноценного кругового замыкающего клапана. В 7 случаях потеря зубов была обусловлена кариесом разной давности. Двое больных страдали беззубостью и не носили протезы в течение 8–10 лет, что клинически проявилось в виде атрофии альвеолярного отростка III степени, у 2 больных со II степенью атрофии альвеолярного отростка беззубость была 4–5-летней давности, в остальных 4 случаях – относительно ранней давности. Вышеизложенное позволяет связать степень атрофии альвеолярного отростка с давностью потери зубов.

В 25 случаях потеря зубов была на фоне кариеса и заболеваний пародонта, что клинически проявлялось неравномерной атрофией альвеолярного отростка с преобладанием одной из основных форм по Шредеру: на участках, где зубы были потеряны в результате кариеса, атрофия альвеолярного отростка была менее выражена.

Результаты проведенного исследования сводятся к следующему. Отмечающаяся в последние годы тенденция увеличения полной вторичной адентии на фоне генерализованного пародонтита из-за перманентных стрессовых ситуаций (ухудшение социально-бытовых условий и т. д.), а также несвоевременное обращение больных за специализированной ортопедической помощью становятся причиной неравномерной атрофии альвеолярного отростка, характер и степень которой зависят от причины потери зубов.

Своевременное протезирование позволяет избежать дальнейшего развития атрофии альвеолярного отростка, что благоприятно сказывается на результатах протезирования в дальнейшем.

С целью компенсации сахарного диабета и предотвращения атрофии альвеолярного отростка больным при расшатываемости и прогрессирующей утрате зубов за короткий срок необходимо проводить анализ на выявление сахара в крови.

Поступила 14.10.03

Արամնարնային ելունի ապառի աստիճանի կախվածությունը արամները կորցնելու պատճառներից

Մ. Ս. Պետրոսյան

Արամների հեռացման պատճառներից արամնարնային ելունի ապառի աստիճանի կախվածությունը որոշելու նպատակով հետազոտվել է լրիվ ամատամնությամբ տառապող 95 հիվանդ և ամատամն վերին ծնոտների պատրոշի տիպարներ: Հիվանդները բաժանվել են խմբերի՝ կախված արամները

կորցնելու պատճառներից: Առաջին տեղը զբաղում են պարոդոնտի տարբեր ծագման հիվանդությունները:

Հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ արամնարնային ելունի ապառի աստիճանը շատ դեպքերում կախված է ատամը կորցնելու պատճառներից: Շարժվող ատամի երկարատև ներկայությունը համ-

գեցնում է անհամաչափ ապաքին, որն ավելի ցայտուն է արտահայտված հենց այդ գոտում: Պարոդոնտի և շաքարային դիաբետի չկոմպենսացված և քաքնված

ձևերի ժամանակ ապաքին ավելի ցայտուն է արտահայտված:

The interrelation between the causes of teeth loss and the degree of alveolar processus atrophy

M. S. Petrosyan

To define the interrelation between the causes of teeth loss and the degree of alveolar processus atrophy 95 patients suffering from complete secondary adenty of maxillary jaw have been investigated. The patients were divided into groups depending on the causes of teeth loss. The leading group was the patients with different etiology parodontosis.

The investigations have shown that the degree of al-

veolar processus atrophy depends on the causes of extraction; prolonged presence of moovible brings to uneven atrophy significantly expressed particularly in this area: atrophy is more expressed in parodontosis and decompensated and latent diabetes mellitus. Atrophy of maxillary jaw tuber and palatal torus is less expressed on the the upper jaw and more expressed on the vestibular part of alveolar processus.

Литература

1. Боровский Е. В. Терапевтическая стоматология. М., 2003.
2. Бушан М. Г., Каламбаров Х. А. Осложнения при зубном протезировании и их профилактика. Кишинев, Штиинца, 1980.
3. Гаврилов Е. И., Щербakov А. С. Ортопедическая стоматология. М., 2000.
4. Гаврилов Е. И. Протез и протезное ложе. М., 1979.
5. Копейкин В. Н., Миргазизов. Ортопедическая стоматология. М., 2003.
6. Калинина Н. В. и др. Протезирование при полной потере зубов. М., 1990.
7. Копейкин В. Н. Ошибки в ортопедической стоматологии. М., 1998.

О рациональности применения антимикробных препаратов в ряде больниц и поликлиник г. Еревана

Д.Р.Оргусян

Агентство по лекарствам и медицинским технологиям МЗ РА

375001 Ереван, ул. Московяна, 15

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, антибиотикотерапия, опрос врачей

В Армении, так же как и во всем мире, повышение резистентности различных патогенных микроорганизмов к антибиотикам является серьезной проблемой, чреватой такими неприятными последствиями, как грядущая эра «постантибиотиков». По данным ВОЗ, почти 75% противомикробных препаратов назначаются нерационально [1, 4].

Следует отметить участвовавшие случаи назначения цефалоспоринов, макролидов и хинолонов. Повышение резистентности к этим препаратам вызывает особое беспокойство, так как они назначаются для лечения очень опасных заболеваний [12].

Использование триметоприма в ветеринарии является одной из вероятных причин появления триметоприм-резистентной сальмонеллы [11]. Вызывает тревогу лицензирование таких ветеринарных препаратов, как квинолон и энрофлоксацин, поскольку хинолоны могут потерять свою эффективность как основные препараты для лечения инвазивного сальмонеллеза [5]. Использование авопарцина (в ветеринарии – гликопептид) провоцирует появление ванкомицин-резистентных энтерококков – микроорганизмов, которые могут соперничать с метициллин-резистентными *Staphylococcus aureus* по возможному отрицательному воздействию на макроорганизм [9].

В 70-х годах с *H. Influenzae* успешно боролись с помощью ампициллина. Однако приобретение данным патогенным микроорганизмом бета-лактамазы, способной ферментативно расщеплять бета-лактамное кольцо пенициллина, привело к тому, что 23% *H. Influenzae* стало ампициллин-резистентным [8].

Туберкулез стал резистентным ко многим противотуберкулезным препаратам, поэтому в настоящее время рекомендуется множественная терапия. Согласно исследованиям британских ученых, примерно в 10% случаев туберкулезная палочка резистентна хотя бы к одному противотуберкулезному препарату, а в США нормой становится резистентность, равная 30% [14].

Энтерококки стали серьезным источником внутри-

больничной инфекции. Недавно обретенная способность вырабатывать бета-лактамазу сделала их устойчивыми к повышенным дозам аминогликозидов, и, что особенно важно, у них появилась резистентность к ванкомицину и тейкопланину. В настоящее время микробиологи заняты исследованием гипотетической ситуации, при которой ванкомицин-резистентные гены от мультирезистентных энтерококков могут перейти в популяцию метициллин-резистентных стафилококков, что станет причиной появления нового микроорганизма – *S. aureus*, устойчивого ко всем известным антибиотикам и вызывающего неизлечимые заболевания [9].

Кризис, наблюдаемый сегодня, не похож на предыдущие. Его особенность прежде всего в количестве вовлеченных микроорганизмов и отсутствии немедленного ответа на антибактериальную терапию. В прошлом фармацевтическая промышленность решала проблему резистентности путем производства нового, более эффективного антибиотика. Однако на сегодняшний день не существует принципиально нового класса антибиотиков, приемлемого для клинического применения, а разработка новых препаратов может занять 10–15 лет. Сегодня перед медициной стоит сложная задача замедлить скорость, с которой развивается и распространяется резистентность.

Практика назначения противомикробных препаратов и других лекарств зачастую ошибочна – часто назначается неподходящая дозировка. Так, в Танзании 91% антибиотиков назначались в неправильной дозировке [6], а в Индии свыше 90% назначений не содержали указания дозы [13]. Пациентам с вирусными респираторными инфекциями неправильно назначались антибиотики в 97% случаев в Китае [7] и 81% случаев – в Гане [2]. Согласно сообщениям, неуместное назначение антибиотиков при детской диарее типично для Пакистана. В Европе свыше 50% женщин-матерей, опрошенных в исследовании, подтвердили, что при респираторных инфекциях им в основном

назначались антибиотики [3].

Причины назначения противомикробных препаратов без необходимости кроются в недостатке знаний, что приводит к постановке ошибочного диагноза и соответственно – лечения.

Материал и методы

В учреждениях здравоохранения города Еревана (12 больниц и 5 поликлиник) был проведен опрос врачей различных профилей по специально разработанному опроснику, включающему вопросы механизмов действия различных групп антибиотиков.

С целью расчета репрезентативного образца выборки из общего числа врачей (4299), работающих в 68 различных учреждениях города Еревана (26 поликлиник и 42 больницы), был использован «Sample size calculator» службы «Creative Research Systems». Результаты расчета определили количество требуемого образца, который составил 353 врача.

Для рандомизированного выбора вышеуказанного числа врачей были случайно выбраны 9 больниц и 5 поликлиник (14 учреждений, что составляет 20% от общего числа, причем 62% составляют больницы, а 38% – поликлиники). Расчет осуществлялся при помощи компьютерной программы STATISTICA 6.0. В опросе участвовали врачи 23 различных профилей (табл.).

Таблица

Количество врачей узкой специализации, участвующих в опросе

Специальность	Количество	%
Терапевт	69	19.1
Педиатр	68	19.0
Гинеколог	42	12.0
Инфекционист	36	10.0
Кардиолог	22	6.2
Хирург	20	5.6
Офтальмолог	13	3.6
Анестезиолог	11	3.0
Комбустиолог	9	2.5
Другие	63	19.0

Среди участвующих в опросе врачей 3% были в возрасте до 24 лет, 25%–25–34, 39%–35–44, 33% – выше 44 лет. Из них 25% мужчин, 75% женщин.

Результаты и обсуждение

Первичная обработка данных позволила получить следующие результаты: был определен средний процент верных, частично верных и неверных ответов, оценивающих знание врачей относительно применения антимикробных препаратов по медицинским учреждениям, по профилю врача, возрастным группам и полу.

Интерес представляет факт, что среди респондентов, давших правильный ответ, преобладают врачи больниц. В поликлиниках же отмечается больше отказов и неверных ответов, что объясняется экстремальностью ситуаций в больницах, повышающей ответственность врача и требующей более углубленных знаний в области применения фармакопрепаратов (рис. 1).

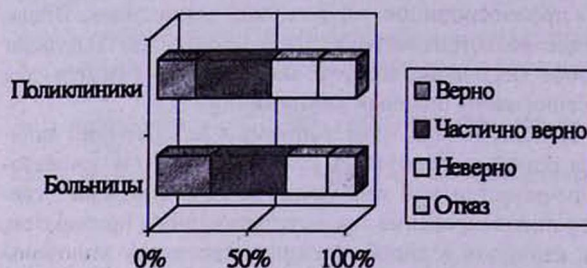


Рис. 1. Ответы по медицинским учреждениям.

Анализируя ответы по специальностям, можно сделать заключение, что наиболее высокие знания в области антибиотикотерапии отмечаются у гинекологов. К сожалению, врачи-инфекционисты не входят даже в первую пятерку верно ответивших на вопросы специалистов (рис. 2).

Настороженность вызывает тот факт, что неверные ответы превысили 50%. Это говорит о том, что обеспечение рациональной антибиотикотерапии в республике является крайней необходимостью.

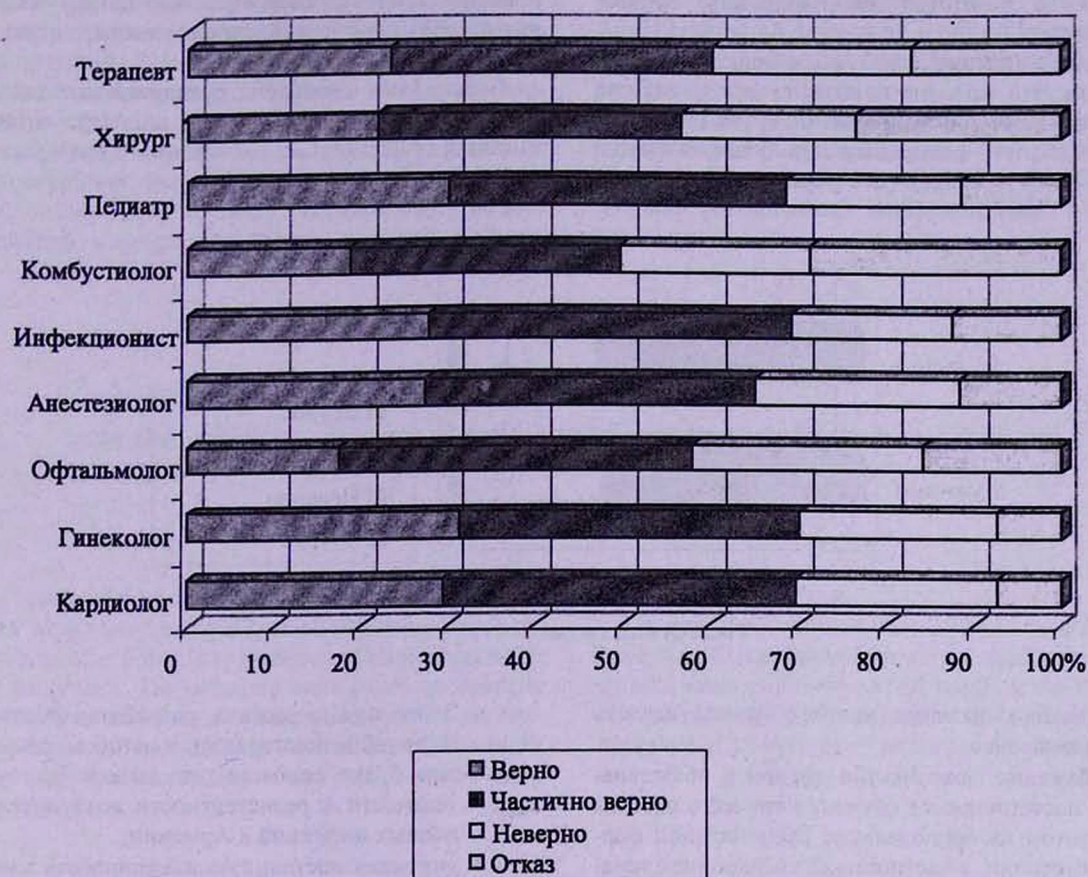


Рис.2. Ответы по специальностям.

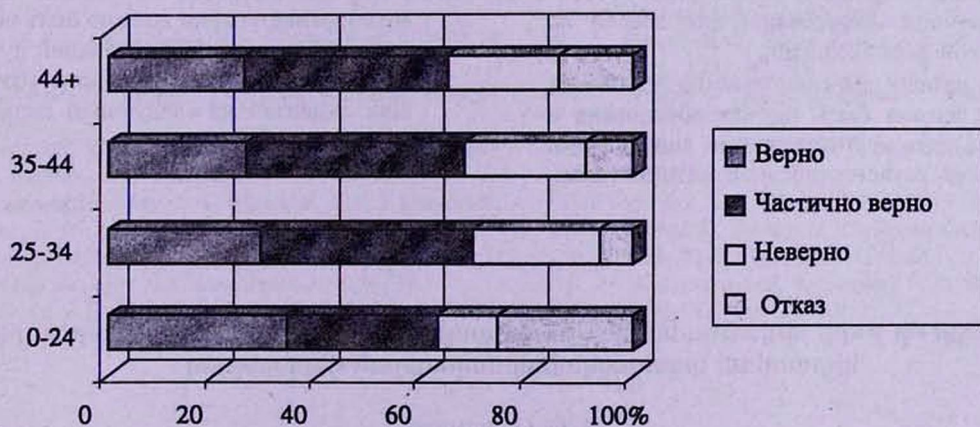


Рис.3. Ответы по возрастным группам.

В ответах специалистов по возрастным группам была выявлена некоторая закономерность, которая отражена на рис. 3.

Полученные данные дают возможность сделать вывод о том, что молодое поколение (до 34 лет) по числу верных ответов занимает лидирующее место, чего нельзя сказать о специалистах более старшего возраста (34–44 г. и выше), где преобладают неверные

ответы и отказы. Это является следствием недостаточной информированности взрослого поколения и говорит о необходимости внедрения непрерывного образования.

Была также проведена сравнительная характеристика осведомленности врачей по полу, которая не показала существенных расхождений (рис. 4).

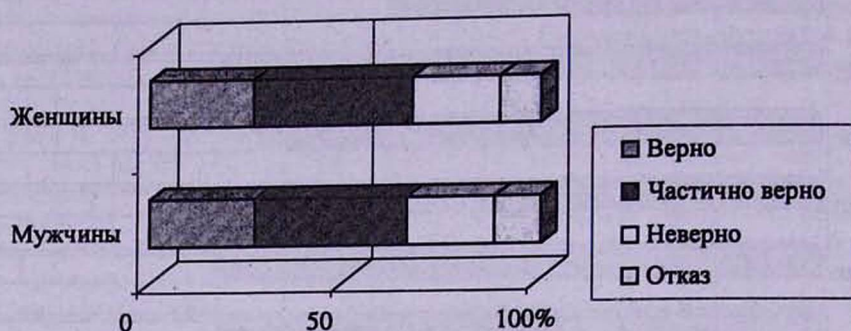


Рис. 4. Ответы по полу.

На основании вышеизложенного можно сделать следующие выводы:

- необходимо повсеместно внедрить обязательное постдипломное обучение врачей с особым акцентом на преподавание рациональной фармакотерапии, в частности антимикробной терапии;
- следует повысить роль больничных фармакотерапевтических комитетов в вопросах внедрения оптимальных схем фармакотерапии в больницах, а также разработать и внедрить современные технологии обеспечения необходимой научной информации для врачей по клинической фармакологии;
- политика назначения специалистов различных областей должна быть научно обоснована и соответствовать местным данным эпиднадзора, касающимся резистентности к антибиотикам.

Этого можно достичь, разработав руководство по антибиотикотерапии, в котором рекомендации будут основаны на данных по чувствительности и резистентности возбудителей основных инфекций в Армении;

- учитывая постоянную изменчивость микромира и соответственно изменения стратегии и тактики антимикробной терапии, с одной стороны, и с другой – стремительное развитие фармакологии и фармацевтической индустрии, важным рычагом поддержания осведомленности врачей в области современных достижений антибиотикотерапии должно быть обеспечение постоянного контроля их знаний путем периодических аттестаций и выдачи соответствующих лицензий на следующий период врачебной деятельности.

Поступила 15.02.04

Երևան քաղաքի մի շարք հիվանդանոցներում և պալիկլինիկաներում հակամանրէային դեղերի կիրառման նպատակահարմարության վերաբերյալ

Դ. Ռ. Օրգույան

Երևան քաղաքի 12 հիվանդանոցներում և 5 պալիկլինիկաներում հատուկ մշակված հարցաթերթիկի օգնությամբ ուսումնասիրվել են մասնագիտական

տարբեր քեքում ունեցող բժիշկների մոտեցումները հակաբիոտիկների ազդեցության մեխանիզմների և կիրառման նկատմամբ: Հարցման մեջ ընդգրկված

բժիշկների թիվը և հիվանդանոցներն ու պոլիկլինիկաները ընտրվել են ըստ «Creative Research Systems» ծառայության «Sample size calculator»-ի օգնությամբ. 4299 բժիշկներից հետազոտման մեջ են ներառվել 353 բժիշկ և 68 բժշկական հիմնարկներից՝ 17-ը: Ստացված տվյալների մշակումը իրականացվել է «Statistica 6.0» ծրագրի օգնությամբ:

Արդյունքները վկայում են, որ հետազոտվածների 50%-ը ունեն անբավարար գիտելիքներ հակաբիոտիկների ազդեցության մեխանիզմների և նպա-

տակահարմար կիրառման վերաբերյալ, ինչ անհրաժեշտաբար պահանջում է համընդհանուր հետադիսպոնսյան ուսուցման և բժիշկների գիտելիքների օբյեկտիվ գնահատման արմատավորում մեր համրապետությունում:

տակահարմար կիրառման վերաբերյալ, ինչ անհրաժեշտաբար պահանջում է համընդհանուր հետադիսպոնսյան ուսուցման և բժիշկների գիտելիքների օբյեկտիվ գնահատման արմատավորում մեր համրապետությունում:

On the expediency of usage of antimicrobial preparations in some hospitals and out-patient clinics of Yerevan

D.R.Orgusyan

Physicians of 12 hospitals and 5 out-patient clinics of Yerevan were tested using a special questionnaire on the mechanisms of action and expediency of clinical prescription of antibiotics. The questions were based on «Sample size calculator» of «Creative Research Systems» service, 353 physicians of total 4299 were tested from 17 hospitals of 68 in total. Statistical analysis was carried out by using

«Statistica 6.0» program.

It was demonstrated that 50% of tested physicians have insufficient knowledge on the mechanisms of action of antibiotics and their correct usage. It shows the necessity of inculcation of post-diploma practice and objective appraisal of knowledge of physicians in Armenia.

Литература

1. Action programme on essential drugs. WHO report, 1996-1997.
2. Bosu W.K., Afori-Adjei D. East African Med. J., 1997;74 (3):138.
3. Branthwaite A., Pechere J.-C. Med. Research, 1996;24 (3):229.
4. Davey P. G., Bax R. P., Reeves D., Rutherford D., Slack et al. Br. Med. J., 1996; 312:613.
5. Frost J. A., Threlfall E. J., Rowe B. PHLS Microbiol. Digest., 1996; 12: 131.
6. Gilson L., Jaffar S., Mwankusye S., Teuscher T. Intern. J. of Health Planning and Management, 1993;8: 37.
7. Hui L., Li X.S., Zeng X.J., Dai Y.H., Foy H.M. Pediatric Infect. Dis. J., 1997;16(6):560.
8. James P. A., Lewis D. A., Cribb J., Dawson S. J., Murray S. A. J. Antimicrob. Chem., 1996; 37: 737.
9. Noble W. C., Virani Z., Cree R. G. A. FEMS Microbiol. Lett., 1992; 93:195.
10. Nizami S., Khan I., Bhutta Z. Soc. Science and Med. 1996;42(8):1133.
11. Report of the Expert Group on animal feeding stuffs. HMSO, 1992.
12. Service R. F. Science, 1995; 270:724.
13. Uppal R., Sarkar U., Giriappanavar Cr, Kacker V. J. Clin. Epidemiol., 1993;46(7):671.
14. Warburton A. R. E., Jenkins P. A., Waight P. A., Watson J. M. CDR Rev., 1993;13:175.

Մանկական լեյկեմիաների բուժման արդյունքները BFM ծրագրի ներդրումից հետո

Ս.Ն. Դանիելյան, Ս.Ս. Իսկանյան

Պրոֆ. Ռ. Յոլյանի անվան արյունաբանական կենտրոն

Երևան, Հր. Ներսիսյան, 7

Բանալի բառեր. լեյկեմիա, պերիֆերիկ արյուն, ոսկրածուծ, քիմիոթերապիա

Լեյկեմիան համարվում է մանկական մահացության գլխավոր պատճառներից մեկը [1] եւ մշտապես գտնվում է մանկաբույժ արյունաբանների ուշադրության կենտրոնում: Բուժման անարդյունավետությունը տարիներ շարունակ բժիշկ-գիտնականներին ստիպում է փնտրել նոր բուժման եղանակներ, ինչի շնորհիվ ճակատագրական համարվող հիվանդությունը սկսում է ճանաչվել:

Երկու տասնամյակ առաջ Գերմանիայում մանկական արյունաբանների մի խումբ առաջարկում է բուժման մի նոր եղանակ, որը մայր կլինիկաների անվանումների հասպտակում արյունահեռելու կազմի BFM (Berlin, Frankfurt, Mjunster) [2]: Այս ծրագիրը տարեց-տարի նվազում է նորանոր համախոհներ և՛ բռնելով տարիների քննությունը, սկսում է կատարելագործվել: Այժմ արդեն այս եղանակի արդյունավետությունը ոչ մեկի մոտ կասկած չի հարուցում եւ համարվում է աշխարհի ամենավատահետի պրոտոկոլներից մեկը: Ամեն 2-3 տարին մեկ անգամ տեղի են ունենում ծրագրին հետևող կլինիկաների աշխատանքային համաժողովներ, որտեղ մանրամասն քննարկման են ենթարկվում բոլոր վիճահարույց հարցերը եւ բժախնդիր վերլուծություններից հետո հաստատվում է նոր, ավելի կատարելագործված տարբերակը, որը այնուհետև կրում է համապատասխան տարբերիչը:

Այսպես, ծրագրի իր արդյունավետությունը արեւմտյան կլինիկաներում 80-ական թվականների վերջում սովետական արյունաբանությունը [3]՝ Չեռնոբիլյան աղետի համաճարկային արձագանքի պայմաններում, այստեղի կերպով ինտեգրացվեց եվրոպական լավագույն դպրոցների հետ: Հիմքում ունենալով դասական արյունաբանության ֆունդամենտալ փայլուն դպրոցը, մոսկովյան երիտասարդ գիտնականները արդեն 90-ականների սկզբին իրենց շնորհալի ղեկավարների հետ, հաղթահարելով այս տարածաշրջանին հատուկ դժվարությունները (ցիտոստատիկների, ներերակային հեղուկների, հզոր հակաբիոտիկների տրոսյուն, սանիտարական անբավարար վիճակ), կարողացան տալ լեյկեմիայով տառապող երեխաների առաջին առողջացած խումբը: Այս ժամանակահատվածում դեռեւս գործում էին միութենական կապերը, որից եւ օգտվելով հայ արյունաբանները,

համարձակորեն անտեսելով սպասվելիք դժվարությունները, ձեռնամուխ եղան գերմանական BFM ծրագրի իրականացմանը, որի արդյունքների ամփոփման է նպատակաուղղված ներքոշարադրալը:

Պրոֆ. Ռ. Յոլյանի անվան արյունաբանական կենտրոնի մանկական բաժանմունքում գերմանական ծրագրի լիարժեք ներդրումը կատարվեց 1993 թվականին, երբ մոսկովյան կլինիկաներում վերապատրաստված հայ արյունաբանները սկսեցին առաջին հիվանդների բուժման փորձերը, որոնց արդյունքների մասին խոսք կգնա ստորև:

Սուր լեյկեմիաների ախտորոշումը կատարվում էր պերիֆերիկ արյան, ոսկրածուծի, ողնուղեղային հեղուկի մորֆոլոգիական եւ ցիտոքիմիական հետազոտությունների հիման վրա [4-5]: 1993 թվականի մեր տվյալները կարող են ցույց տալ այն վիճակագրական պատկերը, որն առկա է 10 տարվա հետադարձությամբ բուժման արդյունքները քննարկելիս:

Հիվանդ երեխաները բուժվել են BFM-90 ծրագրով, որն իրենից ներկայացնում է ինտենսիվ քիմիոթերապիա՝ ստացիոնարի պայմաններում բուժման առաջին 8 ամիսների ընթացքում, այնուհետև ճառագայթային բուժում՝ միջինը 12 օրվա ընթացքում և, բուժման առաջին օրվանից սկսած՝ 3 տարի տղա եւ 2 տարի աղջիկ երեխաների պահպանողական բուժում տնային պայմաններում ամենօրյա ցիտոստատիկների պերօրալ ընդունումով, որոնց դոզան որոշվում է պերիֆերիկ արյան ամենաբարձր քննության արդյունքներից ելնելով [6]: Տղաների և աղջիկների բուժման մեջ այս մեկ տարվա տարբերությունը պայմանավորված է հաճախակի հանդիպող արտատոսկրածուծային տեստիկուլյար ռեցիդիվների առկայությամբ, որի վտանգը աղջիկները չունեն:

Ստացիոնար 8 ամիսների ինտենսիվ քիմիոթերապիան իրենից ներկայացնում է ռեմիսիայի ինդուկցիա երկփուլային կուրսերով, որի ընթացքում զննատվում է բուժման արդյունավետությունը՝ բուժումը սկսելու 8-րդ օրը պերիֆերիկ արյան մեջ բլաստների առկայությամբ կամ բացակայությամբ: Այնուհետև, կատարվում է ոսկրածուծի հետազոտում բուժման 15-րդ օրը, որը հետագայում կրկնվում է 33-րդ օրը: Եթե այս տվյալները մեզ գոհացնում են, բուժումը

չարումակվում է նույն BFM-90 ծրագրով: Հետագա կուրսերը նպատակ են հետապնդում կանխելու հիվանդության կրկնությունը [7]:

Արյունաբանական կենտրոնի մանկական բաժնում 1993 թվականին լեյկեմիա է ախտորոշվել 6 ամսեկանից մինչև 14 տարեկան 42 երեխայի մոտ, միջին տարիքը 6.3: Տղաների-աղջիկների հարաբերակցությունը կազմում է 28/14, 2:1: Սուր լեյկեմիաներով տառապել են 42 հիվանդներից 40-ը, ընդ որում 36 հիվանդ տառապել է սուր լիմֆոբլաստային տարբերակով (90%), միջնաճեղ միելոբլաստային տարբերակով հիվանդ են եղել 4 երեխա (10%):

Հիպերալաստիկ համախտանիշ առկա է եղել բոլոր հիվանդների մոտ, բացառությամբ մեկ երեխայի (97.6%): Հեմոռագիկ համախտանիշ ունեցել է 25 երեխա (59.5%): Անեմիա տարբեր խորությամբ նշվել է 27 հիվանդի (64.2%) մոտ:

Հիպերլեյկոցիտոզ արձանագրվել է 7 դեպքում (16.6%), լեյկոպենիա նշվել է 4 հիվանդների (9.5%) մոտ: Ինֆիլտրացիոն լիմֆոցիտոզ չի ախտորոշվել: Միջնորմի ներգրավում պրոցեսի մեջ նշվել է մեկ երեխայի (2.3%) մոտ: Ոսկրածուծի մորֆոլոգիական հետազոտությունը հիմք է տվել ախտորոշելու սուր լեյկեմիա, քանի որ դեպքերի 100%-ի մոտ չարորակ բջիջները կազմել են մեկ հիվանդի մոտ 59%, իսկ մնացած դեպքերում՝ 70%-ից բարձր:

Բուժումը ընթացել է BFM-90 ծրագրով ամբողջությամբ կամ մոդիֆիկացված, բացառությամբ 4

երեխայի, որոնց բուժումը տարվել է ավանդական սխեմաներով: Տարված բուժման ֆոնի վրա 22 երեխայի մոտ 15-րդ օրվա ոսկրածուծի մորֆոլոգիական պատկերը խոսել է հեմատոլոգիական ռեմիսիայի կամ կոմպենսացված վիճակի մասին: Բուժման պայմանական 33-րդ օրվա արդյունքները վկայել են բոլոր երեխաների ռեմիսիայի օգտին:

Սուր լիմֆոբլաստային լեյկեմիայով տառապող 36 հիվանդներից բուժումից հրաժարվել են 4 երեխայի ծնողներ: 32 երեխայից ոչ ժամանակակից եղանակներով (հիմնականում դեղորայքային ապահովվածության բացակայության պատճառով) բուժվել է 10 երեխա, մնացած 22 հիվանդները բուժվել են վերոհիշյալ գերմանական ծրագրերով:

Վերլուծելով առաջին տարում լիակատար BFM ծրագրի անցկացման հետադարձ արդյունքները այսօր վստահորեն կարելի է ասել, որ 22 հիվանդից առողջացել է 12 երեխա, ինչը կազմում է 54,5%:

Եթե նկատի ունենանք մախրող տարիների արդյունքները, ապա 1993 թվականից նկատվում են մանկական լեյկոզոլոգիայի առաջին նվաճումները, որոնք սակայն, պայմանավորված լինելով Հայաստանի ընդհանուր վիճակով, ունեն վերապահումներ: Հաջորդ տարիների վիճակագրական պատկերը ավելի խոսում արդյունքներ է խոստանում, որոնց վերաբերյալ տվյալներն ենթադրում ենք ներկայացնել մեր հաջորդ հրապարակումներում:

Поступила 9.04.03

Результаты лечения детской лейкемии после внедрения немецкого протокола BFM

С.О.Даниелян, С.С.Исканян

Со дня введения немецкого протокола BFM в Гематологическом центре им. проф. Р.О. Еоляна прошло 10 лет, и сегодня с уверенностью можно говорить о полученных результатах.

Из 22 больных, лечавшихся по программе BFM, 12

детей считаются вылеченными: это составляет 54.5% курируемых больных. С годами наблюдалась положительная динамика, и результаты стали сопоставимы с данными западных клиник

The results of treatment of children's leukemia after the investment of BFM project

S.H. Danielyan, S.S. Iskanyan

In the children's department of prof. R.Yolyan's Haematological Centre 10 years passed after the investment of the German BFM project and today we can present the received statistical data.

In 1993 12 out of 22 sick children affected with acute

leukosis can be considered healthy in 10 years' observation, which makes 54,5% of the patients. The statistical picture has had positive dynamics during the following years and the obtained data are comparable with those registered in the Western clinics.

Գրականություն

1. *Боробеев А.И.* Руководство по гематологии. М., 2002.
2. *Великова Л.Ю., Горбань Ж.И., Карачунский А.И.* и др. Неходжкинские лимфомы у детей М., 1994.
3. *Ковалева Л.Г.* Острые лейкозы. М., 1990.
4. *Волкова М.А.* Клиническая онкогематология. М., 2001.
5. *Kantarjian H., Estey E., Keating M.* Leukemia, 1996, 10 /suppl. 1/.
6. *Principles and Practice of Pediatric Oncology*, ed. Pizzo P.A., Poplack D.G., Washington, 1993.
7. *Lampert F., Bertran U., Riehm H.* Acute lymphoblastic leukemia, *Pediatric Oncology, Clinical practice and controversies*, 1992.

Современные требования к знаниям по онкологии у врачей в свете социальной значимости дисциплины

А.М.Галстян, А.З.Алексян

Онкологический научный центр им. В.А. Фанарджяна МЗ РА

375052 Ереван, ул. Фанарджяна, 76

Ключевые слова: рак, диагностика, онкологическая настороженность, ВУЗ, преподавание

Злокачественные новообразования являются одной из главных проблем медицины, обуславливая высокие показатели заболеваемости, инвалидности и смертности населения. В Армении, как и в большинстве стран, рак занимает второе место в общей структуре заболеваемости и смертности населения, при этом отмечается неуклонный ежегодный рост заболеваемости примерно на 2%: только за последние годы заболеваемость возросла на 15%, а смертность на 35–40%. Вместе с тем имеет место возрастание показателей запущенности – у 70–80% больных опухоль выявляется в III–IV стадиях заболевания. Даже при опухолях, доступных визуальному осмотру (рот и ротоглотка, кожа, молочная железа, прямая кишка, шейка матки), весьма низок процент впервые выявленных опухолей в начальных стадиях. Столь неутешительное состояние обусловлено отсутствием профилактической направленности медицины, и онкологии в частности, недостатками проводимых диагностических мероприятий, низкой онкологической настороженностью населения, а также врачей общелечебной сети.

Квалификация по онкологии и онконастороженность врачей общелечебной сети имеют первостепенное значение в ранней диагностике злокачественных опухолей: 5-летняя выживаемость при лечении опухолей в I стадии составляет 95–100%, II – 50–80%, III – 15–45% и в IV стадии – 0. При первичных жалобах больные, как правило, обращаются к помощи врачей общелечебной сети, и поэтому ошибки, допускаемые ими при диагностике и, зачастую, безуспешных попытках лечения, приводят к инкурабельности онкологических больных.

В организации противораковой борьбы важнейшее значение имеет уровень профессиональной подготовки будущих врачей, что свидетельствует о необходимости проведения ряда усовершенствований и перестройки преподавания онкологии в медицинских вузах.

Онкология – это отрасль науки, в которой количе-

ство и объем неизвестных человечеству и нерешенных проблем больше, чем в другой медицинской дисциплине. Объем информации и необходимых знаний здесь быстро нарастает. Поэтому представляется главным организация 2- или даже 3-этапного изучения предмета в медицинском вузе с последовательностью и преемственностью в течение всего периода обучения. Изучение теоретических основ онкологии целесообразно проводить на начальных базисных курсах (II–III) в виде отдельных лекционных циклов, поскольку общие сведения о биологических и генетических аспектах онкологии, онко- и канцерогенезе, принципах диагностики и симптоматике студенты получают разрозненно на различных общетеоретических кафедрах и лекционных и практических циклах биологии и медицинской генетики, патологической физиологии и патологической анатомии, диагностики и пропедевтики внутренних болезней и пр. Как показывают наш опыт, а также данные литературы, у студентов даже выпускных курсов весьма низки и ошибочны знания о теоретических и причинно-следственных связях по проблеме: так, более 10% студентов (да и врачей) считают рак заразным заболеванием, а почти половина считают профилактику злокачественных опухолей неэффективной и бесполезной.

На II этапе, при изучении клинических основ онкологии, необходимо увеличение часов преподавания предмета с усилением раздела диагностики, особенно ранней. Задачей вузовского обучения является не формирование специалиста по лечению (естественно, знание основных принципов терапии обязательно), а онкологическая настороженность, знание клинической симптоматики и методов диагностики опухолевой патологии. В медицинском вузе имеется множество различных клинических кафедр, что мешает студенту разобраться в их значении. Наиболее важным студент считает тот предмет, который преподается длительно и подробно. К онкологии это, к сожалению, не относится. Поэтому крайне необходимо привести препода-

вание онкологии в соответствии с актуальностью проблемы в структуре заболеваемости и смертности населения.

В плане поднятия статуса кафедры онкологии и повышения ответственности студентов за овладение предметом необходимо введение экзамена или дифференцированного зачета по онкологии, что обеспечит эффективный контроль за знаниями.

Программами обучения преподавание онкологии по некоторым дисциплинам и локализациям (урология, гинекология, нейрохирургия и др.) проводится на соответствующих кафедрах, не имеющих соответствующей клинической базы, преподавательского состава, что снижает возможность эффективно обучать студентов. Представляется естественной необходимость преподавания не только по теоретическим аспектам диагностики и хирургического лечения, но и ознакомления со всем арсеналом диагностических и лечебных подходов: лучевого, химиотерапевтического, комбинированного и комплексного методов, а также с результатами лечения. Кроме отсутствия возможностей по проблемам лечения (лучевая, химиотерапия), работа этих кафедр не связана с основными задачами противораковой службы – профилактикой, ранней диагностикой, формированием групп повышенного риска, анализом несвоевременно выявленных опухолей и др. Поэтому преподавание онкологии или выпадает (особенно практические занятия), или проводится не на надлежащем уровне, в результате чего у студентов зачастую возникают представления о фатальности и неизлечимости опухолевого процесса.

Поэтому представляется целесообразным передача кафедре онкологии всех онкологических программ из других дисциплин: все вопросы онкологии (лекционный курс и практические занятия) должны изучаться на базе специализированного НИИ, диспансера с преподавателями-онкологами.

На VI курсе обучения с целью повышения онкологической настороженности и закрепления практических навыков диагностики, в том числе ранней, основное количество часов должно быть отведено только для поликлинических практических занятий.

Думается, на протяжении всего периода обучения в медицинском вузе онкология должна преподаваться как единая научная дисциплина, включающая вопросы этиологии, эпидемиологии, канцерогенеза, клиники, профилактики и лечения с основным упором, как было сказано выше, на вопросы ранней диагностики и профилактики. Многокафедральная, «разрозненная» система обучения онкологии не способствует приобретению и закреплению знаний будущего врача в огромной массе получаемой информации. Приобретение же навыков уточненной диагностики и специализированных методов лечения будет проводиться в последующем в интернатуре или клинической ординатуре, циклах специализации или усовершенствования в системе постдипломного образования.

Рак излечим! Основополагающий фактор при этом – ранняя диагностика. В основе причин запущенности заболевания около 50% приходится на субъективный, человеческий фактор – ошибки врачей общей лечебной сети на этапе первичной диагностики.

Поступила 14.10.03

Բժշկների մոտ ուռուցքաբանության վերաբերյալ գիտելիքների ժամանակակից պահանջները՝ բնագավառի սոցիալական նշանակության լույսի ներքո

Ն.Մ. Գալստյան, Ա.Զ. Ալեքսանյան

Չարորակ նորագոյացությունները համարվում են բժշկության հիմնահարցերից մեկը: Բարձրորդության և մահացության բարձր ցուցանիշները պայմանավորված են ինչպես բնակչության, այնպես էլ ընդհանուր բուժական ցանցի բժշկների մոտ ուռուցքաբանական ցածր զգոնությամբ: Վերջինս վկայում է ապագա բժշկների բուժական կրթության համակարգում մի շարք կատարելագործումների իրականացման անհրաժեշտության մասին: Ուսանողների մոտ առարկայի տիրապետման պատասխանատվության բարձրացման նպատակով անհրաժեշտ է դարձել «Ուռուցքաբանություն» առարկայից քննություն մտցնել, «Ախտորոշում» բաժնի ժամերի ավելացմամբ:

Բուժական կրթության խնդիրը համարվում է ոչ թե ուռուցքային ախտաբանության բուժման մասնագետի ձևավորումը, այլ կլինիկական ախտաբանության և ախտորոշման հիմնական մեթոդների գիտելիքների ձեռքբերումը, ուռուցքաբանական զգոնության բարձրացումը:

The contemporary requirements to oncology knowledge of physicians in the light of social significance of the subject

A.M.Galstyan, A.Z.Alexanyan

Malignant neoplasms are one of the main problems of contemporary medicine. High rate of late referral and mortality are due to low level index of oncologic alarm among both population and general practice physicians.

This fact approves the need for some changes in teaching program at higher medical school. In order to increase the responsibility of future doctors we consider it neces-

sary to introduce "Oncology" examination, and to increase the teaching time and volume of diagnostic section of the subject. The purpose of scholar education is not a formation of an oncologist, but giving knowledge in the field of clinical course and basic methods of diagnostics of oncologic pathology, increase of oncologic alarm.

Ստոմատոլոգիական հիվանդությունների կանխարգելիչ միջոցների օգտագործման արդյունքները

Մ.Մ.Մարգարյան, Ի.Ֆ.Վարդանյան

Երևանի Մ.Հերացու անվ. Պետական բժշկական համալսարանի ստոմատոլոգիական հիվանդությունների կանխարգելման և մանկական ստոմատոլոգիայի ամբիոն

375025 Երևան, Կորյունի 2

Բանալի բառեր. կանխարգելում, կարիես, պարոդոնտի հիվանդություններ

Ստոմատոլոգիական օգնության կատարելագործումը առողջապահության կարևոր խնդիրներից մեկն է: Ստոմատոլոգիական հիվանդությունների կառուցվածքի մեջ բոլոր տարիքային խմբերում գերակշռող են մնում կարիեսը և պարոդոնտի հիվանդությունները:

Ներկայումս՝ առողջապահության ամբարձար ֆինանսավորման պայմաններում, կտրուկ բարձրացում է ստոմատոլոգիական հիվանդությունների կանխարգելման դերը, որի ներդրումը թույլ է տալիս զգալի կերպով պահպանել երեխաների և մեծահասակների բերանի խոռոչի առողջությունը:

Չանգվածային զուվագրների առկայությունը և հիգիենայի միջոցների բազմազանությունը ստիպում է մասնագետներին կատարել ավելի մանրակրկիտ կլինիկական հետազոտություններ՝ դրանց արդյունավետության և որակի վերլուծության և գնահատման նպատակով [2]: Շատ տարբեր են մալ կանխարգելիչ միջոցների արդյունավետության գնահատման չափանիշները:

Տվյալ հետազոտության նպատակն էր որոշակի ատամնամածուկների կանխարգելիչ ազդեցության արդյունավետության, բերանի խոռոչի հիգիենայի և պարոդոնտի հյուսվածքների վիճակի գնահատման

ցուցանիշների տարբեր համակցումների տեղեկատվականության որոշումը [1]:

Նյութը և մեթոդները

Կատարվել է 200 հոգու համալիր կլինիկական ստոմատոլոգիական հետազոտություն, որոնցից 120-ը ԵրԴՀ-ի 18-20 տարեկան ուսանողներ էին, 80-ը՝ Երևանի միջնակարգ դպրոցների 6-12 տարեկան աշակերտներ:

Որոշվել է.

1. ատամների կարիեսի հաճախականությունը ըստ ԿՊՀ ցուցանիշի,
2. պարոդոնտի հյուսվածքների վիճակը՝ PMA, GI և CPI ցուցանիշներով,
3. բերանի խոռոչի հիգիենայի վիճակը՝ OHI-S և PHP ցուցանիշներով:

Հետազոտության սկզբում բոլոր մասնակիցներին ուսուցանել են բերանի խոռոչի հիգիենայի ճիշտ կառուցումը և անցկացվել է մասնագիտական հիգիենա [4]:

Աղյուսակ 1

Երիտասարդների բաշխումը ըստ ատամնամածուկների օգտագործման

Խումբ	Մասնակիցների թիվը	Ատամնամածուկի մոդել, N	Ատամնամածուկի ակտիվ բաղադրիչները
A	25	1	եղեսպակ, երիցուկ, քրթնջախտո դեղատնային, ամանուխ, հղկող մյուր՝ դեհիդրատացված սիլիցիումի երկօքսիդ
B	25	2	քլորֆիլ, կարոտին, կարոտինոիդներ, վիտամիններ C և D, հղկող մյուր՝ կալցիումի կարբոնատ և սիլիցիումի երկօքսիդ
C	10	3(հսկիչ)	հիգիենիկ ատամնամածուկ առանց ակտիվ բաղադրիչների, հղկող մյուր՝ դիկալցիֆոսֆատ
D	25	4	0.2% քլորհեքսիդին, հղկող մյուր՝ սիլիցիումի երկօքսիդ
E	25	5	0.2% հիդրոքսիապատիտ, հղկող մյուր՝ սիլիցիումի երկօքսիդ
F	10	6(հսկիչ)	հիգիենիկ ատամնամածուկ առանց ակտիվ բաղադրիչների, հղկող մյուր՝ սիլիցիումի երկօքսիդ

Երեխաների բաշխումը ըստ ատամնամածուկների օգտագործման

Խումբ	Մասնակիցների թիվը	Ատամնամածուկի մոդել N	Ատամնամածուկի ակտիվ բաղադրիչները
K	30	7	Մատրիումի ֆլյուորիդ, եռմատրիումֆոսֆատ, հղկող նյութ՝ դեհիդրատացված սիլիցիումի երկօքսիդ
L	30	8	0.2% մատրիումի ֆտորիդ, 0.2% հիդրոքսիապատիտ, եղկող նյութ՝ դեհիդրատացված սիլիցիումի երկօքսիդ
M	20	9(հսկիչ)	հիգիենիկ ատամնամածուկ առանց ակտիվ բաղադրիչների, հղկող նյութ՝ դիկայցիֆոսֆատ

Հետազոտության մասնակիցները ըստ կանխարգելիչ նյութերի օգտագործման բաժանվել են խմբերի (աղ. 1,2):

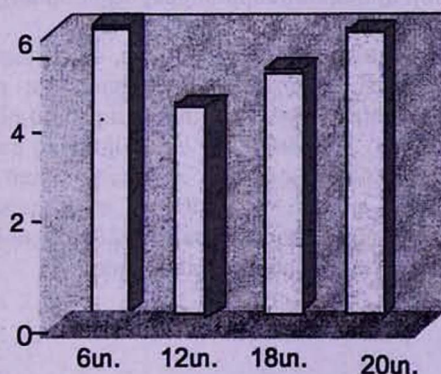
Երկու ամսվա ընթացքում A և B խմբերի մասնակիցները օգտագործել են ատամնամածուկներ, որոնք պարունակում էին տարբեր դեղաբույսերի հավաքածուներ, D և E խմբերի մասնակիցները օգտագործել են տարբեր դեղամիջոցներով ատամնամածուկներ: Դպրոցականները 6 ամսվա ընթացքում օգտագործել են տարբեր հակակարիոգ բաղադրիչներով (K, L) ատամնամածուկներ:

Համապատասխան հսկիչ խմբերում օգտագործվել են մոլյուստիպ ատամնամածուկներ առանց կենսաբանական ակտիվ նյութերի:

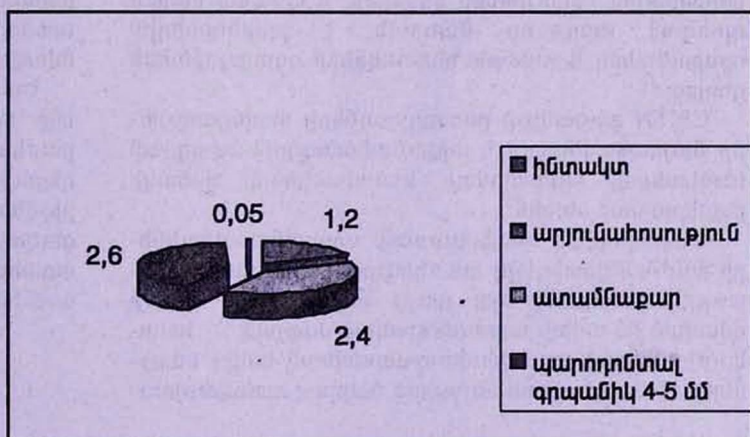
մությունը 6 տարեկան երեխաների մոտ կազմում էր՝ 5.83, 12 տարեկանների մոտ՝ 4.3, 18 տարեկանների մոտ՝ 4.9, 20 տարեկանների մոտ՝ 5.8: Կարիեսի տարածվածությունը հասնում էր 98%: Պարոդոնտի հյուսվածքների վիճակը երեխաների մոտ՝ ըստ Parma PMA ցուցանիշի, համապատասխանում էր 6 տարեկանների մոտ «թեթև գինգիվիտ» չափանիշին, 12 տարեկանների մոտ՝ «թեթև և միջին աստիճանի գինգիվիտ»-ի (25-52%), 18-20 տարեկան պարոդոնտի հյուսվածքների վիճակը՝ ըստ PMA ցուցանիշի համապատասխանում էր «թեթև գինգիվիտ», ըստ GI ցուցանիշի՝ «միջին ծանրության գինգիվիտ»-ի: CPITN ցուցանիշի համաձայն պարոդոնտի հյուսվածքների ախտահարումները հասնում էին 100%, ինտակտ սերատանտների քանակությունը տատանվում էր 0.9-1.2, արյունահոսությունը սերատանտների թիվը՝ 1.8-2.4, ատամնաքարերով սերատանտների թիվը՝ 2.2-2.6, 4-5 մմ պարոդոնտալ գրպանիկներով սերատանտների քանակը՝ 0.05(մկ. 1,2):

Աղյուսակները և նրանց քննարկումը

Հետազոտության սկզբում կարիեսի հաճախակա-



Նկար 1. Կարիեսի հաճախականությունը



Նկար 2. Պարոդոնտի հյուսվածքների ախտահարումները

Բերանի խոռոչի հիգիենայի ելակետային վիճակը ըստ Գրին-Վերմիլիտնի ցուցանիշի համապատասխանում էր «քավարար» մակարդակին (1.78-2.01), իսկ ըստ Phosphadley PHP ցուցանիշի համապատասխանում էր «ամբարավարար» մակարդակին (3.2-3.4):

Այսպիսով, ելակետային ստոմատոլոգիական հետազոտության տվյալները վկայում էին երեխաների և երիտասարդների ատամների կարիեսի և պարոդոնտի հիվանդությունների բարձր տարածվածության մասին, ընդ որում նկատվում էր հիվանդությունների ինտենսիվության բարձրացում և բերանի խոռոչի հիգիենայի վիճակի վատացում տարիքի հետ:

Հակաբորբոքային ատամնամածուկների օգտագործման արդյունքները ցույց տվեցին, որ տարբեր դեղաբույսերի համալիր պարունակությամբ մածուկների մաքրող հատկությունները ավելի բարձր են, քան բուժական բաղադրիչներով մածուկներին՝ ի հաշիվ դեղաբույսերի արտահայտված ազդեցությանը ատամնափառի մանրէների կենսունակության վրա: Դեղաբույսերով մածուկների երկու ամսվա օգտագործման ընթացքում նրանց մաքրող արդյունավետությունը կազմեց 45.6%:

Բուժիչ բաղադրամասերով ատամնամածուկների մեջ առավել բարձր մաքրող հատկություններով էր օժտված քլորհեքսիդինի 0.2% լուծույթ պարունակող ատամնամածուկը, որի մաքրման արդյունավետությունը հասնում էր 40.2%-ի: Բացի այդ պարզվեց, որ բոլոր հետազոտված ատամնամածուկները, անկախ պարունակող կենսաբանական ակտիվ նյութերից, ունեն դրական ազդեցություն պարոդոնտի հյուսվածքների վրա: Դեղաբույսերով ատամնամածուկների օգտագործման արդյունքում բորբոքային երևույթների արտահայտվածությունը իջավ մինչև 55.7%: Դեղամիջոցներով ատամնամածուկների օգտագործման ժամանակ մույնպես դիտվում էր բորբոքային երևույթների նվազում, և առավել բարձր դրական արդյունք նկատվել է քլորհեքսիդին պարունակող ատամնամածուկների օգտագործման դեպքում:

CPITN ցուցանիշի բաղադրյալների փոփոխությունը մույնպես խոսում է արյունահոսության նվազման հետևանքով պարոդոնտի հյուսվածքների վիճակի բարելավման մասին:

Հակակարիոգ ազդեցությամբ ատամնամածուկների բուժ-կանխարգելիչ հատկությունների ուսումնասիրության արդյունքները ցույց տվեցին, որ նրանք օժտված են ավելի արտահայտված մաքրող հատկություններով, քան համապատասխան հսկիչ մուշ-ները: Առավել արտահայտված մաքրող հատկություն-

ներ ունեն մատրիումի ֆտորիդ և հիդրօքսիապատիտ պարունակող ատամնամածուկը, որի մաքրող հատկությունը 6 ամիսների ընթացքում հասնում է 37.8%-ի [1]:

Հակակարիոգ ազդեցությամբ ատամնամածուկի օգտագործումը 6 ամսվա ընթացքում բերել է կարիեսի հաճախականության հավաստի իջեցմանը, ապակրակալման օջախների չափսերի փոփոխությանը, որը վկայում է ռեմիներալիզացման պրոցեսների ակտիվացման մասին:

Հիգիենիկ և պարոդոնտալ ցուցանիշների տեղեկատվականության տարբերությունը պայմանավորված էր ինչպես պարոդոնտի հյուսվածքների և բերանի խոռոչի հիգիենայի ելակետային վիճակի մակարդակի, այնպես էլ կանխարգելման միջոցների կլինիկական արդյունավետության գնահատման տարբերությամբ:

Կանխարգելիչ միջոցառումների անցկացումը նպաստում էր հիգիենիկ ցուցանիշների հավաստի իջեցմանը, բայց ոչ միշտ էր բերում գնահատման չափանիշների փոփոխմանը:

Այսպիսով, հետազոտությունը ի հայտ բերեց ատամների կարիեսի բարձր հաճախականություն հետազոտվածների բոլոր խմբերում, որը տարիքի հետ բարձրանում էր: Պարոդոնտի հիվանդությունների տարածվածությունը հասնում էր 100%, ախտահարման հաճախականությունը կազմել էր արյունահոսությամբ՝ 1.8-2.4, ատամնաքայտով՝ 2.2-2.6 սեքստանտ: Բերանի խոռոչի հիգիենայի վիճակը ամբարավար էր ինչպես երեխաների, այնպես և երիտասարդների մոտ:

Հակակարիոգ ատամնամածուկների գործածումը բերում է սկզբնական կարիեսի հաճախականության իջեցմանը, կենսաբանական ակտիվ նյութեր պարունակող ատամնամածուկների գործածումը բարելավում է բերանի խոռոչի հիգիենան և նպաստում պարոդոնտի հյուսվածքների բորբոքային երևույթների նվազեցմանը:

Ելնելով ստացված արդյունքներից, մենք խորհուրդ ենք տալիս երիտասարդներին օգտագործել որպես բուժ-կանխարգելիչ միջոցներ հակաբորբոքային ազդեցությամբ, իսկ երեխաներին՝ հակակարիոգ բաղադրիչներով ատամնամածուկներ: Օգտագործված բոլոր ցուցանիշները կարելի է խորհուրդ տալ գործածել ստոմատոլոգիական հետազոտությունների անցկացման համար տարիքային տարբեր խմբերում:

Поступила 12.01.04

Результаты использования профилактических средств стоматологических заболеваний

М.М.Маркарян, И.Ф.Варданян

В статье авторы обсуждают данные стоматологического обследования, включающего сопоставление информативности различных индексов гигиены полости рта и забо-

леваний пародонта, а также результаты профилактического воздействия некоторых зубных паст и оценивают их эффективность.

The results of using preventive means of stomatological diseases

M.M.Markarian, I.F.Vardanian

In the article the authors discuss the results of stomatological clinical study of various oral hygiene and periodontal indices and the results of preventive influence of

various kinds of tooth paste, and evaluate their effectiveness.

Գրականություն

1. Козичева Т.А., Васина С.А., Беля В.Н. Информативность индексов гигиены полости рта при применении средств профилактики, Международная научно-практическая конференция «Новые технологии в стоматологии», М., 1998, с. 14.
2. Федоров Ю.А., Дрожжина В.А. и соавт.

3. Колесник А.Г. Стоматология для всех, 1998, 2(3), с. 23.
4. Хохрина Т.Г. Клиническая стоматология, с. 14.

Стоматология детского возраста и профилактика, М., 2002, 1-2, с. 12.

Методологические подходы к решению проблемы организационного строительства военно-медицинской службы

А.В. Казарян, А.Р. Григорян, К.М. Атоян

Военно-медицинский факультет ЕРГМУ им. М. Герац

370025, Ереван, ул. Корюна, 2

Для того чтобы реформа медицинской службы Вооруженных Сил (ВС) была эффективной, необходима, на наш взгляд, выработка ее методологии. Первоначальным этапом строительства медицинской службы ВС является разработка существующей проблемной ситуации и создание модели проблемно-разрешимой системы. Исходя из этого, строительство медицинской службы ВС должно основываться на общих подходах и принципах строительства ВС, которые, в свою очередь, формируются на основе военной доктрины государства.

Для выявления закономерностей строительства военно-медицинской службы необходимо опираться на собственный исторический опыт, характер возможных войн и господствующие тенденции в развитии службы в других странах.

Так как наибольшую угрозу стабильности в ближайшем будущем представляют локальные войны и вооруженные конфликты, в строительстве медицинской службы прежде всего следует исходить из решения задач этих конфликтов. В то же время среди вероятных сценариев развития событий нельзя полностью исключать и широкомасштабные войны. Основной задачей военного строительства является создание высокоподготовленных и хорошо оснащенных ВС, отвечающих современным требованиям. Не вызывает сомнений, что и медицинская служба ВС должна отвечать этим требованиям.

Таким образом, реформирование медицинской службы ВС должно проводиться только в общей системе мероприятий военного строительства. Основным содержанием этой работы является формирование облика медицинской службы, под которым следует понимать перспективную структуру, состав и численность, а также основные показатели деятельности службы (эффективное использование сил и средств в различных видах повседневной и боевой деятельности, уровень боевой и мобилизационной готовности, техническая оснащенность и др.).

Охватываемый круг вопросов характеризуется чрезвычайным многообразием и взаимообусловленностью связей как внутри каждой задачи, так и на уровне внешних связей, в совокупности составляющих одну систему, именуемую медицинским обеспечением.

Эта система исключительно сложна, имеет разнообразные проявления и требует проведения широко-масштабных исследований. Цель этих исследований заключается в расширении научных знаний о процессах и закономерностях, влияющих на организацию медицинского обеспечения в различных условиях деятельности, и поиске путей разработки и прогнозирования эффективных экономических и практически реализуемых способов и методов медицинского обеспечения.

Накопленный опыт исследований показывает, что такая проработка данной проблемы требует комплексного подхода. Стремление к решению вопросов в каком-то одном направлении (сфере) без одновременного решения общих вопросов может привести к нежелательным результатам. К примеру, при совершенствовании организационной структуры войскового звена медицинской службы необходимо изучение вопросов оказания медицинской помощи не только в этом звене, но и на всех этапах медицинской эвакуации, начиная с поля боя и заканчивая тылом страны.

Такой подход созвучен с разрабатываемым сейчас военными специалистами некоторых государств новым научным направлением – военной системологией, являющейся относительно самостоятельной предметной областью науки о методах системного исследования окружающих нас объектов как объединенное единым замыслом учение о материальных и конкретных системах различного назначения, которое направлено на достижение более глубокого и целостного познания происходящих в мире процессов, выявление присущих им закономерностей использования их для создания более совершенных систем.

Системология в военной медицине должна вооружить специалистов глубоко осознанным пониманием необходимости единого системологического подхода к решению всего многообразия задач и проблем, возникающих в их практической деятельности на различных этапах формирования и функционирования системы медицинского обеспечения, а также направлять усилия исследователей на опережающее развитие теории и упреждающую разработку предложений по совершенствованию медицинского обеспечения. Признание системологии в военной медицине в качестве

методологии инструмента и технологии исследований будет зависеть, на наш взгляд, от того, насколько широко и активно она начнет использовать и другие науки, в том числе военные, экономические, общественные.

Результаты исследований последних лет и события наших дней свидетельствуют, что достижение успехов в военно-медицинском строительстве невозможно без разработки и последовательного проведения единой государственной политики в области охраны здоровья, без создания и претворения в жизнь единой системы взаимосогласованных и всесторонне взвешенных мер экономического, организационного, военного характера, адекватных потребностям военной медицины.

Объективно оценивая возможности системологии в области строительства медицинской службы в целом, следует признать, что она в настоящее время находится на начальном этапе своего становления. Формируемые на ее основе направления исследований на нынешнем этапе, как правило, имеют описательный (вербальный) характер и чаще всего реализуют системный подход только на морфологическом уровне, т. е. ограничиваются изучением состава анализируемых медицинских систем (подсистем) и взаимосвязей их основных элементов. В перспективе возможно решение задачи ее последовательного перевода на структурно-функциональный и информационный уровни.

Анализируя перспективы формирования системологии в строительстве медицинской службы, важно определить ее предмет через объект, аспект, метод и цель исследования.

Основным объектом исследования являются сложные концептуальные и материальные системы (подсистемы) в различных сферах военной деятельности, имеющие отношение к вопросам охраны здоровья.

Основной аспект исследования – структурно-функциональный (в перспективе – информационный), предусматривающий изучение структуры системы медицинского обеспечения, взаимосвязей и взаимозависимостей ее элементов, процессов функционирования в различных условиях.

Основной метод исследования – моделирование анализируемых процессов медицинского обеспечения с целью выявления присущих им свойств и закономерностей.

Основная цель исследования – повышение эффективности системы медицинского обеспечения на основе рационального использования ее свойств и закономерностей.

Сущность и основное содержание системологического подхода в военной медицине к объектам исследования, на наш взгляд, заключаются в следующем: последовательное рассмотрение проблемной ситуации как процесса функционирования сложных военно-

медицинских систем; изучение их состава, структуры, взаимосвязей (взаимодействий) между входящими в их состав подсистемами; процессы функционирования системы в целом.

С позиций военной системологии медицинское обеспечение приобрело выраженные черты сложного процесса взаимодействия между другими системами (службами, родами войск и др.) – внешнее взаимодействие и с родственными подсистемами (лечебно-эвакуационное обеспечение, санитарный надзор, обеспечение медицинским имуществом) – внутреннее взаимодействие. При этом под медицинскими системами (подсистемами) понимаются целостные образования, созданные (создаваемые) для решения определенного круга задач путем организации взаимодействия, установления необходимых взаимосвязей и взаимозависимостей между входящими в их состав элементами. Анализ и обобщение проведенных исследований в этом направлении позволяет выделить присущие медицинским системам функциональные свойства: интеллект, организованность, управляемость, специфичность, возможности, устойчивость. В общем виде эти свойства могут быть охарактеризованы следующим образом:

интеллект – способность принимать обоснованное решение на использование своих подсистем для организации медицинского обеспечения;

организованность – способность наиболее полно реализовывать возможности своих подсистем за счет целесообразной организации работы, взаимодействия и обеспечения, создания группировок сил и средств медицинской службы и др.;

управляемость – способность ставить задачи подчиненным подразделениям, частям и учреждениям в соответствии с принятым решением на их применение и осуществлять управление ими;

специфичность – способность выполнять свойственные задачи с учетом их специфики;

возможности – способность решать поставленные задачи, определяемые степенью достижения их заданного уровня (объема работы);

устойчивость – способность сохранять и реализовывать свои возможности при выполнении поставленных задач в тех или иных условиях.

Следует отметить, что выявление и изучение функциональных свойств системы значительно увеличивает возможности изучения анализируемых процессов, позволяет более полно исследовать факторы, определяющие эффективность медицинского обеспечения. Не вызывает сомнений, что эти свойства могут и должны изучаться и при использовании традиционных подходов и системологического подхода. Однако возможности этих подходов разные. Некоторые авторы сравнивают их с возможностями оптических линз с различной разрешающей способностью, имея в виду

Сравнительный анализ методологических подходов к изучению системы медицинского обеспечения

Критерии (параметры)	Решение в рамках избранного методологического подхода	
	традиционного	системологического
Объект исследования	подразделения, части, учреждения медицинской службы, их состав, структура, формы и способы действий	медицинские системы (подсистемы), их состав, структура, функционирование
Метод познания	познание целого через части	познание частей на основании целого и целостности
Изучение свойств и их определение	возможности подразделений, частей и учреждений медицинской службы, входящих в состав соединений	функциональные свойства медицинских систем
Метод исследования	исторический, сравнительный, экспериментальный и некоторые другие	системный анализ процессов медицинского обеспечения и эволюционный синтез
Критерии эффективности	разработаны по отдельным показателям	функциональные критерии медицинской системы, определяемые как вероятность их перевода в соответствующее функциональное состояние
Технология исследований	оперативно-тактические расчеты	разработка научно обоснованных нормативов и стандартов

то обстоятельство, что возможности системологии несравнимо выше. Из приведенной таблицы следует, что эти возможности возрастают за счет соответствующего выбора: объекта исследования, метода исследования, типа используемых моделей, разработки функциональных критериев эффективности и т.д.

Основной целью системологического подхода в военной медицине является исследование современной системы медицинского обеспечения. На основе системного анализа процессов медицинского обеспечения могут изучаться состав и структура медицинских систем (подсистем), их функциональные свойства, определяться критерии, характеризующие эффективность системы медицинского обеспечения (в частности подсистема управления, лечебно-эвакуационные и противозидемические мероприятия, санитарный надзор, обеспечение медицинским имуществом).

При изучении закономерностей медицинского обеспечения возникает целесообразность проведения системологического анализа закономерностей развития армии и вооруженной борьбы, новых технологий в производстве вооружений, системы медицинского обеспечения в современных условиях, новых задач, стоящих перед медицинской службой и способов их решения и др. При этом термин "системологический" применительно к анализу свидетельствует о необходимости проследить взаимосвязь процессов, происходящих в системах различной природы и назначения, и определить направления их дальнейшего развития.

Исходя из перечисленных особенностей системологического

подхода к проблемам строительства медицинской службы, следует отметить, что его реализация связана прежде всего с разработкой инструмента, способного адекватно моделировать анализируемые процессы функционирования системы медицинского обеспечения в различных условиях с целью познания свойственных им закономерностей в интересах ее дальнейшего совершенствования и развития. Например, медицинское обеспечение войск в современных операциях с позиций военной системологии предстает как процесс взаимодействия сложных динамических систем. В результате действий противоборствующих сторон, оценка результата которых сама по себе является чрезвычайно сложной и требует учета очень многих факторов, оказывается разностороннее влияние на деятельность медицинской службы. Получаемая при этом информация служит в дальнейшем основой для выработки наиболее целесообразных решений на применение подразделений, частей и учреждений медицинской службы, создания необходимых группировок медицинской службы, планирования их работы, осуществления маневра и других задач.

Реализация идей и методов военной системологии позволяет разработать действенный инструмент решения проблем, возникающих в процессе реформирования медицинской службы, надежные методы прогнозирования последствий принимаемых решений. Использование их возможностей позволит своевременно выявить недостатки решений, обратить внимание на необходимость комплексной и взаимосвязан-

ной разработки проблем реформирования медицинской службы с единых методологических позиций, избежать бессистемности и разобщенности в осуществлении преобразований.

Предварительные результаты системологического анализа позволяют выделить следующие основные составляющие процессов строительства (реорганизации) медицинской службы: 1. Разработка теории строительства медицинской службы. 2. Необходимость разработки концепции строительства. 3. Разработка методики организационного проектирования организационно-штатных структур медицинской службы.

Таким образом, военно-медицинскую службу нужно видеть неразрывно связанной с ВС, образующими одну систему, – Вооруженные Силы – военно-медицинская служба. Строительство медицинской службы может осуществляться только в рамках ВС в соответствии с их организацией, задачами и условиями деятельности. При этом важно добиться, чтобы оно проводилось не за счет того, что осталось, т.е. “по остаточному принципу”, а параллельно с учетом целесообразности.

Поступила 25.02.03

Զորքերում սուր վիրուսային հեպատիտների հիմնահարցը պատերազմների ժամանակ

Գ.Ա. Աղայան, Ս.Գ. Գալստյան, Կ.Կ. Հայրապետյան, Ն.Լ. Առաքելյան, Գ.Ա. Ղուկասյան

ՀՀ ՊՆ Ռազմաբժշկական վարչություն

375075 Երևան, Մուրացանի 113

Բանալի բառեր. պատերազմ, պաշտպանություն, հարձակում, վարակիչ հիվանդություններ, համաճարակներ, վիրուսային հեպատիտներ, զինծառայողներ

Սուր վիրուսային հեպատիտները (A, B, C, D և այլն) վարակիչ հիվանդություններ են, որոնք վտանգավոր են սուր շրջանում և հատկապես այն դեպքերում, երբ դիտվում է ախտաբանական պրոցեսի քրոնիզացում: Դրանք տարբեր էթիոլոգիայի առանձին ինքնուրույն հիվանդություններ են, ունեն փոխանցման տարբեր ուղիներ և հետևաբար մաս առանձին համաճարակաբանական նշանակություն [5]: Համաճարակաբանական տեսակետից առավել վտանգավոր են ֆեկալ-օրալ և օդակաթիլային ճանապարհով տարածվող տեսակները (A, E): Սակայն պետք է հաշվի առնել, որ պատերազմական գործողությունների արտակարգ պայմաններում առանձին վարակիչ հիվանդություններ (հեպատիտ A) կարող են տարածվել մաս բուն հիվանդությանը ոչ բնորոշ ուղիներով:

Ընդհանրապես պատերազմների պատմության ուսումնասիրությունը ցույց է տալիս, որ դրանք գրեթե մշտապես ուղեկցվել են վիրուսային հեպատիտների աշխուժացմամբ: Այս տեսակետից բացառություն չի եղել մաս երկրորդ համաշխարհային պատերազմը: Ըստ գրականության տվյալների, 1941թ. Սևաստոպոլի մարտերին մասնակցելու համար Ղրիմ ուղարկված զերմանական լեռնահրաձգային դիվիզիայի անձնակազմի 60%-ը հիվանդացել է հեպատիտ A-ով [5,6]:

Աղյուսակ 1

**ԱՄՆ-ի զորքերում Միջերկրական ծովի
ռազմաճակատում վիրուսային հեպատիտ A-ի
դեպքերը 1942-1945թթ.
(անձնակազմի թիվը մոտ 400000)**

Տարիներ	Դեպքերի քանակը	
	բացարձակ թվեր	անձնակազմի 1000 մարդու հանդեպ
1942	49111	122,7
1943	27433	68,6
1945	76595	191,5

Երկրորդ համաշխարհային պատերազմի ժամանակ Միջերկրական ծովի ռազմաճակատում տեղակայված ԱՄՆ-ի զորքերում արձանագրվել է վիրուսային հեպատիտի տեսակետից բավականին բարդ իրավիճակ, ինչի մասին են վկայում աղ. 1-ում ներկայացված տվյալները [4]:

Գրականության արդյունքները [4] վկայում են, որ Կորեայում գտնվող Միացյալ Նահանգների Էքսպեդիցիոն կորպուսում համաճարակային իրավիճակը վիրուսային հեպատիտ A-ի տեսակետից մոյմպես եղել է ոչ բավարար (աղ. 2), իսկ 1965-1967 թթ. վիետնամական պատերազմի տարիներին այն զգալի չափով բարելավվել է (աղ. 3):

Աղյուսակ 2

**1950-1951թթ. Կորեայում պատերազմող ԱՄՆ-ի
զորքերում վիրուսային հեպատիտ A-ի դեպքերը**

Տարիներ	Դեպքերի քանակը	
	բացարձակ թվեր	անձնակազմի 1000 մկատմամբ
Հուլիս 1950	4000	4,0
Նոյեմբեր 1950	31000	31,0
Հունվար 1951	35000	35,0
Օգոստոս 1951	15000	15,0
Մեպտեմբեր 1951	9500	9,5

Կորեայում ԱՄՆ-ի զորքերում վիրուսային հեպատիտ A-ով հիվանդացության բարձր մակարդակը պայմանավորված է եղել տեղի հիվանդ կամ վարակակիր բնակչության հետ շփվելու հանգամանքով: Հետաքրքրական է, որ այդ մույն տարիներին ԱՄՆ-ի տարածքում վիրուսային հեպատիտ A-ի հիվանդացությունը եղել է զգալիորեն ցածր:

Աղյուսակ 3

1965-1967թթ. Վիետնամում պատերազմող
ԱՄՆ-ի զորքերում վիրուսային հեպատիտ A-ի
դեպքերը (1000 մարդու նկատմամբ)

Տարիներ	Դեպքերի քանակը		
	Հարավային Վիետնամ	Եվրոպա	ԱՄՆ
1965	5,7	0,4	0,5
1966	4,1	0,5	0,6
1967 (հունվար-հունիս)	6,7	0,3	0,9

Ըստ ռուսական աղբյուրների 1996թ-ին Ռ-Դ Չեչնիայում գտնվող զորքերում վարակիչ հիվանդությունների մեջ գերակշռել են աղիքային վարակները (95%): Ընդ որում, դրանց 53,2%-ը կազմել են վիրուսային հեպատիտները և փաստորեն էականորեն գերազանցել են շիզոֆրենիան (26,7%) և էնտերոկոլիտներին (20,1%) [1]:

Գրականության տվյալների ուսումնասիրությունը քույլ է տալիս եզրակացնելու, որ վիրուսային հեպատիտների ախտորոշումը լյարդի ախտահարմամբ ընթացող վարակիչ հիվանդությունների շարքում ունի առանցքային նշանակություն: Չնայած ներկայումս գոյություն ունեն լյարդի ֆունկցիոնալ վիճակը գնահատող բազմաթիվ թեստեր, այնուհանդերձ վիրուսային հեպատիտների ախտորոշման մոտ ամենաբացահայտված մեթոդները և հիմնականում ժամանակակից բժշկության արդիական խնդիրներն են [2]:

Մի շարք հեղինակներ [1] գտնում են, որ զորքերում վիրուսային հեպատիտների վերջնական ախտորոշման համար կիրառվող ավանդական կլինիկական-լեզնաքննական հետազոտության մեթոդները ներկայումս իրենց լիարժեքորեն չեն արդարացնում: Ուսումնասիրելով Խանկալայում (Չեչնիա) տեղակայված բժշկական վաշտի ինֆեկցիոն բաժանմունքից և Վլադիկավկազի զինվորական հոսպիտալից ստացված տվյալները 1995 թ. փետրվար - դեկտեմբեր ժամանակահատվածում, զորքերում վիրուսային հեպատիտների տարբերակման համար առաջարկվել է ալգո-ռիթմ, որի հիմքում ընկած են սպեցիֆիկ շնամախտորոշիչ մեթոդներ՝ Իսրայելի «Organics» ֆիրմայի ռեսկ-տիվների օգտագործմամբ:

Վերը նշված թեստավորումը կիրառվել է Ռուսաստանի Դաշնության զինվորական տարբեր օկրուգներում, որի արդյունքում զինծառայողների շրջանում պարզաբանվել է վիրուսային հեպատիտների էթիոլոգիական կառուցվածքը (աղ. 4): Ըստ ստացված տվյալների Չեչնիայում տեղակայված Ռ-Դ զորամասերում առավելապես արձանագրվել է հեպատիտ A: Հատկանշական է, որ հեպատիտ E չի արձանագրվել, իսկ խառը վարակ եղել է հիվանդացածների 1%-ի մոտ: Պատկերը այլ է մյուս զինվորական օկրուգներում՝ ի հաշիվ հեպատիտ A-ի նվազեցման, հեպատիտ B-ով և խառը վարակներով հիվանդների թվի ավելացման:

Աղյուսակ 4

Ռ-Դ տարբեր օկրուգների զինծառայողների մոտ վիրուսային հեպատիտների էթիոլոգիական կառուցվածքը, (%)

Նոզոլոգիական ձևը և հիմնական մարկերը	Չեչնիայում	Հյուսիսարևմտյան զինվորական տարածաշրջան	Հարավային զինվորական տարածաշրջան
Հեպատիտ A (հակաHAV IgM)	86,1	64,9	63,9
Հեպատիտ B (հակաHBc IgM)	4,3	14,9	8,2
Հեպատիտ C (հակաHCV)	0,5	2,0	1,6
Հեպատիտ E (հակաHEV)	0	0,9	0
Խառը վարակ	1,0	13,7	16,5
Չտարբերակված հեպատիտ	8,1	3,6	9,8

Նույն հեղինակները նշում են, որ հիվանդացածների 82,4%-ը զորակոչված զինվորներ են, 17,6%-ը՝ սպաներ, ենթասպաներ: Հիվանդ զինվորների 68%-ը ծառայել էր 6-12 ամիս, մնացածները՝ մեկ տարի և ավելի, իսկ մոտ 97,7%-ը վարակվել է Չեչնիայում: Բնակության մախկին վայրի հետ կոռելյացիոն կապ չի հաստատվել, իսկ 19,2% դեպքերում հաստատվել է

որոշակի կապ մարտական գործողությունների բնույթի հետ: Կապվածություն չի հայտնաբերվել մահ բնակության ձևի (վրաններ, գետնատնակներ) հետ:

Վիրուսային հեպատիտների կանխարգելման համար ներկայումս բացի ընդհանուր սանիտարահիգիենիկ խնդիրներից գոյություն ունեն մահ խիստ արդյունավետ և գերծամանակակից իմունակայնաբար-

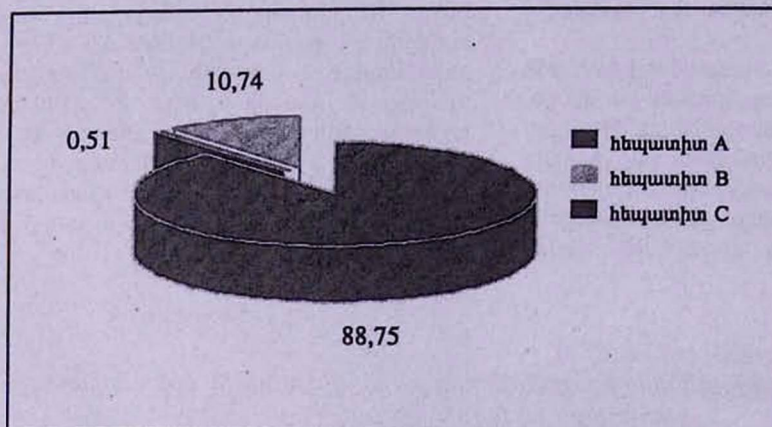
գելիչ մոր մեքենաներ: Վիրուսային հեպատիտների իմունակամիտարգելման համար մի շարք ֆիրմաներ /Մմիք Կլային Բիչեմ (Բելգիա), Պաստեր Միլիտ Կոնսոլ (Ֆրանսիա), Հավիլիս 720 և 1440, Մերկ Շարպ և Դոու (ԱՄՆ), Ավակսիմ, Էջերկս, Վագտա և այլն/ սինթետիկ են բավականին արդյունավետ պատվաստանյութեր:

Մեր կողմից Հայաստանում առաջին անգամ վիրուսային հեպատիտ A-ի կանխարգելման մպատակով օգտագործվել է Ամերիկյան «Վագտա» ֆիրմայի կողմից արտադրած պատվաստանյութը: 1999թ. օգոստոս ամսին զորամասերից մեկում նկատվեց հեպատիտ A-ի աշխուժացում: Չնայած ձեռնարկված ընդհանուր սանիտարահիգիենիկ և հակահամաճարակային միջոցառումներին հիվանդության դեպքերը շարունակվեցին արձանագրվել սեպտեմբեր-հոկտեմբեր ամիսներին: Համաճարակաբանական ցուցումով նոյեմբերի 10-ից սկսած կատարվեցին պատվաստումներ: Սա Հայաստանում վիրուսային հեպատիտ A-ի

դեմ պատվաստումների առաջին փորձն էր: Պատվաստումներում ընդգրկվեցին առանց բացառության բոլոր զինծառայողները (հակացուցում ունեցողների քանակը եղել է չափազանց փոքր): Պատվաստումներից 15 օր անց, երբ ստեղծվեց լարված իմուն շերտավորում, հիվանդացությունը միանգամից նվազեց և հետագա ամիսներին պատվաստվածների մեջ արձանագրվել է ընդամենը 3 դեպք՝ պատվաստում ստանալու 18-, 23- և 34-րդ օրերին: Բարենպաստ համաճարակաբանական իրադրությունը պահպանելու մպատակով 6 ամիս անց, մայիս ամսին, պատվաստվեցին բոլոր մոր ընդունված մորակոչիկները: Առ այսօր հիվանդության ոչ մի դեպք չի արձանագրվել:

Արդյունքը իրոք գոհացուցիչ էր:

ՀՀ ՁՈՒ 1997-2000 թթ. ժամանակահատվածում ըստ «Նորք» ինֆեկցիոն հիվանդանոցի տվյալների ստացիոնար բուժում են ստացել վիրուսային հեպատիտներով 391 հիվանդներ (վարակիչ հիվանդությունների 21,3%:



Նկար 1: Վիրուսային հեպատիտների կառուցվածքը ՀՀ ՁՈՒ 1997-2000թթ. ժամանակահատվածում (%):

Հաշվի առնելով հեպատիտ C-ի աննշան դերը ինֆեկցիոն հիվանդացության մեջ, մեր աշխատանքում հետագա վերլուծությունը կատարել ենք միայն հեպատիտ A-ի և հեպատիտ B-ի վերաբերյալ (աղ. 6):

Կիրառելով համակարգչային Microsoft Excel ծրագիրը որոշվել է հեպատիտ A-ի և հեպատիտ B-ի հիվանդացությունը (p) ու միջին սխալը (m), դրանք համեմատվել են ստորև բերված բանաձևերով՝

$$p = \frac{nx1000}{60000} \quad (1)$$

որտեղ n – դիտարկումների թիվն է, 60000-ը հետազոտության ժամանակահատվածում բանակի անձնակազմի միջին թվաքանակը,

$$m = \sqrt{\frac{p \cdot (100 - p)}{n}} \quad (2)$$

որտեղ m – միջին սխալն է, p – հետազոտության ժամանակ ստացված ցուցանիշը, n – դիտարկումների թիվը:

Ստացված արդյունքների հավաստիությունը գնահատվել է Ստյուդենտի զործակցի օգնությամբ հետևյալ բանաձևով՝

$$t = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{m_1^2 + m_2^2}}$$

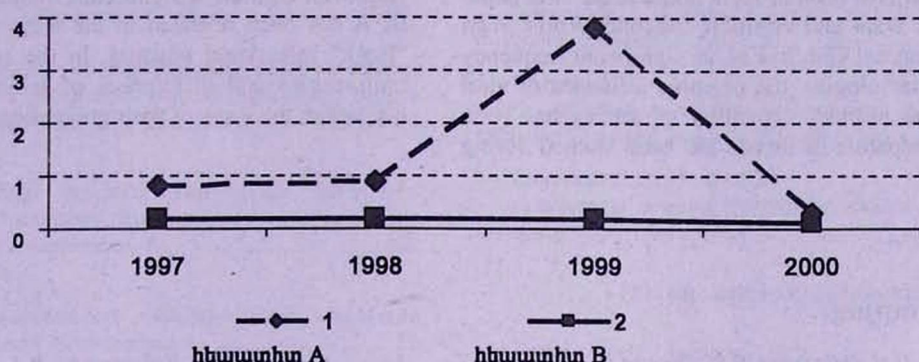
Արդյունքները ցույց են տալիս, որ հետազոտության ողջ ժամանակահատվածում միշտ էլ գերակշռել է հեպատիտ A-ն: Ընդ որում, 1999 թվականին 1997թ և 1998թ համեմատությամբ դիտվում է հեպատիտ A-ի վիճակագրորեն հավաստի աճ, իսկ 2000թ հիվանդացությունը կտրուկ նվազում է: Նման պատկերն, ըստ մեզ, կարելի է բացատրել հեպատիտ A-ի համաճարակով N զորամասում և դրա հետ կապված հակահամաճարակային միջոցառումների կատարմամբ:

Հեպատիտներով հիվանդացությունը ՀՀ ՁՈՒ-ում

Նոգոլոգիական ձև	Տարիներ			
	1997	1998	1999	2000
	$P \pm m$	$P \pm m$	$P \pm m$	$P \pm m$
Հեպատիտ A	$0,8 \pm 0,04$	$0,9 \pm 0,04$	$3,8 \pm 0,08$	$0,3 \pm 0,02$
Հեպատիտ B	$0,2 \pm 0,02$	$0,2 \pm 0,02$	$0,2 \pm 0,02$	$0,1 \pm 0,01$

2000թ դիտվում է հեպատիտ B-ի հիվանդացության հավաստի իջեցում: Հեպատիտների շարժը ներկայացված է նկար 2-ում: Պարզ երևում է, որ ՀՀ ՁՈՒ հեպատիտների հիվանդացությունը, բացի 1999թ,

կայուն է և առանձնահատուկ փոփոխությունների չի ենթարկվում: Նման պատկերը վկայում է կատարվող սանիտարահիգիենիկ և հակահամաճարակային միջոցառումների արդյունավետության մասին:



Նկար 2: ՀՀ զինված ուժերում հեպատիտներով հիվանդացության շարժը 1997-2000 թթ ժամանակահատվածում

Ախտորոշումը կատարվել է կլինիկորեն, լաբորատոր մեթոդներով, որոնց մեջ խիստ կարևոր են իմունաֆերմենտային քննությունները:

Հեպատիտ A-ով հիվանդների շրջանում ծանր դեպքեր համդիպել են խիստ հազվադեպ: Արձանագրվել է յարդային կոմա հեպատիտ B-ով մեկ հիվանդի մոտ:

Բուժումը կատարվել է դեզինտոքսիկացիոն, ֆերմենտային պատրաստուկներով, ախտանշանային և այլն:

Ելնելով վերը նշվածից կարելի է կատարել հետևյալ եզրակացությունները՝

1. հեպատիտները ՀՀ զինված ուժերի ինֆեկցիոն

հիվանդացության մեջ բավականին մեծ թիվ են կազմում,

2. հեպատիտներով հիվանդացությունը հիմնականում պայմանավորված է հեպատիտ A-ով, քիչ դեպքերում նաև հեպատիտ B-ով,

3. սանիտարակախարգելիչ և հակահամաճարակային միջոցառումների լիարժեք կատարումը նպաստում է հեպատիտներով հիվանդացության իջեցմանը,

4. հեպատիտ A-ի կանխարգելման լավագույն եղանակն է համարվում իմունակախարգելիչ մեթոդը՝ պատվաստումների միջոցով:

Поступила 26.11.03

О проблеме острых вирусных гепатитов в войсках во время войн

Г.А. Агаян, С.Г. Галстян, К.К. Айрапетян, Н.Л. Аракелян, Г.А. Гукасян

Приведены различные сведения об острых вирусных гепатитах при различных войнах и сражениях (вторая мировая, корейская, вьетнамская, чеченская), показана их значительная частота среди инфекционной патологии, обосновано отрицательное влияние вирусных гепатитов на боеспособность войск. Изучены вирусные гепатиты во время карабахского кон-

фликта, доказана значительная частота вирусного гепатита А среди военнослужащих, по материалам инфекционной больницы «Норк», установлены закономерности и отличия инфекционных гепатитов в ВС РА и необходимые мероприятия по снижению заболеваемости.

On the of problem of acute viral hepatitis in troops during wars

G.A. Agayan, S.G. Galstyan, K.K. Hayrapetyan, N.L. Arakelyan, G.A. Gukasyan

Several data have been brought about acute viral hepatitis in various wars and conflicts (Second World War, Korean, Vietnamese, Chechen's), its significant frequency in infectious pathologies, the negative influence of viral hepatitis on the military capability of armies has been proven. Viral hepatitis incidence has been studied during

Karabakh conflict, a significant frequency of viral hepatitis A has been revealed in the army by the materials of "Nork" infectious hospital. In the armed forces of RA uniformities and differences of infectious hepatitis are discussed, the ways of their prevention are analyzed.

Գրականություն

1. Огарков П.И., Малышев В.В., Цуциев С.А., Михайлов Н.В. Военно-мед. ж., 1996, т. 8, с. 48.
2. Новиков Д.А., Провоторов В.Я., Хабаров А.А., Ульянов В. О. и др. ВМЖ, 2000, т. VI, с. 65.
3. Соринсон С.Н. Вирусные гепатиты в клинической практике. СПб, 1996.
4. Смирнов Е.И., Лебединский В.А., Гарин Н.С. Войны и эпидемии. М., 1988.
5. Хазанов А.И. Об острых вирусных гепатитах, ВМЖ, 1996, т. II, с. 45.
6. Handtoser S. Innere Wehrmedizin. Dresden: Leipzig: Th. Steinkopf, 1944.

Содержание

Оганов Р.Г., Масленникова Г.Я.

Сердечно-сосудистые заболевания в России и возможности их профилактики..... 3

Обзорные статьи

Гамбаров С.С., Акопян А.В., Арутюнян С.С., Кцоян Л.А., Захарян А.С., Габриелян А.Р.

Нейроиммунные взаимоотношения при бронхиальной астме..... 10

Теоретическая медицина

Галоян А.А., Саакян Л.А., Чалян С.Г., Карамян В.Т.

Цереброваскулярная активность гипоталамического дипептида аргинилфенилаланин..... 14

Соцкий О.П., Карапетян В.А., Лорян И.Ж., Жамгарян Л.Г.

Влияние длительной гипокинезии на уровень катехоламинов, серотонина и активность митохондриальной сукцинатдегидрогеназы миокарда и печени белых крыс..... 21

Манукян А.А.

Гемореологические аспекты нарушений мозгового кровообращения в условиях гипокинезии и их коррекция ГАМК-миметиками и витамином Е..... 27

Лорян И.Ж.

Связывающая способность сывороточного альбумина в условиях длительной гипокинезии..... 39

Симонян Р.М., Симонян Г.М., Бабалян М.А., Симонян М.А.

Х-облучение эритроцитарных мембран и цитохрома b₅₅₈ in vitro стимулирует агрегацию последнего и снижает его O₂⁻ - продуцирующую и метгемоглобин-восстанавливающую активность..... 43

Абгарян Г.А., Кучер В.В., Аракелян В.Б., Косемян К.Э., Аракелян А.В., Григорян Л.Р.

Влияние внеклеточной концентрации ионов калия на кинетику калиевых токов клеток РС-12..... 47

Арицун Г.Г., Тадевосян Ю.В., Батикян Т.Б.

Качественно-количественный состав и деацелирование фосфолипидов мембран митохондрий крыс после воздействия внешнего электростатического поля..... 51

Енокян А.Д., Погосян Ю.М., Азнаурян А.В., Бахшиян М.З.

Экспериментальное обоснование целесообразности применения кортикального костного матрикса для эмбриональной височно-нижнечелюстного сустава..... 56

Бабикян Д.Т.

Сравнительный анализ антиамилоидных β-иммунных ответов, образовавшихся после иммунизации разными путями с плазмидой, кодирующей Аβ-пептидный иммуноген, связанный с PL4..... 62

Оганесян К.Г.

Изучение редких и уникальных полиморфизмов Y-хромосомы в армянской популяции..... 69

Клиническая медицина

Соцкая О.Л., Сафарян М.Д.

Методы выявления туберкулеза гениталий у женщин..... 74

Петросян М.С.

Зависимость степени атрофии альвеолярного отростка от причины потери зубов..... 78

Оргусян Д.Р.

О рациональности применения антимикробных препаратов в ряде больниц и поликлиник г. Еревана..... 81

Даниелян С.О., Исканян С.С.

Результаты лечения детской лейкемии после внедрения немецкого протокола ВФМ..... 86

Научно-организационная деятельность

Галстян А.М., Алексанян А.З.

Современные требования к знаниям по онкологии у врачей в свете социальной значимости дисциплины..... 89

Маркарян М.М., Варданян И.Ф.

Результаты использования профилактических средств стоматологических заболеваний..... 92

Казарян А.В., Григорян А.Р., Атоян К.М.

Методологические подходы к решению проблемы организационного строительства военно-медицинской службы..... 96

Агаян Г.А., Галстян С.Г., Айрапетян К.К., Аракелян Н.Л., Гукасян Г.А.

О проблеме острых вирусных гепатитов в войсках во время войн..... 100

Contents

- Oganov R.G., Maslennikova G. Ya.*
Cardiovascular diseases in Russia and possibilities of their prevention 3

Reviews

- Ghambarov S.S., Hakobyan A.V., Haroutyan S.S., Ktsoyan L.A., Zakaryan A.S., Gabrielyan A.R.*
Neuroimmune interrelations in bronchial asthma 10

Theoretical Medicine

- Galoyan A.A., Sahakyan L.A., Chailyan S.G., Karamyan V.T.*
Cerebrovascular activity of hypothalamic dipeptide arginyl-phenylalanine 14

- Sotski O.P., Karapetyan V.H., Loryan I.Zh., Jamgaryan L.G.*
The influence of prolonged hypokinesia on the levels of catecholamines, serotonin and mitochondrial succinate dehydrogenase activity in white rat heart and liver 21

- Manukyan A.H.*
Hemorheological aspects of cerebral blood flow infringements in hypokinesia conditions and their correction by GABA mimetics and vitamin E 27

- Loryan I.Zh.*
Albumin binding capacity under conditions of prolonged hypokinesia 39

- Simonyan R.M., Simonyan G.M., Babayan M.A., Simonyan M.A.*

- X- irradiation in erythrocyte membranes and cytochrome b₅₅₈ III in vitro results in the increase of aggregation of cytochrome b₅₅₈ III and decrease in its O₂⁻-producing and methemoglobin reducing activities 43

- Abgaryan H.H., Kucher V.V., Arakelyan V.B., Kosemyan K.E., Arakelyan H.V., Grigoryan L.R.*

- Influence of extracellular concentration of potassium on the kinetics of potassium currents in PC-12 cells 47

- Artzruny G.G., Tadevosyan Yu.V., Batikyan T.B.*
Quantitative-qualitative composition and deacylation of phospholipids in mitochondria of rat hepatocytes at external electrostatic field action 51

- Yenokyan H.D., Pogosyan Yu.M., Aznauryan A.V., Bakhshinyan M.Z.*

- Experimental reasons for using the cortical bone matrix for the temporomandibular joint eminoplasty 56

- Babikyan D.T.*
Comparative analysis of anti-amyloid β immune responses generated after different routes of immunization with plasmid encoding A β -peptide immunogen fused with IL4 62

- Hovhannesian K.H.*
Study of unique event polymorphisms of Y chromosome in Armenian population 69

Clinical Medicine

- Sotskaya O.L., Safaryan M.D.*
Ways of women genital organs tuberculosis detection 74

- Petrosyan M. S.*
The interrelation between the causes of teeth loss and the degree of alveolar process atrophy 78

- Orgusyan D.R.*
On the expediency of usage of antimicrobial preparations in some hospitals and out-patient clinics of Yerevan 81

- Danielyan S.H., Iskanyan S.S.*
The results of treatment of children's leukemia after the investment of BFM project 86

Scientific-Organisational Activities

- Galstyan A.M., Alexanyan A.Z.*
The contemporary requirements to oncology knowledge of physicians in the light of social significance of the subject 89

- Markarian M.M., Vardanian I.F.*
The results of using preventive means of stomatological diseases 92

- Kazaryan A.V., Grigoryan A.R.*
Methodological approaches to solution of military medical service organization problems 96

- Agayan G.A., Galstyan S.G., Hayrapetyan K.K., Arakelyan N.L., Gukasyan G.A.*
On the of problem acute viral hepatitis in troops during wars 100