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**

*Баласанян М.Г.*

**Редакционная коллегия**

*Аствацатрян В.А.*
*Габриелян Э.С.*
*Галоян А.А.*
*Стамболцян Р.П.*

**Редакционный совет**

*Абрамян Р.А.*
*Авдалбекян С.Х.*
*Агаджанов М.И.*
*Азнаурян А.В.*
*Алексанян Ю.Т.*
*Брехер А. (США)*
*Вартазарян Н.Д.*
*Галстян А.М.*
*Гангули А. (Индия)*
*Дини Л. (Италия)*
*Зинкович И.И. (Украина)*
*Мелик-Пашаян М.А.*
*Мирзоян Р.С. (Россия)*
*Мкртчян Л.М.*
*Оганесян Н.М.*
*Оганесян С.С.*
*Оганов Р.Г. (Россия)*
*Прохоров А.В. (Беларусь)*
*Саруханян О.В.*
*Середенин С.Б. (Россия)*
*Сисакян С.А.*
*Ханамирян Р.М.*
*Худавердян Д.Н.*
*Шекоян В.А.*

**Editor-in-Chief**

*Hakopian V.P.*

**Assistant Editors**

*Zilfian A.V.*
*Adamian K.G.*

**Secretary-in-Chief**

*Balasanyan M.G.*

**Editorial Board**

*Astvatsatrian V.A.*
*Gabrielian E.S.*
*Galoyan A.A.*
*Stamboltsian R.P.*

**Editorial Advisory Council**

*Abrahamian R.A.*
*Agajanov M.I.*
*Alexanian Yu.T.*
*Avdalbekyan S.Kh.*
*Aznauryan A.V.*
*Brekher A. (USA)*
*Dini L. (Italy)*
*Galstyan H.M.*
*Ganguli A. (India)*
*Hovanissian N.M.*
*Hovanissian S.S.*
*Khanamirian R.M.*
*Khudaverdyan D.N.*
*Melik-Pashayan M.A.*
*Mirzoyan R.S. (Russia)*
*Mkrtchian L.M.*
*Oganov R.G. (Russia)*
*Prokhorov A.V. (Belarus)*
*Sarukhanian H.V.*
*Seredinin S.B.(Russia)*
*Shekoyan V.A.*
*Sissakian S.H.*
*Vardazaryan N.D.*
*Zinkovich I.I. (Ukraine)*

© Издательство "Гитутюн", НАН Армении, 2005 г.

Обзорные статьи

УДК 616 - 097

# Методы исследования в иммунологии в последние два десятилетия

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

*Кафедра клинической иммунологии и аллергологии ЕрГМУ им. М. Гераци,*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова*: иммунологические методы, иммунодиагностика, проточная цитометрия, гибридомы, моноклональные антитела, иммуноферментный анализ, полимеразная цепная реакция, иммунофлюоресценция

В настоящее время задачами клинической иммунодиагностики являются:

- диагностика аллергии;
- выявление аутоиммунных заболеваний и выяснение их механизма;
- оценка состояния иммунной системы (ИС) с целью выявления ее наследственной и вторичной недостаточности, которая сопровождает различные заболевания;
- диагностика злокачественных новообразований и контроль за их иммунотерапией;
- типирование тканей и подбор доноров при пересадках тканей и органов;
- диагностика иммунологических конфликтов мать – плод.

Сегодня в иммунологии разработано и используется большое количество показателей, дающих возможность четко выявить различные поломки в тех или иных иммунных компонентах.

Современная иммунология почти не работает на органном уровне; она использует клеточные, клеточно-молекулярные и молекулярные методы [3]. Основным объектом иммунологических анализов является кровь – как ее клеточные компоненты, так и сыворотка.

Базисные подходы иммунодиагностики, используемые сегодня в практической медицине, делятся на три группы: I. Комплекс серологических методов; II. Клеточные методы; III. Молекулярно-биологические методы.

I. ***Серологические методы*** – методы, основанные на взаимодействии антигена с антителом. Серологические реакции широко используются для идентификации и количественного определения как антигенов, так и антител.

Антитела, иммуноглобулины (Ig), – это растворимые молекулы гликопротеидов, секретируемые плазматическими клетками. Антигены бывают разные, но большинство также растворимые. Связывание антигена с антителом часто приводит к образованию невидимого растворимого комплекса. Поэтому разные тест-системы серологических реакций различаются между собой средствами визуализации реакций взаимодействия антиген – антитело, а значит и разной чувствительностью.

Исторически было разработано достаточно много методов выявления образовавшихся комплексов антиген – антитело. Условно их можно разделить на три группы:

А. Методы, основанные на реакции преципитации.

Б. Методы, основанные на реакции агглютинации.

В. Методы, основанные на использовании меченых антител или антигенов.

С момента разработки методов и по сей день в практических лабораториях достаточно широко используется метод радиальной иммунодиффузии по Манчини (реакция преципитации) и методы агглютинации, благодаря простоте и надежности. Метод иммунодиффузии довольно чувствительный, его ошибка составляет не более 10 % [18]. Основным недостатком этого метода является длительное время анализа, а преимуществом – отсутствие необходимости в аппаратуре (спектрофотометре). Метод широко используется для определения концентрации Ig, компонентов комплемента, С - реактивного белка и др. В настоящее время некоторые фирмы выпускают готовые иммунодиффузионные системы для определения содержания Ig и компонентов комплемента [11].

Для реакции агглютинации обычно используют эритроциты (гемагглютинация) или частицы латекса (латекс-агглютинация), покрытые известным антигеном. В присутствии антител к этому антигену происходит агглютинация (склеивание и выпадание в осадок) эритроцитов или частиц латекса. По характеру образовавшегося агглютината различают зернистую и хлопьевидную агглютинацию. Зернистая агглютина-

ция происходит при склеивании микробов, содержащих О-антиген. Бактерии, имеющие жгутики (Н-антиген), агглютинируются с образованием крупных хлопьев. Методы агглютинации используются для диагностики инфекций, для оценки количества С-реактивного белка и ревматоидного фактора. Ряд зарубежных фирм выпускают стандартные наборы реактивов для постановки реакции. Эти методы просты и позволяют количественно определить антиген, однако менее чувствительны, чем радиоиммунный и твердофазный иммуноферментный анализы [6].

В последние два десятилетия наиболее широко используют следующие иммуноанализы – иммунофлюоресцентный, радиоиммунный и иммуноферментный. Иммуноанализами называют такие методы качественного и количественного определения растворимых веществ, в основе которых лежит взаимодействие антигена с антителом, которое детектируется (визуализуется) с помощью специальной метки, заранее конъюгированной либо с антителом, либо с антигеном [12].

Принцип любого иммуноанализа основан на выявлении комплекса антиген – антитело, в котором один из двух иммунореагентов был мечен меткой. Различают два типа иммуноанализов: прямые и непрямые. Прямые, – в которых метку присоединяют либо к целевому антигену, либо к специфическому против целевого антигена антителу непосредственно. Непрямые, – в которых метку присоединяют не к антигену и не к антителу, а к антивидовым, "вторым " антииммуноглобулиновым антителам. Непрямой тип иммуноанализов применяют шире, чем прямой, так как один и тот же препарат конъюгата антиглобулиновых антител с меткой используют в разных тест-системах для определения различных конкретных антигенов или антител [12].

Иммунофлюоресцентный метод основан на использовании реагентов, меченных флюоресцентным красителем. Метод применяют для выявления как антигенов, так и антител. Метод прямой иммунофлюоресценции применяют для выявления антигенов, а непрямой – позволяет выявить антитела к специфическому антигену. Как правило, флюоресцентным красителем метятся антитела. Меченые антитела связываются с антигеном, образуя комплексы, которые можно выявить с помощью флюоресцентной микроскопии в темном поле микроскопа [3,6].

Иммуноанализы – радиоиммунный (РИА) и иммуноферментный (ИФА) методы, которые одинаково специфичны, одинаково высокочувствительны (чувствительность метода позволяет определить минимальное количество вещества – нанограммы) и наиболее широко применяются в клинической диагностике.

*Метки*, используемые при РИА и ИФА:

1. Радионуклид (обычно используют изотопы йода: 125 I или 131 I), анализ называется радиоиммунным.

2. Ферменты, катализирующие превращения субстрата с образованием цветного или флюоресцирующего продукта. Анализ называется иммуноферментным. В качестве ферментов – меток в ИФА используют специальные ферменты:

- пероксидазу из корней хрена,
- В-галактозидазу,
- щелочную фосфатазу,
- уреазу.

Вначале – более 30 лет назад – был разработан РИА, который используется для определения концентрации гормонов, антигенов и антител. Существует несколько модификаций РИА. Одна из них, основанная на конкурентном связывании меченного радиоактивным изотопом и немеченного антигена с антителами (конкурентный РИА), применяется в клинике значительно шире, чем остальные.

В случае РИА результат измеряют на счетчиках радиоактивности (β- или γ- излучения), но этот метод имеет недостатки:

- дорогостоящие оборудование и реактивы,
- небезопасность работы с радиоактивными изотопами,
- короткий период полураспада радионуклида (необходимо обновлять примерно один раз в месяц),
- результаты РИА нельзя регистрировать без прибора.

Менее чем через год после описания РИА был предложен метод ИФА, который является одним из самых современных методов в иммунологии. В настоящее время применяют твердофазные или иммуносорбентные варианты ИФА. На твердую фазу сорбируют либо антиген, либо антитело. В качестве твердой фазы используют:

1) полистироловые, поливиниловые планшеты, шарики и колпачки, на которых адсорбированы антигены или антитела,

2) пористые материалы типа нитроцеллюлозы. В пористых материалах часть реагентов фиксировано сорбирована, а другая часть диффундирует по порам.

В случае ИФА при образовании известного продукта результат реакции определяют с помощью спектрофотометра по оптической плотности окрашенного раствора (спектрофотометр измеряет поглощение света с определенной длиной волны). Реакцию можно оценить без прибора – на глаз. При использовании в качестве метки фермента, катализирующего образование флюоресцирующего продукта, результат реакции определяют на флюориметре, измеряющем излучение в определенном диапазоне длин волн. Без прибора в данном случае не обойтись. Существует много вариантов конструкций тест-систем для ИФА. Базисными вариантами последних являются: конкурентный ИФА,

ингибиторный, "сендвич"-иммуноанализ, иммунометрический анализ [12].

Таким образом, в настоящее время ИФА в силу своей безопасности и стабильности реагентов во времени вытесняют РИА и широко используются в медицинской лабораторной диагностике.

***II. Клеточные методы*** – методы анализа клеток иммунной системы (КИС) и их продуктов.

В процессе становления и развития иммунологии развивались и знания о КИС. Сегодня очевидно, что иммунный ответ (ИО) в норме начинается и заканчивается воспалением: доиммунное воспаление + распознавание антигена лимфоцитом + деструкция антигена (иммунное воспаление) + выведение продуктов распада антигена [5,12]. И если в 80-е годы XX века в иммунологии считалось, что из всех лейкоцитов лишь лимфоциты представляют ИС, то за последние 10 лет утвердилось мнение, что все лейкоциты являются КИС, каждая субпопуляция из которых выполняет свою функцию в ИО, т.е. в воспалении. В процессе развития иммунологии выделяют три этапа разработки методов анализа КИС [5].

Первый этап – 30-е годы XX века – создана теория кроветворения (конец XIX в.), налажен надежный метод анализа основных популяций ядросодержащих клеток в окрашенных мазках крови – лейкограмма, клинический анализ крови, даны основы клинической интерпретации лейкоцитарной формулы.

В основе определения лейкоцитов различных популяций лежат принципиальные морфологические различия по размеру, форме ядра, наличию в цитоплазме гранул и различие в их окрашивании. Практическая значимость этого этапа очевидна и сегодня – в начале XXI века врач-клиницист повседневно использует лейкограмму для определения характера течения воспалительного процесса.

В настоящее время в клинике существуют 2 метода клинического анализа крови: широко распространенный " ручной " способ визуального определения клеток при помощи светового микроскопа – метод простой, надежный, но низкопроизводительный из-за необходимости микроскопирования; автоматические анализаторы – они имеют значительно более высокую точность подсчета, поскольку результат выдается с использованием нескольких тысяч клеток, а не 100 клеток, как при световом микроскопировании [5].

Прогресс клинической иммунологии определила разработка в 70-х годах метода получения отдельных популяций лейкоцитов на градиенте плотности фиколл – рентгеноконтрастное вещество (способ основан на различиях удельной массы эритроцитов и лейкоцитов разных типов) [15].

В результате одним из достижений иммунологии конца 60-х – начала 70-х годов XX века явилось учение о рецепторном аппарате лимфоцитов и других КИС. Среди открытых первыми поверхностных структур, тесно связанных с мембраной лимфоцитов, огромное значение имеют поверхностные иммуноглобулиновые рецепторы, рецепторы для эритроцитов барана (ЭБ), для Fc – фрагментов Ig, различных компонентов комплемента и позже открытые рецепторы – клеточные дифференцировочные антигены или кластеры дифференцировки [2,7,8,10,12,14].

Следовательно, выяснилось, что популяция лимфоцитов неоднородна. Она включает популяции и субпопуляции, имеющие принципиально разные функции, разный набор маркерных молекул (антигенов, рецепторов) на мембране клеток, но морфологически они неразличимы. Идентификация этих популяций и субпопуляций возможна лишь на основе определения поверхностного антигенного состава этих клеток, т.е. их фенотипирования.

Учение о рецепторном аппарате КИС стимулировало разработку новых, более сложных (в отличие от методов определения лейкограммы), основанных на проведении иммунологических реакций, методов для выявления рецепторного аппарата КИС, определения различных медиаторов, продуцируемых этими клетками.

Основные иммунологические методы, предложенные в те годы, используются и по сей день – розеткообразование, бласттрансформация, торможение миграции лейкоцитов.

Таким образом, в 70-е годы XX века впервые клиницисты получили возможность анализировать Т- и В- лимфоциты человека.

Практическая значимость второго этапа – это выявления иммунной недостаточности при воспалительном процессе, т.е. при ИО [5].

В 80-е годы XX века была создана гибридомная технология получения моноклональных антител (МА), основанная на принципе клонирования – получения множества одинаковых копий некоего биологического объекта, в данном случае клеток [10, 12].

МА однородны по всем показателям, в частности по специфичности. В искусственных условиях МА продуцируются клетками гибридом. Гибридома, или гибридная клетка, образуется при слиянии опухолевой (миеломной) клетки с нормальным лимфоцитом. Полученная в результате слияния гибридная клетка имеет часть хромосом (а значит и свойств) нормального лимфоцита – синтез антител и какую - то часть от опухолевой клетки – способность к неограниченному делению митозом. Неограниченно делящиеся клетки клонируются, т.е. их рассаживают по одной в каждую отдельную посуду и получают клоны клеток – гибридомы.

В результате были разработаны гибридомные способы получения МА к широчайшему спектру маркерных молекул мембран КИС, характеризующим популяции и субпопуляции последних. Кроме того, методы с использованием МА позволили выявлять даже не-

значительное содержание иммунологически активных молекул в крови – третий этап анализа КИС и их продуктов.

В настоящее время создан огромный набор МА практически ко всем значимым эпитопам. МА широко используются как в иммунодиагностике, так и в иммунотерапии, а также в научно - исследовательских целях.

Методы анализа КИС и их продуктов делятся на три группы:

А. Методы, позволяющие дать качественно-количественную характеристику клеток.

Б. Методы, определяющие функциональную активность клетки.

В. Нагрузочные тесты.

Для качественно-количественного анализа КИС сегодня применяют два методических подхода: 1 – тесты розеткообразования и 2 – методы с использованием МА. Оба подхода основаны на выявлении популяции и субпопуляции КИС по рецепторам и антигенам на их поверхности.

*Методы розеткообразования* используют в качестве индикаторов корпускулярные частицы, в частности эритроциты животных. Они основаны на феномене прилипания к поверхности КИС корпускулярных частиц с образованием фигур, получивших название розеток. Розетки образуют не только лимфоциты, но и другие клетки ИС [4,5,10].

Эти методы используются в клинической иммунодиагностике с начала 70-х годов XX века и по сей день. Например, для выявления Т-лимфоцитов используются ЭБ, рецептором к ЭБ на Т-клетках является СД-2 молекула [16]. В-клетки образуют розетки с эритроцитами мышей и с ЭБ, нагруженными антителами против них и комплементом – ЕАС – РОК [4]. Методы розеткообразования являются наиболее простыми, доступными и относительно дешевыми, т.к. не требуют дорогостоящего оборудования (проточный цитофлюориметр), а результаты подсчитываются с помощью светового микроскопа. Конечно же, он менее точен, чем методы с использованием МА, но для основных целей практической клинической иммунологии точность результатов метода розеткообразования, несомненно, достаточна. Помимо количественного определения КИС, метод розеткообразования является и показателем функциональной активности клеток, в частности активации ц.АМФ [5].

*Методы определения популяции и субпопуляции КИС с использованием МА* делятся на: а) метод мембранной иммунофлюоресценции на проточных цитофлюорометрах; б) визуальный стрептавидин – биотиновый метод; в) метод магнитного выделения клеток с использованием парамагнитных частиц, конъюгированных с МА; г) метод специфического цитолиза лимфоцитов [4].

Вопрос цитофлюорометрического анализа КИС (проточная цитофлюорометрия) удалось решить после появления рынка МА к разнообразным дифференцировочным антигенам (маркерным молекулам) мембран клеток, характеризующим популяции последних.

В основу проточной цитофлюорометрии положена иммунофлюоресценция.

Для этого необходимо иметь МА, меченные флюорохромом, и проточный цитофлюорометр.

1. В настоящее время МА для определения популяции и субпопуляций КИС человека производят и продают многие зарубежные фирмы. Флюорохромы – это вещества, которые поглощают падающий свет определенной длины волны и излучают поглощенную энергию в виде света большой длины волны. В основном МА метят флюоресцин изотиоцианатом, фикоэритрином, перидинином, родамином. Все вещества флюоресцируют под действием света одной длины волны – 488 *нм*, причем первый излучает зеленый, второй – оранжевый, а третий и четвертый – красный свет. Использование 3 флюорохромов позволяет одновременно определять 3 разных поверхностных антигена [1, 6].

2. Проточный цитофлюорометр (лазерный сортер) – прибор, работающий на лазерной регистрации флюоресцирующих клеток, обработанных МА, которые мечены флюоресцирующим агентом при их протекании по капиллярному каналу прибора. При попадании клетки в луч лазера с помощью детекторов определяются размеры, гранулярность каждой клетки, а также цвет флуоресценции, соответствующий разным поверхностным маркерам [1]. В клинике проточная лазерная цитофлюорометрия применяется:

- для определения содержания лимфоцитов СД 4 при ВИЧ-инфекции,
- как метод диагностики гемобластозов,
- для определения активированных лимфоцитов, а значит и определения адекватности активации ИС,
- для диагностики иммунодефицитов,
- для определения активации апоптоза нейтрофилов и лимфоцитов – показателя иммуносупрессии [3, 6, 14].

Для фенотипирования лимфоцитов в клинике в последние годы часто используют также метод иммуномагнитной сепарации клеток. Метод основан на применении парамагнитных полистирольных микрочастиц, покрытых МА к тем или иным антигенам клеточной поверхности, например к СД 3, СД 4, СД 19 [17].

В настоящее время в иммунологических лабораториях для фенотипирования лимфоцитов наиболее широко используют цитофлюорометрический анализ с проточным цитофлюорометром и МА, а методы розеткообразования – в тех клинико - иммунологических лабораториях, которые не имеют проточных цитоф-

люорометров [5].

Существует большое разнообразие методов, позволяющих исследовать различные функции КИС. Однако функциональное тестирование КИС представляет большие трудности, т.к. большинству из них свойственна необходимость культивирования клеток в стерильных условиях.

Приведем наиболее важные тесты оценки функциональной активности КИС.

1. Определение уровня Ig основных классов – A, M, G – в сыворотке крови и секретах. Ig – это гликопротеиды, секретируемые плазматическими клетками после антигенной стимуляции. Для определения их концентрации чаще всего применяют простую радиальную иммунодиффузию по Манчини с использованием поликлональных антител [18] и нефелометрию [5, 6].

2. Реакция бласттрансформации лимфоцитов (РБТЛ) основана на феномене активации лимфоцитов под влиянием стимулов (митогенов, или антигенов, или аллогенных лимфоцитов) с последующей трансформацией их в бласты – большие делящиеся клетки. Эта реакция определяет пролиферативный потенциал изучаемых клеток. Пролиферативную активность лимфоцитов оценивают по интенсивности синтеза ДНК в ответ на стимуляцию. Интенсивность синтеза ДНК оценивают радиометрически по включению в нее меченных радиоактивным изотопом нуклеозидов, например Н3 - тимидина.

Метод РБТЛ достаточно распространен в лабораториях клиник медицинских институтов, но в практике широкому его распространению препятствуют необходимость стерильной работы и дорогого оборудования (сцинтилляционного счетчика).

Иногда клеточную пролиферацию оценивают другим методом без применения радионуклидов – МТТ-тест, основанный на изменении цвета, связывающегося с живыми клетками красителя – бромида 3 - / 4,5 диметилтиазол – 2 - ИЛ / - 2,5 дифенил -2 - тетразолия – из синего в желтый [4, 5, 7, 8].

3. Кожные пробы позволяют оценить способность Т-лимфоцитов вызывать аллергическую реакцию замедленного типа при в/к введении антигена. Классическим примером является реакция Пирке .

4. Реакция торможения миграции лейкоцитов (РТМЛ) оценивает гиперчувствительность замедленного типа в системе in vitro, т.е. определяет сенсибилизацию клеток человека к различным аллергенам, антигенам in vitro.

5. Исследования цитокинов. Активированные КИС вырабатывают цитокины. Продукцию цитокинов, вырабатываемых преимущественно лимфоцитами, стимулируют Т - клеточные митогены (ФГА, Кон. А), а продукцию цитокинов, которые синтезируются моноцитами, – микробные полисахариды (МПС). Для определения содержания цитокинов в большинстве случаев используют готовые наборы для РИА и ИФА. К сожалению, такие наборы пока довольно дороги.

Методы исследования уровня цитокинов с использованием цитокинзависимых или цитокинчувствительных клеточных линий в практической медицине не применяются из-за громоздкости.

6. Наиболее доступным объектом для оценки функционального состояния фагоцитов являются нейтрофилы крови. Способность к фагоцитозу чужеродных частиц является основной функциональной характеристикой нейтрофилов. Хотя метод определения фагоцитоза с помощью микроскопического подсчета фагоцитирующих клеток и фагоцитированных объектов – рутинный, его используют уже свыше 100 лет, однако до сих пор не удалось избавиться от нестабильности получаемых результатов, т.к. захват частиц является результатом взаимодействия множества факторов, которые трудно учесть. В последние годы стали разрабатывать модификации метода, позволяющие стандартизировать и автоматизировать регистрацию его результатов. К таким модификациям относится фагоцитоз частиц латекса, меченных флюорохромом, результаты же при этом оцениваются цитофлюорометрически.

7. Методы оценки метаболического взрыва нейтрофилов – продукция свободных радикалов кислорода.

При поглощении и переваривании чужеродных частиц (при активации нейтрофилов) в нейтрофилах возрастает интенсивность метаболических процессов, в частности увеличивается продукция свободных радикалов кислорода. Последнюю можно оценить с помощью теста восстановления нитросинего тетразолия (НСТ) и хемилюминесценции.

Суть НСТ-теста состоит в том, что растворенный нитросиний тетразолий, поглощенный нейтрофилом, под влиянием активных форм кислорода в клетке превращается в нерастворимые темно-синие гранулы (формазан).

В основе метода хемилюминесценции лежит определение уровня свечения нейтрофилов в процессе метаболического взрыва в результате их стимуляции, усиленное добавлением люминала [5]. В настоящее время зарубежными фирмами выпускаются приборы и наборы реактивов для определения хемилюминесценции.

8. Исследование системы комплемента. Количественное определение компонентов комплемента (чаще С3 и С4) проводят с помощью простой радиальной иммунодиффузии, нефелометрии и ИФА с использованием МА.

Общую гемолитическую активность комплемента определяют в гемолитической системе, включающей ЭБ и специфические антиэритроцитарные антитела.

Исследование же активности отдельных компонентов комплемента в сыворотке проводится только в

специализированных лабораториях.

9. Методы определения антителозависимой клеточно-опосредованной цитотоксичности лимфоцитов и активности натуральных киллеров in vitro с использованием клеток-мишеней (как сенсибилизированных антителами, так и чужеродных) требуют сложной аппаратуры и условий работы с изотопами, поэтому применяются преимущественно в специализированных лабораториях.

10. Определение циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК).

Поскольку результаты определения ЦИК часто бывают противоречивы, а значит малоинформативны, в настоящее время это исследование проводится все реже.

11. Методы, основанные на реакции высвобождения гистамина тучными клетками, трудоемки и применяются редко [9, 13].

12. Определение общего уровня Ig E обычно проводят с помощью РИА и ИФА, поскольку низкое содержание этого Ig не позволяет использовать те методы, которые применяются для определения Ig G , Ig A и Ig M [9,13].

13. Определение специфических Ig E проводят также с помощью РИА и ИФА [9, 13].

14. Тесты повреждения нейтрофилов для оценки иммуносупрессии. Наличие в организме эндогенной интоксикации приводит к развитию иммуносупрессии, т.е. угнетению ИС. Уровень иммуносупрессии определяют двумя методами: а) морфологический метод выявления дегенерации нейтрофилов; для выявления дегенеративных изменений в нейтрофилах требуется лишь качественная окраска мазка крови. Признаками дегенеративных изменений являются: пикноз, фрагментация и вакуолизация ядра, а также разрыв, токсогенная зернистость, вакуолизация цитоплазмы; б) выявление экспрессии Fas - рецепторов на нейтрофилах. Показано, что различные микроорганизмы, их экзо- и эндотоксины активируют апоптоз нейтрофилов. А значит оценить уровень эндогенной интоксикации организма можно на основании определения экспрессии молекул апоптоза нейтрофилов. Для осуществления этого метода используют МА к антигену СД 95. Результаты оценивают либо с помощью проточного цитофлюорометра, либо визуальным стрептавидин-биотиновым методом [5].

Каждый используемый метод выявляет рецепторы или антигены в том случае, если их количество выше определенного порога, составляющего предел чувствительности этого метода, и факт их невыявления вовсе не говорит о том, что их нет вообще. Обнаружить подобные маркеры возможно лишь при определенных изменениях условий постановки реакций или определенным воздействием на клетки, приводящим к их активации. Так, в процессе развития методов клинической иммунологии определилась необходимость осуществления иммунологических клинических методов в нескольких вариантах их постановки: например, в измененном режиме или в присутствии различных веществ эти методы были названы "нагрузочными тестами" (НТ) [5].

Постановка НТ дает возможность выявить преимущественно те или иные популяции и субпопуляции КИС, оценить функциональное состояние разных субпопуляций КИС и изменения взаимосвязей между всеми КИС, определяя различные индексы этих соотношений.

Различают 3 варианта НТ:

- тесты, основанные на изменении одного или нескольких параметров,
- использование клеточных тестов в качестве модели для испытания сыворотки крови и других гуморальных факторов,
- определение чувствительности клеток к препаратам.

В практической иммунологии широкое распространение получил третий вариант НТ.

Схема постановки НТ следующая: клетки – дозированное воздействие – клетки после нагрузки – тестирование в реакции – результат. В качестве дозированного воздействия обычно используют физиологические дозы различных препаратов, а в качестве иммунных реакций – розеткообразование (чаще всего), фагоцитоз, РБТЛ, НСТ - тест [5]. Например, субпопуляции Т-лимфоцитов выявляют в пробах с теофилином, гистамином, с иммуноглобулинами различных классов [4].

***III. Молекулярно-биологические методы*** – методы, использующие принципы молекулярной биологии. Самые современные методы в иммунологии – это методы молекулярной биологии и особенно молекулярной генетики, в частности методы ДНК, РНК-зондов и полимеразная цепная реакция (ПЦР) [3, 10, 14]. При помощи молекулярно-генетического анализа иммунологических объектов и феноменов удается получить однозначные информации и однозначный анализ полученных результатов.

Основой молекулярных подходов в иммунологии является клонирование генов, их перенос и направленное выключение. Возможность развития методов молекулярного клонирования – получение чистого клона гена и вслед за ним чистого клона молекул белка, кодируемого этим геном, – появилась, с одной стороны, после развития методов молекулярной биологии и биохимии нуклеиновых кислот, позволяющих определять первичную последовательность нуклеотидов, с другой стороны, после того как научились искусственно синтезировать отрезки ДНК (20 – 30 нуклеотидов), – олигонуклеотиды. Последние используют в качестве затравки – праймера – для синтеза длинных молекул ДНК. Основываясь на этом, в 1983 году был

описан метод ПЦР – метод получения копий искомого гена (в среднем примерно один миллион) [12].

Ярким примером уже реализованного использования этого метода в иммунологии в последние 15 лет является генотипирование молекул HLA (особенно 2-го класса), выявление генетического материала инфекционного возбудителя.

Суммируя все вышесказанное, можно сделать вывод: для более четкого детального анализа характера и течения воспалительного процесса необходимо дополнить общий анализ крови определением уточняющих иммунологических показателей [5].

Традиционно методы клинико-иммунологических исследований делят на методы оценки естественного, клеточного и гуморального звеньев иммунитета. В зависимости от степени глубины иммунных отклонений различают несколько уровней иммунологического обследования – от ориентировочного 1-го до более высоких уровней [2, 11, 14].

В последнее десятилетие в клинике принято использовать следующий план иммуно-лабораторного обследования:

1. Общий анализ крови, СОЭ, С-реактивный белок.
2. Оценка гуморального звена иммунитета:

а) количество В - лимфоцитов,

б) уровень сывороточных иммуноглобулинов классов А, М, G и секреторного Ig A.

3. Оценка клеточного звена иммунитета:

а) абсолютное число лимфоцитов,

б) количество популяций и субпопуляций Т-лимфоцитов; соотношение CD 4/ CD 8 клеток,

в) кожные тесты с recall - антигенами (например, туберкулин, стрептококк),

г) пролиферативная активность Т-лимфоцитов в ответ на стимуляцию митогеном или антигеном,

д) оценка цитотоксичности.

4. Оценка системы фагоцитов:

а) количество фагоцитирующих нейтрофилов и моноцитов,

б) активность фагоцитоза,

в) кислородзависимый метаболизм (метаболическая активность) по НСТ-тесту,

г) исследование молекул адгезии.

5. Оценка системы комплемента:

а) определение количества С 3,

б) определение количества С 4,

в) определение гемолитической активности комплемента.

При необходимости определяют:

1. Количество и функцию естественных киллеров.
2. HLA - фенотип.
3. Продукцию цитокинов.
4. Наличие специфических аутоантител.
5. Наличие специфической клеточной сенсибилизации.
6. Наличие Т- и В- клеток с признаками активации (DR, CD 25, CD 71).
7. Хемотаксис нейтрофилов.
8. Определение общего уровня Ig E.
9. Определение специфических Ig E.
10. Определение циркулирующих иммунных комплексов.
11. Методы, основанные на реакции высвобождения гистамина тучными клетками [2].

Следует отметить, однако, что спектр иммунологического обследования определяется возможностями иммунологической лаборатории данного лечебного учреждения.

*Поступила 23.06.04*

## Իմունաբանության մեջ հետազոտման մեթոդները վերջին երկու տասնամյակների ընթացքում

Լ.Ա. Կծոյան, Ս.Ս. Ղամբարյան, Ս.Ս. Հարությունյան, Ա.Վ. Հակոբյան, Ա.Ռ. Գաբրիելյան, Ա.Ս. Ջաքարյան

Հոդվածում արծածված են կլինիկայում վերջին երկու տասնամյակներում օգտագործվող իմունաբանական մեթոդների սկզբունքները:

Լուսաբանված են այսօր պրակտիկ բժշկության մեջ կիրառվող իմունահիստոդրոշման հիմնական մոտեցումները, որոնք բաժանվում են 3 խմբերի.

1. շճաբանական մեթոդներ, որոնք հիմնված են հակածինների և հակամարմինների փոխազդեցության վրա,
2. բջջային մեթոդներ, որոնք իրենցից ներկայացնում են իմունային համակարգի բջիջների և նրանց ածանցյալների վերլուծություն,
3. մոլեկուլյար-կենսաբանական մեթոդներ, որոնք պարունակում են իմունաբանության մեջ կիրառվող մոլեկուլյար կենսաբանության սկզբունքները՝ գեների կլոնավորում, նրանց տեղափոխում և նպատակասլաց անջատում:

## Methods of research in immunology in the last two decades

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

In the article the principles of the immunological methods used in clinical practice during the last two decades are described and analyzed.

It is shown that today in applied medicine the basic approaches of immunodiagnostics are distributed into 3 main groups:

1. serological methods-based on interaction of an antigen with an antibody,
2. cellular methods – analysis of cells of immune system and their products.
3. molecular-biological methods, based on the principles of molecular biology in immunology: cloneing cells, genes, genes carrying, and directed de-energizing.

## Литература

1. *Домбаева С.В., Мазуров Д.В., Климова С.В., Бахус Г.О., Ярилин А.А., Пинегин Б.В.* Аллергология и иммунология, 2002, 3, 3, с. 371.
2. *Дранник Г.Н.* В кн.: Клиническая иммунология и аллергология. М., 2003.
3. *Зарецкая Ю.М.* В кн.: Иммунология и иммуногенетика человека. М., 2002.
4. *Караулов А.В.* В кн.: Клиническая иммунология. М., 1999.
5. *Лебедев К.А., Понякина И.Д.* В кн.: Иммунная недостаточность: выявление и лечение. М., 2003 .
6. *Лолор -мл.Г., Фишер Т., Адельман Д.* В кн.: Клиническая иммунология и аллергология. М., 2000 .
7. *Новиков Д.К., Генералов И.И., Железняк Н.В., Окулич В.К.* В кн.: Медицинская иммунология. Витебск, 1998 .
8. *Новиков А.К., Новикова В.И.* В кн.: Клеточные методы иммунодиагностики. Беларусь, 1979 .
9. *Пыцкий В.И., Адрианова Н.В., Артомасова А.В.* В кн.: Аллергические заболевания. М., 1999.
10. *Ройт А., Бростофф Дж., Мейл Д.* В кн.: Иммунология. М., 2000.
11. *Соколова Е.И.* В кн.: Клиническая иммунология. Руководство для врачей. М., 1998.
12. *Хаитов Р.М., Игнатьева Г.А., Сидорович И.Г.* В кн.: Иммунология. М., 2000.
13. *Хаитов Р.М.* В кн.: Клиническая аллергология. М., 2002.
14. *Ярилин А.А.* В кн.: Основы иммунологии. М., 1999.
15. *Boyum A.* Scand. J. Clin. Lab. Invest., 1968, 21, 97, p. 77.
16. *Jondal M., Holn Q., Wigzell H. J.* Exp. Med., 1972, 136, p. 207.
17. *Lea T.,Vartdal F., Davies C., Ugelstad I.* Scand . J. Immunol., 1985, 22, p. 207.
18. *Mancini G., Carbonara A.O., Heremans J.E.* Immunochemistry, 1965, 2, p. 35.

УДК 616.1+616.69

# Эректильная дисфункция у больных артериальной гипертензией

А.Л.Верткин, В.А.Бурмистров, Р.Р.Бадалян

*Кафедра клинической фармакологии Московского государственного медико-стоматологического университета*

*127473, Москва, ул. Делегатская, 20/01*

*Ключевые слова*: артериальная гипертензия, эректильная дисфункция

Сексуальное здоровье и нормальное функционирование являются важной составляющей качества жизни человека. В связи с увеличением продолжительности жизни и формированием социально активного стереотипа поведения даже в пожилом возрасте такие заболевания, как эректильная дисфункция у мужчин и сексуальная дисфункция у женщин приобретают важное значение и для пациента, и для врача. И если не так давно эректильная дисфункция относилась к урологической или сексологической дисциплинам, то сегодня сформирован достаточный доказательный базис для восприятия этой проблемы как общетерапевтической.

Эректильную дисфункцию (ЭД) определяют как «неспособность достигать и (или) поддерживать эрекцию, достаточную для удовлетворительной сексуальной активности» (Impotence. NIH Consensus Development Panel on Impotence, 1993), если эти расстройства наблюдаются по крайней мере в течение 3 месяцев. Эрекция является сложным интегративным феноменом, в реализации которого играют роль центральная и периферическая нервные системы, а также сосудистая и гормональная системы. Дисбаланс на уровне любого компонента, обусловленный определенными психогенными факторами, различными заболеваниями или лекарственными препаратами, может привести к нарушениям эрекции, эякуляции, оргазма.

Высокая распространенность ЭД в общей популяции впервые была показана в ходе знаменитого Массачусетского исследования по изучению вопросов старения мужчин (Massachusetts Male Aging Study – MMAS, 1994), Было выявлено, что 52% мужчин в возрасте от 40 до 70 лет в той или иной степени страдают ЭД: полное отсутствие эрекции отмечено у 10% мужчин, умеренная ЭД – у 25%, минимальная – у 17%. В возрасте 40–50 лет ЭД выявляется у 40% мужчин, в 50–60 лет – практически у половины обследованных (48–57%), а в старшей возрастной группе этим расстройством страдают 70% мужчин.. Полная ЭД выявлена у 5% мужчин в возрасте до 50 лет, а в старшей возрастной группе (70 лет и старше) этот показатель возрастает до 15% [18].

Несмотря на высокую распространенность ЭД, обращаемость пациентов за медицинской помощью все еще остается достаточно низкой. Согласно результатам проведенного во Франции анкетирования 10 000 мужчин в возрасте от 17 до 70 лет, проводившегося с 12 апреля по 21 мая 2002 года, только 22,2% опрошенных мужчин с ЭД обращаются за помощью к врачу, но получают лечение 36,9% [11]. Большинство опрошенных не считает ЭД болезнью, связывая ее появление со стрессом и усталостью. Этим данным соответствуют результаты исследования, проведенного в Нидерландах, согласно которым за медицинской помощью обращается только четверть мужчин с ЭД [36]. В Америке, по данным Laumann E.O. et al. [30], за медицинской помощью обращается только один из 10 мужчин, страдающих ЭД. Лишь небольшая часть мужчин с ЭД получает по этому поводу лечение –11.6%, согласно исследованию Chew K.K. et al. [10].

Если раньше основной причиной ЭД считали различные психологические проблемы, то сейчас это мнение изменилось. Показано, что ЭД в 80% случаев имеет органическую природу и возникает как осложнение различных соматических заболеваний (NIH Consensus Conference on Impotence, 1993). Почти во всех эпидемиологических исследованиях, посвященных ЭД, выявлена связь ее возникновения с артериальной гипертензией (АГ), сахарным диабетом (СД) и атеросклерозом [46]. По данным Walczak M.K. et al. [54], из 154 мужчин, обратившихся за помощью в связи с ЭД, 44% страдали АГ и 23% – СД. В исследовании, проведенном Seftel A.D. et al. [49], среди 272 325 пациентов с ЭД АГ была выявлена у 41,6% мужчин, гиперлипидемия – у 42,4%, СД – у 20%, сочетание АГ и гиперлипидемии – у 23,9%, сочетание АГ и СД – у 12,8% больных. Более того, по мнению некоторых авторов, выявление ЭД может свидетельствовать о наличии у пациента одного из этих заболеваний (диабета, гипертензии, ИБС) в скрытой форме [40].

У мужчин-гипертоников нарушение половой функции может проявляться различным образом, включая сниженную частоту половой активности, трудность достижения или поддержания эрекции и нарушения эякуляции [12]. В целом ряде исследова-

ний показано, что на фоне АГ ЭД встречается значительно чаще, чем в общей популяции. Так, по данным Cuellar de Leon A.J. et al. [13], полученным при анкетировании 512 пациентов в возрасте от 30 до 86 лет (средний возраст 63,4 года), ЭД встречается у 46,5% пациентов с АГ. В исследовании Burchardt M. et al. [6] среди 476 пациентов в возрасте от 34 до 75 лет у 68,3% выявлена ЭД различной выраженности (у 7,7% – умеренная, 15,4% – выраженная и 45,2% – тяжелая), что вдвое превышает популяционный уровень. По данным Roth A. et al. [48], частота ЭД среди больных АГ составляет 46%, по данным Braun M. et al. [4] – 36% по сравнению с 19% в популяции и 16% среди мужчин с нормальными цифрами АД.

Дисфункция эндотелия и недостаточная продукция им оксида азота является важнейшим патогенетическим звеном как АГ [53], так и васкулогенной ЭД. Повышенное АД благоприятствует окислительному стрессу на стенке сосуда [9], в результате уменьшается зависящая от эндотелия вазодилатация, что показано в ряде экспериментальных работ [29,32,33,51]. Развивающееся ремоделирование со снижением эластичности и уменьшением просвета кровеносных сосудов, обеспечивающих кровоток во время эрекции, приводит к развитию васкулогенной ЭД [24,25,37,41,52]. Muller S.C. et al. обнаружили недостаточность кавернозных артерий в 85% случаев из 117 мужчин со стойкой гипертензией [38].

Определенную роль в возникновении ЭД при АГ могут также играть изменения гормонального профиля. Во всяком случае Jaffe A.et al. [26] обнаружили достоверное снижение уровня тестостерона у 32 гипертоников по сравнению с контрольной группой. Следует отметить, что гипертоники были старше по возрасту, имели больший индекс массы тела и, в отличие от контрольной группы, нередко получали лекарственную терапию.

Наконец, развитию ЭД у мужчин-гипертоников может способствовать получаемая ими гипотензивная терапия. По мнению некоторых авторов, до 25% случаев возникновения ЭД обусловлено лекарственной терапией [42]. В целом ряде исследований показано, что сексуальные проблемы чаще отмечаются у пациентов, получающих гипотензивную терапию, чем у пациентов с нелеченной АГ или с нормальными цифрами АД (табл.).

Хотя обычно контроль уровня АД связан с улучшением качества жизни, появление связанных с лечением побочных эффектов может даже ухудшить самочувствие пациентов, особенно тех, у кого АГ протекает бессимптомно [50]. В частности, ухудшать качество жизни могут нарушения половой функции, вызванные гипотензивными препаратами [43,47,56].

Возникновение подобных побочных эффектов безусловно снижает приверженность больных терапии. Показано, что в случае развития побочных эффектов гипотензивной терапии до 70% больных перестают соблюдать режим приема препаратов, а при ухудшении качества жизни больные на 40-60% чаще прекращают лечение по сравнению с пациентами, чье качество жизни не изменилось [12,39].

*Таблица*

*Распространенность нарушений половой функции у мужчин с нормальным давлением и гипертензивных пациентов, получавших и не получавших лечение*

| Исследование | Нормотензивные испытуемые | Гипертензивные пациенты, не получавшие лечения | Гипертензивные пациенты, получавшие лечение |
|---|---|---|---|
| Riley et al., 1967 | | | |
| Импотенция | – | 26% | 55%** |
| Неспособность к эякуляции | – | 14% | 45%** |
| Bulpitt et al., 1976 | | | |
| Импотенция | 6,9% | 17,1% | 24,6%** |
| Неспособность к эякуляции | 0% | 7,6% | 25,6%** |
| Bauer et al., 1981 | | | |
| Импотенция | 10% | 20% | 19% |
| Неспособность к эякуляции | 6% | 10% | 9% |
| Croog et al., 1988 | | | |
| Половая дисфункция† | – | 44,2% | 57,9%* |
| Llisterri et al., 2001 | | | |
| Половая дисфункция | – | – | 42,3% |

*p<0,01 по сравнению с гипертензивными пациентами, не получавшими лечения; **p<0,001 по сравнению с гипертензивными пациентами, не получавшими лечения и нормотензивными испытуемыми;
†нарушения половой функции включают нарушения полового влечения, достижения/поддержания эрекции и эякуляции

Известно, что почти трем четвертям взрослых жителей США, болеющих АГ, не удается добиться достаточного контроля уровня АД [7], что может отчасти объясняться прекращением приема гипотензивных препаратов в связи с появлением побочных эффектов. Приверженность лечению среди больных АГ в России через год после подбора гипотензивной терапии составила только 30%, причем в 15% случаев причиной для отказа от терапии послужили сексуальные нарушения [1]. Отказ пациентов продолжать лечение в течение длительного времени может быть одним из факторов развития связанных с АГ осложнений и повышения общих расходов на здравоохранение [20]. Многие гипотензивные препараты могут привести к нарушениям половой функции, вызывая у мужчин снижение либидо, трудности достижения или сохранения эрекции и проблемы с эякуляцией, а у женщин – задержку оргазма [12,31].

Возникновение ЭД особенно часто связывают с приемом тиазидных диуретиков и β-адреноблокаторов [22,37,44]. По MMAS исследованиям, статистически подтверждена роль диуретиков в возникновении ЭД [15]. По данным Wassertheil-Smoller S. et al. [55], полученным в многоцентровом, рандомизированном, плацебо-контролируемом исследовании TAIM, связанные с эрекцией проблемы выявлялись у 11% пациентов, получавших в течение 6 месяцев β-адреноблокатор (атенолол), и у 28% пациентов, получавших тиазидный диуретик (хлорталидон). Согласно результатам проведенного Ko D.T. и соавт. [28] метаанализа, применение β-адреноблокаторов связано с небольшим, но статистически значимым риском возникновения сексуальной дисфункции (1 дополнительный случай на каждые 199 пациентов, получавших лечение β-адреноблокаторами в течение года), причем ЭД чаще вызывают препараты первых поколений.

Далеко не все классы антигипертензивных препаратов характеризуются одинаковым риском развития половых расстройств [47]. Согласно результатам контролируемого исследования TOMHS, сходная частота возникновения ЭД отмечалась в группе плацебо и при длительном использовании наиболее активных гипотензивных лекарственных средств (в том числе амлодипина, доксазозина, эналаприла) [23]. Каптоприл и эналаприл улучшали половую функцию в эксперименте [16,24], а по данным Fogari R. et al. [21] лизиноприл повышал сексуальную активность мужчин-гипертоников. На фоне приема ингибитора ангиотензиновых рецепторов валсартана отмечена даже тенденция к повышению сексуальной активности мужчин [14,17,21]. Аналогичные данные относительно лозартана получены Caro J. et al. [8] и Llisterri J.L. et al. [34]. Антагонисты кальция также, по-видимому, не ухудшают мужскую половую функцию [35].

Таким образом, совершенно очевидно, что АГ является важным фактором риска в развитии ЭД, и пациент, страдающий АГ, должен быть информирован врачом-терапевтом о возможных нарушениях эректильной функции. Не менее важным фактором риска является также и гипотензивная терапия, часто проводимая без учета влияния конкретного препарата на сексуальную функцию. Практический врач должен помнить о возможности влияния назначенной терапии на половую функцию мужчин и обсуждать эту проблему со своими пациентами [19]. Во многих случаях изменение режима приема препаратов может помочь больному преодолеть негативные изменения в сексуальной сфере, наблюдающиеся при некоторых видах лечения. Кроме того, целесообразно выбирать такое гипотензивное лечение, которое было бы не только высокоэффективным в плане снижения АД, но и сохраняло и повышало бы качество жизни больного [2]. Так, например, при развитии ЭД у больных АГ отменяют тиазидные диуретики и неселективные β-адреноблокаторы. В этой ситуации предпочтение отдают антагонистам кальция, ингибиторам ангиотензин-превращающего фермента и альфа-адреноблокаторам, которые в меньшей степени влияют на половую сферу [19, 27], или ингибиторам ангиотензиновых рецепторов, которые могут даже несколько повышать сексуальную активность мужчин [22].

*Поступила 04.11.04*

## Էրեկտիլ դիսֆունկցիան զարկերակային հիպերտենզիայով հիվանդների մոտ

Ա.Լ. Վյորտկին, Վ.Ա. Բուրմիստրով, Ռ.Ռ. Բաղալյան

Ակնհայտ է, որ արյան բարձր զարկերակային ճնշումը հանդիսանում է կարևոր ռիսկի գործոն էրեկտիլ դիսֆունցիայի զարգացման մեջ, և բուժող բժշկի համար անհրաժեշտ է համարվում հիպերտենզիայով տառապող հիվանդներին տեղյակ պահել հնարավոր

խանգարման վերաբերյալ:

Հակահիպերտենզիվ բուժումը ինքնին կարող է հանգեցնել էրեկտիլ դիսֆունցիայի զարգացման, ինչը պետք է հաշվի առնվի բուժող բժշկի կողմից՝ տղամարդ հիվանդների բուժման տակտիկան ընտրելիս:

## Erectile dysfunction in hypertensive patients

A.L. Vertkin, V.A. Burmistrov, R.R. Badalyan

It is obvious that hypertension is an important risk factor for erectile dysfunction, and that hypertensive patients should be informed by the therapist concerning the possible dysfunction. Nevertheless antihypertensive therapy can become a risk factor too.General practitioners should always remember about possible influence of the treatment on the men sexual function. It is advisable to choose a treatment which will have not only hypotensive effectiveness, but also would improve the quality of life of the patient.

## Литература


1. *Арабидзе Г.Г., Арабидзе Гр.Г.* Клин. фарм. тер., 1999, 3, с. 49.
2. *Вертkин А.Л.* В сб.: Эректильная дисфункция, диагностика и лечение. М., 2004, с. 82.
3. *Bauer G.E., Hunyor S.N., Baker J., et al.* Clin. Sci Mol. Med., 1978, v. 55, p. 341S.
4. *Braun M., Wassmer G., Klotz T., Reifenrath B., Mathers M., Engelmann U.* Int. J. Impot. Res., 2000, v. 12, 6, p. 305.
5. *Bulpitt C.J., Dollery C.T., Carne S.* Br. Heart J., 1976, v. 38, 2, p. 121.
6. *Burchardt M., Burchardt T., Baer L., et al.* J. Urol., 2000, v. 164, 4, p. 1188.
7. *Burt V.L., Whelton P., Rocella E. et al.* Hypertensio, 1995, v. 25, 3, p. 305.
8. *Caro J., Vidal J., Vicente J. et al.* J. Med. Sci., 2001, v. 321, p. 336.
9. *Cellek S., Rodrigo J., Lobos E. et al.* Br. J. Pharmacol., 1999, v. 128, 8, p. 1804.
10. *Chew K.K., Earle C.M., Stuckey B.G., Jamrozik K., Keogh E.J.* Int. J. Impot. Res., 2000, v. 12, 1, p. 41.
11. *Costa P., Avances C., Wagner L.* Prog. Urol., 2003, v. 13, 1, p. 85.
12. *Croog S.H., Levine S., Sudilovsky A., et al.* Arch. Intern. Med., 1988, v. 148, 4, p. 788.
13. *Cuellar de Leon A.J., Ruiz Garcia V., Campos Gonzalez J.C., Perez Hoyos S., Brotons Multo F.* Med. Clin. (Barc.), 2002, v. 119, 14, p. 521.
14. *Della Chiesa A., Pfiffner D., Meier B., Hess OM.* J. Hum. Hypertension, 2003 Aug; 17(8): 515.
15. *Derby C.A., Barbour M.M., Hume A.L., McKinlay J.B.* Pharmacotherapy, 2001, v. 21, 6, p. 676.
16. *Dorrance A.M., Lewis R.W., Mills T.M.* Int. J. Impot. Res., 2002, v. 14, 6, p. 494.
17. *Dusing R.* Blood Press, Suppl. 2003 Dec; Suppl. 2:29.
18. *Feldman H.A., Goldstein I., Hatzichristou D.G., Krane R.J., McKinlay J.B.* J. Urol., 1994, v. 151, p. 151.
19. *Ferrario C.M., Levy P. J.* Clin. Hypertens. (Greenwich), 2002, v. 4, 6, p. 424.
20. *Flack J.M., Novikov S.V., Ferrario C.M.* Eur. Heart J., 1996, v. 17, Suppl A., p. 16.
21. *Fogari R., Corradi I., Poletti L. et al.* J. of Hypertension, 1999, v. 17, Suppl. 3, p. 65.
22. *Fogari R., Zoppi A.* Curr. Hypertens. Rep., 2002, V. 4, 3, p. 202.
23. *Grimm R.H. Jr., Grandits G.A., Prineas R.J., et al.* Hypertension, 1997, v. 29, 1, pt. 1, p. 8.
24. *Hale T.M., Okabe H., Bushfield T.L., Heaton J.P., Adams M.A.* J. Urol., 2002, v. 168, 1, p. 348.
25. *Jackson G., Giuilano F.* Eur. Heart. J. Suppl., 2002, v. 4, Suppl. H., p. 1.
26. *Jaffe A., Chen Y., Kisch E.S., Fischel B., Alon M., Stern N.* Hypertension, 1996, v. 28, 5, p. 859.
27. *Khan M.A., Morgan R.J., Mikhailidis D.P.* Curr. Med. Res. Opin., 2002, v. 18, 2, p. 103.
28. *Ko D.T., Hebert P.R., Coffey C.S., Sedrakyan A., Curtis J.P., Krumholz H.M.* JAMA, 2002, v. 288, 3, p. 351.
29. *Kung C.F., Luscher T.F.* Hypertension, 1995, v. 25, 2, p. 194.
30. *Laumann E.O., Paik A., Rosen R.C.* JAMA, 1999, v. 281, 6, p. 537.
31. *Leiblum S.R., Baume R.M., Croog S.H.* J. Sex Marital Ther., 1994, v. 20, p. 250.
32. *Li J.S., Sharifi A.M., Schiffrin E.L.* J. Cardiovasc. Pharmacol., 1997, v. 30, 1, p. 75.
33. *Linder L., Kiowski W., Buhler F.R., Luscher T.F.* Circulation, 1990, v. 81, 6, p. 1762.
34. *Llisterri J.L., Vidal J.V.L., Aznar Vincente J.A. et al.* Am. J. Med. Sci., 2001, v. 321, 5, p. 336.
35. *Marley J.E.* J. R. Soc. Med., 1989, v. 82, 5, p. 272.
36. *Meuleman E.J., Donkers L.H., Robertson C., Keech M. et al.* Ned .Tijdschr. Geneeskd., 2001, v. 145, 12, p. 576.
37. *Mickley H.* Ugeskr. Laeger, 2002, v. 164, 41, p. 4760.
38. *Muller S.C., E.L. Damanhoury H., Ruth J., Lue T.F.* Eur. Urol., 1991, 19:29 34.
39. *Nelson E.C., Stason W.B., Neutra R.R., Solomon H.S.* Prev. Med., 1980, v. 9, 4, p. 504.
40. *Nusbaum M.R.* J. Am. Osteopath. Assoc., 2002, v. 102, 12, Suppl. 4, S1.
41. *Okabe H., Hale T.M., Kumon H., Heaton J.P., Adams M.A.* Int. J. Impot. Res., 1999, v. 11, 3, p. 133.
42. *O'Keefe M., Hunt D.K.* Med. Clin. N. Am., 1995, v. 79, 2, p. 415.
43. *Prisant L.M., Carr A.A., Bottini P.B. et al.* Arch. Intern. Med., 1994, v. 154, 7, p. 730.
44. *Ralph D., McNicholas T.* BMJ, 2000, v. 321, 19, p. 499.

45. *Riley A.J., Steiner J.A., Cooper R. et al.* Sex Marital Ther., 1967, v. 2, p. 131.
46. *Rosen R.C., Fisher W.A., Eardley I., Niederberger C., Nadel A., Sand M.* Curr. Med. Res. Opin., 2004, v. 20, 5, p. 607.
47. *Rosen R.C.* Blood Press, Suppl., 1997, v. 1, p. 47.
48. *Roth A., Kalter-Leibovici O., Kerbis Y., Tenenbaum-Koren E. et al.* Clin. Cardiol., 2003, v. 26, 1, p. 25.
49. *Seftel A.D., Sun P., Swindle R.* J. Urol., 2004, v. 171, 6 Pt 1, p. 2341.
50. *Swanson-Fisher R.W., Clover K.* Am. J. Hypertens., 1995, v. 8, 10 Pt. 2, p. 82S.
51. *Taddei S., Virdis A., Ghiadoni L., Magagna A., Salvetti A.* Hypertension, 1997, v. 29, 1 Pt. 2, p. 274.
52. *Toblli J.E., Stella I., Inserra F., Ferder L., Zeller F., Mazza O.N.* Am. J. Hypertens, 2000, v. 13, 6, Pt. 1, p. 686.
53. *Van Bortel L.M., Struijker-Boudier H.A., Safar M.E.* Hypertension, 2001, v. 38, 4, p. 914.
54. *Walczak M.K., Lokhandwala N., Hodge M.B., Guay A.T.* J. Gend. Specif. Med., 2002, v. 5, 6, p. 19.
55. *Wassertheil-Smoller S., Blaufox M.D., Oberman A. et al.* Ann. Intern. Med., 1991, v. 114, 8, p. 613.
56. *Weinberger M.H.* Am. J. Med., 1989, v. 86, N 1B, p. 94.

УДК 616-009.17+617.586

# Роль изменений кожи стопы в развитии дефицита инструментального обучения при повторной экспериментальной гипокинезии

Н. Б. Ерицян

*Кафедра патофизиологии ЕрГМУ им. М. Гераци*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

Ключевые слова: гипокинезия, кожа, эпидермис, инструментальное обучение, стресс, адаптация

В современную эпоху усиленного развития науки и новых технологий экология человека претерпевает изменения, включающие наряду с появлением различных новых стрессоров, также и значительное ограничение одной из важных функций организма, а именно двигательной активности. Повсеместное развитие транспортных систем, пультового управления, мониторинга, низкий уровень ручного труда, длительное вынужденное положение тела у телевизионных и компьютерных экранов приводят к неудовлетворению потребности организма в движении, т. е. к гипокинезии, которая на ранних этапах вызывает в организме развитие стресса, постепенно переходящего в условиях продолжающегося воздействия в гипокинетический синдром [5,7,38]. Доказано участие длительной гипокинезии в патогенезе множества заболеваний ЦНС, эндокринной, сердечно-сосудистой, дыхательной, иммунной, опорно-двигателной систем, обмена веществ и т. п. [7,9,12,14,20,22,27,28,33,38].

Известно, что существенную роль в изменениях реактивности организма при стресс-реакции играют структурные и функциональные изменения интегративных систем организма и в первую очередь ЦНС. Значительное уменьшение афферентации с кожных рецепторов и депривация локомоций при гипокинезии ведет к нарушению поддержания тонуса и функции всех без исключения отделов центральной нервной системы [5,7,14,23,31,33]. Как следствие, развиваются изменения различной степени со стороны поведенческой активности, памяти, обучения, процессов, столь необходимых для адаптации к новым факторам и условиям существования [13,14,15,18,29]. Сохранание органного и системного гомеостаза при этом требует наличия системы, способной распознавать и интегрировать соответствующие воздействия с высоким уровнем специфичности, дифференцируя многообразие влияющих на организм стимулов от биологически уместных сигналов. Такой способностью обладает кожа, богатая рецептивными полями и выполняющая барьерную функцию [35]. Кожа, в особенности эпидермис, имеет мощный метаболический, эндокринный и иммунный потенциал [25,26] и играет уникальную роль благодаря своей локализации, размерам и необходимому для поддержания общего и местного гомеостаза модулирующему воздействию на нейроэндокринные центры. Более того, кожа является одним из органов, продуцирующим все пептидные гормоны центральной системы стресс-ответа, а именно гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой оси и множество биологически активных соединений и цитокинов, одновременно являясь мишенью для эффектов этих веществ [35,36]. Кожа богато иннервирована чувствительными нервами [16,32], которые передают информацию о воздействии стрессоров окружающей среды в ЦНС для развития системной реакции организма, соответствующей внешнему окружению. Одновременно гормоны, секретируемые во время системного ответа, и нейротрансмиттеры автономных нервных волокон, иннервирующих кожу, воздействуют на систему кожи и модулируют или нарушают их функцию [35].

Состояние кожи при гипокинезии в литературе освещено скудно и односторонне, преимущественно с позиций вторичных изменений, развивающихся в результате нарушения функций жизненно важных органов [6,31]. Более того, вопросы участия системы кожи как основного источника экстероцептивной информации в процессе обучения, отражающего состояние адаптации всего организма при ограничении двигательной активности и вовсе не изучены.

Целью данной работы явилось исследование изменений, индуцированных гипокинезией в коже внутренней поверхности стопы (наиболее богатого рецептивными полями участка) и их возможного участия в нарушении процесса инструментального обучения в парадигме поведения активного избегания, основан-

ного на электрокожной стимуляции. Изучено влияние различных сроков гипокинетического режима на: 1) состояние эпидермиса и дермы кожи стопы посредством гистологического и гистохимического исследования; 2) показатель толщины эпидермиса посредством количественой гистоморфометрии; 3) способность кожи к восстановлению измененных показателей и функций в 15-дневный постгипокинетический период; 4) состояние инструментального обучения в оборонительно-двигательном паттерне поведения активного избегания посредством оценки продолжительности и показателя эффективности процесса обучения; 5) степень восстановления расстройств инструментального обучения в 15-дневный постгипокинетический период. Взаимосвязь между изменениями в коже стопы и нарушением процесса обучения при гипокинезии и в постгипокинетическом периоде выявлялась методом количественного корреляционного анализа.

## Материалы и методы

Эксперименты проведены на 35 6–8 месячных белых беспородных крысах-самцах массой 290±20*г*. Животные были разделены на 3 группы (по 5 крыс в каждой). Первую группу составили контрольные крысы; вторую – животные, подвергнутые повторной гипокинезии длительностью 7, 15, и 70 дней; третью – животные, подвергнутые гипокинезии указанных продолжительностей и 15- дневному постгипокинетическому содержанию в стандартных условиях вивария [34]. Все крысы, начиная с 2-недельного возраста, приручались во избежание развития дополнительного стресса при проведении исследовательских процедур и декапитации. Повторная гипокинезия моделировалась помещением крыс в тесные клетки-пеналы на 22 *ч* в сутки [7]. Пищевой и водный режимы не отличались от таковых для контрольных крыс. По истечении экспериментального срока животные забивались декапитацией. Кусочки кожи площадью 1 $см^2$ забирались с внутренней поверхности стопы и фиксировались для дальнейшего гистохимического исследования по методу Нонидеца в спиртовом растворе хлоралгидрата [8] и в 10% растворе кислого формалина [11]. Приготавливались тонкие парафиновые срезы на микротоме ОКП 94 3328 0001 ТУ 64-1-1629-78. Для гистологического исследования препараты окрашивались гематоксилин-эозином. Полученные препараты исследовались под световым микроскопом XCZ-107 Pleuger-Belgium. Морфометрическое определение толщины эпидермиса по Г.Г. Автандилову [1] проводилось с использованием окуляра-микрометра SprzetOK15KM Nr 4424 Ilosc 1 и соответствующего ему объекта-микрометра P.Z.O. 0.01 mm (Poland). Толщина эпидермиса измерялась в 10 полях зрения.

Инструментальное обучение исследовалось в парадигме поведения активного избегания (ПАИ). Оборонительно-двигательный паттерн поведения при этом вырабатывался во всех группах животных на основе электрокожного раздражения в специальной "оборонительной камере" [4]. Камера была разделена на 2 равные половины одинаковой формы и окраски. В перегородке камеры имелась скрытая поднимающаяся дверца. Пол обеих половин был покрыт металлическими перекладинами. Металлические перекладины одной из половин снабжались электрическим током силой 0.08*А* и напряжением 50*В*, служащим подкрепляющим стимулом. Действие электрического тока данного напряжения проявлялось функциональной реакцией вздрагивания и не вызывало повреждения кожи [2]. Эмоциональный стресс при электрокожной стимуляции, согласно данным литературы, также не оказывал существенного влияния на поведенчесую деятельность [3]. В качестве дифференцировочного стимула при выработке ПАИ применялся свет. Временные характеристики действия стимулов обеспечивались применением электрохронометражной установки [2], настроенной на режим чередования светового и электрического стимулов длительностью действия 1 *сек* и односекундных межстимульных интервалов [12]. В данном паттерне поведения животные приучались давать правильный ответ на дифференцировочный стимул, находя скрытую дверцу, поднимая ее мордочкой и переходя в безопасную половину камеры. Инструментальное обучение проводилось в блоках серий (по 30–40 серий ежедневно) в течение последних 3 дней гипокинетического режима. Критерием обученности с полностью сформированным ПАИ считалось наличие 8–9 правильных переходов на световой стимул в последних 10 сериях. Регистрировалось общее количество серий, необходимых для достижения критерия обученности, и средние значения показателя эффективности формирования ПАИ, представляющего собой процентное соотношение серий с правильным поведенческим актом к общему количеству серий, необходимых для достижения критерия обученности [10].

Статистическая обработка полученных данных проводилась с использованием компьютерной программы Microsoft Excel 2003. Результаты гистоморфометрии приведены в виде средней арифметической для группы±ошибка средней. Результаты поведенческого тестирования выражены в виде абсолютных значений общего количества серий, необходимых для достижения критерия обученности, и средних арифметических значений показателей эффективности обучения для группы ± ошибка средней. Достоверность разницы показателей оценивалась между контрольной и остальными экспериментальными группами (P), а также между значениями, полученными в постгипокине-

тический период, и соответствующим сроком гипокинезии ($P_1$); между значениями, полученными при 15- и 70- дневной гипокинезии, с данными при 7-дневной гипокинезии ($P_2$); между значениями при 15- и 70-дневной гипокинезии ($P_3$) с использованием двустороннего t-критерия Стьюдента для независимых выборок. Различия считались достоверными при уровне значимости $P<0.05$. Методом корреляционного анализа определялась также степень взаимосвязи между изменениями среднего показателя толщины эпидермиса и продолжительностью и средним показателем эффективности инструментального обучения во всех экспериментальных группах [37]. Вычислялся коэффициент корреляции, и оценивалась его достоверность (P).

## Результаты и обсуждение

Морфологическое и морфометрическое исследование кожи внутренней поверхности стопы выявляет значительное утолщение эпидермиса по сравнению с контролем на 7-й день гипокинезии. Толщина эпидермиса в этом сроке эксперимента составляет 95.4±3.9 *мкм* ($p<0.01$), в то время как в контроле этот показатель равен 47.7±0.7 *мкм* (рис. 1). В зернистом и шиповатом слоях эпидермиса наблюдается баллонная дистрофия эпидермоцитов с очагами кариопикноза и кариолиза (рис. 2 A). Визуализируется слабо выраженный подкожный жировой слой. В дерме заметна реакция сосудов микроциркуляторного русла в виде полнокровия и околососудистых мононуклеарных клеточных инфильтратов с отеком и разрыхлением дермы. В постгипокинетическом периоде отмечается утолщение эпидермиса (87.3±1.8 *мкм*, $P<0.001$) по сравнению с контролем, однако по сравнению с данными в гипокинетической группе этого срока толщина эпидермиса не претерпевает существенных изменений ($P_1>0.05$) (рис. 1).

Рис.1.Средние показатели толщины эпидермиса при 7-, 15- и 70- дневной гипокинезии и в постгипокинетическом периоде

На 15-й день гипокинезии имеет место утолщение эпидермиса (119±0.7 *мкм*, $P<0.001$, $P_2<0.01$) за счет разрастания базального и шиповатого слоев. Отмечается активация кератиноцитов и очаговый гиперкератоз (рис. 2 B, C). Слой дермы утоньшен за счет инфильтрации жировой тканью. В коже стопы крыс, подвергнутых 15-дневной гипокинезии, в постгипокинетическом периоде определяются признаки белковой дистрофии и некроза эпидермоцитов базального и зернистого слоев. Толщина эпидермиса (113.1±0.1 *мкм*) уменьшена по сравнению с значением того же показателя при 15-дневной гипокинезии ($P_1<0.01$), однако продолжает достоверно превышать контрольное значение ($P<0.001$). В дерме наблюдается реакция сосудов микроциркуляторного русла. Отмечается наличие большого числа грубоволокнистых коллагеновых структур, уменьшение числа клеток соединительной ткани (гистиоцитов, фибробластов) и инфильтрация дермы жировой тканью (рис. 2D).

На 70-й день гипокинезии выявляется утолщение эпидермиса (101.3±0.6 *мкм*, $P<0,001$) по сравнению с контролем в основном за счет увеличения числа клеток шиповатого и базального слоев (рис. 1). Однако по сравнению со значением данного показателя при 15-дневной гипокинезии толщина эпидермиса значительно уменьшена ($P_3<0,001$), почти повторяя значение при 7-дневной гипокинезии. При этом в очагах утолщения эпидермиса заметна активная пролиферация кератиноцитов с явлениями гиперкератиниза-

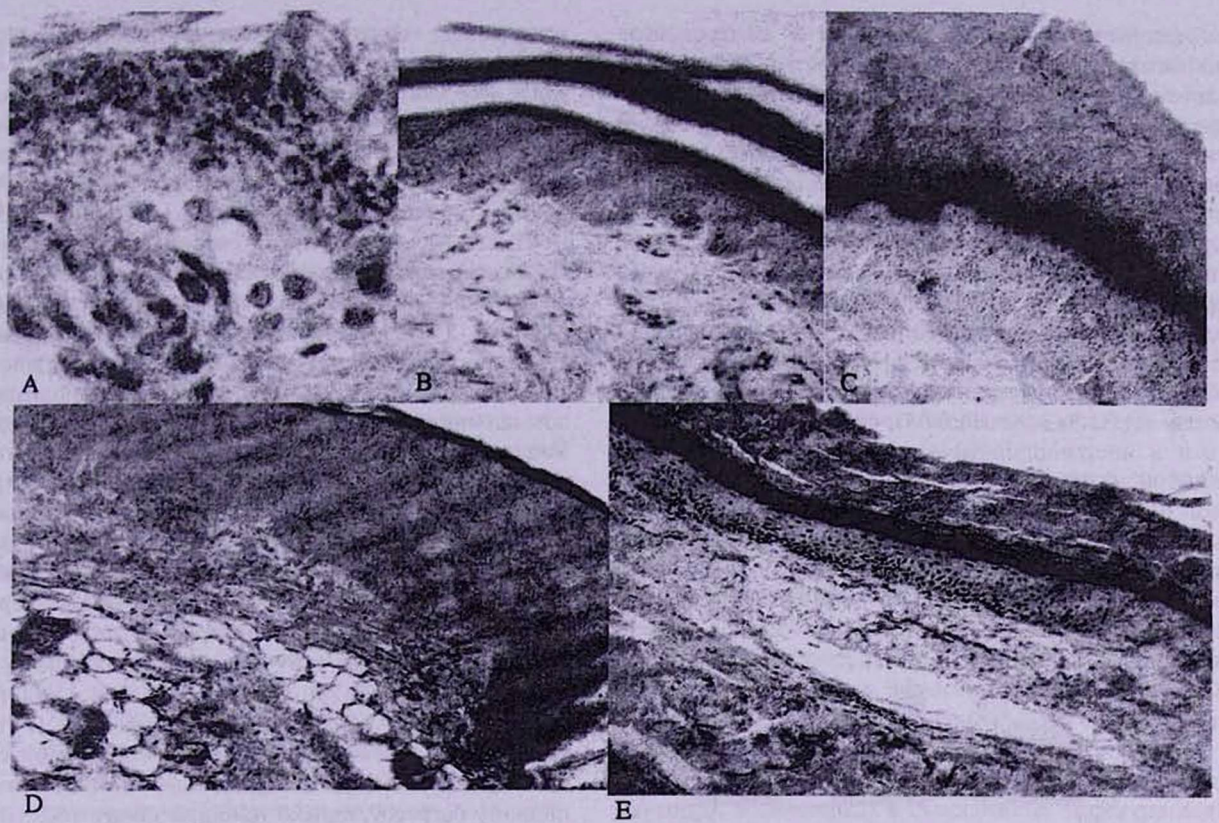



Рис. 2. Морфологические изменения кожи стопы при гипокинезии различной продолжительности и в постгипокинетическом периоде. А. Баллонная дистрофия эпидермоцитов на 7-й день гипокинезии (окраска по Нонидецу, х400). В. Эпидермис кожи стопы контрольных крыс (г-э, х250). С. Очаговый гиперкератоз кожи стопы на 15-й день гипокинезии (окраска по Нонидецу, х250). D. Жировая инфильтрация дермы в постгипокинетический период после 15-дневной гипокинезии (окраска по Нонидецу, х250). Е. Атрофия сосочков дермы с жировой инфильтрацией на 70-й день гипокинезии (окраска по Нонидецу, х250).

ции. На этом фоне идет атрофия сосочков дермы, отмечается большое число коллагеновых структур с фиброзом дермы и хорошо развитый подкожный жировой слой (рис. 2 Е). В 15-дневный постгипокинетический период толщина эпидермиса увеличивается как по сравнению с контрольными значениями ($P<0.001$), так и по сравнению с данными, полученными в гипокинетической группе этого срока ($P_1<0.001$), составляя 137.7±1.6 *мкм* рис. 1).

При поведенческом тестировании после 7-дневной гипокинезии обнаруживается увеличение общего количества серий, необходимых для достижения критерия обученности, с 30 у контрольных животных до 50 серий. В постгипокинетическом периоде намечается снижение данного показателя до 40 серий. Для выработки ПАИ после 15-дневной гипокинезии требуется 80 серий инструментального обучения, количество которых снижается в постгипокинетический период всего лишь до 60. Наибольшее количество (110) серий регистрируется при выработке ПАИ у крыс, подвергнутых 70-дневной гипокинезии, причем данный показатель не претерпевает изменений в постгипокинетическом периоде (рис. 3).

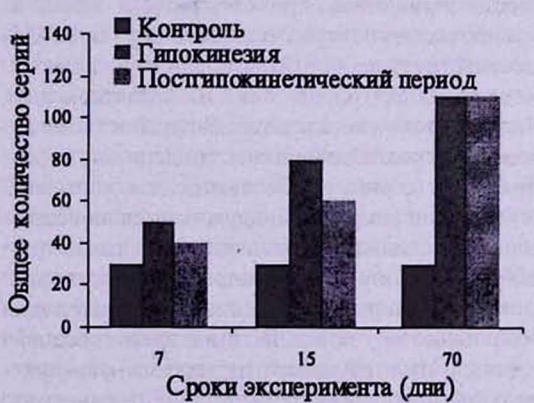



Рис. 3. Общее количество серий, необходимых для достижения критерия обученности в парадигме поведения активного избегания при 7-, 15- и 70- дневной гипокинезии и в постгипокинетическом периоде

Эффективность выработки ПАИ у контрольных животных максимальная и составляет 63±2.4%. После 7-дневной гипокинезии наблюдается достоверное снижение показателя эффективности до 44.7±3.7% с тенденцией возврата к контролю в постгипокинетическом периоде (59.4±3.6%, P>0.05) (рис 4.). Пятнадцатидневная гипокинезия вызывает падение эффективности выработки ПАИ до 36.6±7.5% (P<0.05) без особой тенденции к восстановлению в постгипокинетическом периоде (45.6±4.9%, P<0.05, $P_1$>0.05). У животных, подвергнутых 70-дневной гипокинезии, данный показатель не выявляет существенного различия со значением, полученным при 15-дневной гипокинезии, и составляет 31.3±3.9% (P<0.05), достоверно не изменяясь и в постгипокинетическом периоде (46.9±5.4%, P<0.05, $P_1$>0.05).

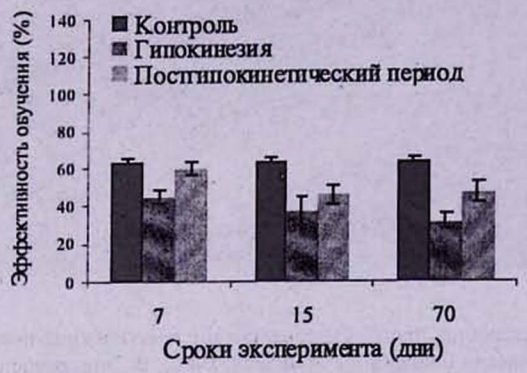



Рис. 4. Эффективность выработки поведения активного избегания при 7-, 15- и 70- дневной гипокинезии и в постгипокинетическом периоде

Выработка оборонительно-двигательного паттерна поведения в данном эксперименте проводилась на основе электрокожной стимуляции, что предполагает вовлеченность изменений, происходящих в коже, в нарушении процесса инструментального обучения. Об этом свидетельствует необратимость сдвигов как морфометрических показателей, так и характеристик ПАИ в поздние сроки гипокинезии. В частности, между изменениями средней толщины эпидермиса и общим количеством серий, необходимых для достижения критерия обученности, обнаруживается положительная прямая сильная корреляционная связь (r= 0.76, P<0.05), т. е. утолщение эпидермиса при гипокинезии строго коррелирует с увеличением продолжительности процесса обучения. В то же время средняя толщина эпидермиса выявляет отрицательную прямую корреляционную связь средней степени с показателем эффективности выработки ПАИ (r = - 0.64), которая, однако, недостоверна (P>0.05).

Результаты исследований показывают, что повторное ограничение двигательной активности вызывает местные количественные и качественные изменения в эпидермисе, внутридермальных придатках, дерме, сосудистых структурах и подкожном жировом слое кожи. Все указанные структуры вовлечены в единую местную систему ответа кожи на стресс, деятельность которой осуществляется на клеточном, тканевом и органном уровнях и регулируется сложной комбинацией ауто- , пара- и эндокринных механизмов [35,36].

Изменения в коже при 7-дневной гипокинезии могут расцениваться с позиций развивающейся в организме экспериментальных животных острой стресс-реакции [5,7,15], характеризующейся преобладанием явлений полома структур, таких как балонная дистрофия эпидермоцитов с кариопикнозом и кариолизисом, повышение проницаемости сосудов и отек дермы. Утолщение эпидермиса обусловлено в основном развитием этих дистрофических процессов. Согласно литературным данным, острая стресс-реакция, развивающаяся на коже в этом сроке гипокинезии ведет к высвобождению катехоламинов из окончаний кожных нервов, а также их синтезу в эпидермальных кератиноцитах. Последние также экспрессируют в основном $\beta_2$-адренорецепторы, стимуляция которых ведет к увеличению образования ц-АМФ и кальций-опосредованному повреждению клеток [25]. В то же время в постгипокинетическом периоде наблюдаемые при 7-дневной гипокинезии изменения подвергаются полному регрессу, однако толщина эпидермиса уменьшается несущественно, возможно, за счет компенсаторного включения системы восстановления нарушенных функций и интенсификации синтетических процессов.

Анализ временной характеристики и показателя эффективности инструментального обучения при 7-дневной гипокинезии выявляет увеличение продолжительности и снижение эффективности формирования ПАИ, что, повидимому, обусловлено комплексными изменениями как периферических, так и центральных звеньев оборонительно-двигательного паттерна поведения [23,31,38]. Система кожи задействована в деятельности периферического звена, обеспечивающего нормальное восприятие электрического стимула, используемого в качестве негативного подкрепления при выработке ПАИ в настоящем исследовании. Стресс-индуцированное утолщение эпидермиса и воспалительные изменения в дерме при 7-дневной гипокинезии определенно нарушают процесс восприятия электрического стимула, что ведет к увеличению общего количества серий, необходимых для достижения критерия обученности, и снижению эффективности обучения. Кроме того, развитие стресс-реакции в коже сопровождается секрецией из нервных окончаний различных нейротрофинов, нарушающих процесс формирования свободных нервных окончаний в эпидермисе [17].

В постгипокинетическом периоде происходит поч-

ти полное восстановление исследуемых характеристик инструментального обучения, чему, вероятно, способствует обратное развитие дистрофических процессов в эпидермисе и сосудистой реакции в дерме. В восстановлении формирования ПАИ, очевидно, задействованы также механизмы постстрессорного повышения чувствительности кожных рецепторов и нервных центров, участвующих в обучении, так как толщина эпидермиса в постгипокинетическом периоде незначительно отличается от значения данного показателя при 7-дневной гипокинезии.

Литературные данные свидетельствуют, что 15-дневный гипокинетический режим харатеризуется трансформацией срочной адаптации организма в относительно долговременную [5,7,15,33], и изменения кожи стопы в данном сроке эксперимента можно объяснить поэтапным включением в реализацию общей и местной стресс-реакции системы проопиомеланокортиновых пептидов (ПОМК), соматотропина, его тканевых посредников – инсулин-подобных факторов роста и других системных и тканевых механизмов. Так, секреция ПОМК - зависимых пептидов из эпидермальных и фолликулярных кератиноцитов, меланоцитов, себоцитов, эндотелиоцитов кожных сосудов, фибробастов и иммунных клеток кожи, в частности АКТГ, по-видимому, опосредует наблюдаемое при 15-дневной гипокинезии утолщение эпидермиса за счет стимуляции пролиферации кератиноцитов базального слоя, утоньшение слоя дермы в результате снижения синтеза ДНК в дермальном компарменте кожи и разрастание подкожной жировой ткани в результате индукции адипогенеза [36]. Не исключено также, что утолщение эпидермиса и разрастание подкожного жирового слоя вызваны действием соматотропина, адипогенный эффект которого реализуется опосредованно через действие инсулин-подобного фактора роста I, усиливающего пролиферацию клеток-предшественников адипоцитов у крыс [21]. Утолщение эпидермиса и подкожного жирового слоя определенно играет не последнюю роль в снижении обучаемости экспериментальных животных в этом сроке гипокинезии. Частичное улучшение временной характеристики инструментального обучения в постгипокинетическом периоде после 15-дневной гипокинезии, возможно, объясняется включением центральных компенсаторных механизмов, так как дистрофические изменения в эпидермисе, сосудистая реакция с признаками фиброза и инфильтрация дермы жировой тканью вряд ли способствуют улучшению восприятия электрических стимулов.

Развивающиеся при длительной 70-дневной гипокинезиии изменения обусловлены одновременным действием всего комплекса стресс-реализующих гормонов и, в особенности, основных эффекторов долговременной адаптации – глюкокортикоидов [19,24,33,35]. Рецепторы к этим гормонам в коже экспрессируются в эпидермальных и фолликулярных кератиноцитах, себоцитах, клетках потовых желез, иммунных клетках эпидермиса и дермы, дермальных фибробластах [30]. На их вовлеченность в ответ кожи при длительной гипокинезии указывают такие изменения, как утоньшение слоя дермы и интенсивное развитие подкожного жирового слоя [24]. Происходящие сдвиги, по нашему мнению, вызывают существенное нарушение спонтанной и индуцированной электрической стимуляцией афферентной импульсации, что, наряду с расстройством центральных механизмов формирования ПАИ [14,15,23,29,38], ведет к необратимости дефицита инструментального обучения в постгипокинетическом периоде после длительной гипокинезии.

Положительная достоверная связь между значением толщины эпидермиса и продолжительностью процесса обучения в исследуемых экспериментальных группах свидетельствует о том, что толщина эпидермиса в качестве одного из показателей периферического звена формирования оборонительно-двигательного паттерна поведения влияет в основном на продолжительность процесса приобретения навыка. Недостоверность корреляционной связи между толщиной эпидермиса и показателем эффективности ПАИ предполагает наличие других, более значимых факторов, вовлеченных в обеспечение эффективности поведенческого акта избегания, таких как характеристики рецепторного аппарата, проводящего звена, центральных механизмов восприятия и анализа информации.

Таким образом, реакция кожи стопы на повторную гипокинезию может рассматриваться с позиций формирования кожной системы стресс-ответа, включающей местные и общие механизмы, задействованные в осуществлении процесса адаптации. Деятельность данной системы зависит от продолжительности воздействия гипокинезии и характеризуется различной степенью восстановления измененных показателей в постгипокинетический период с фиксированной продолжительностью в 15 дней. Динамика изменений процесса инструментального обучения при гипокинезии отражает состояние общей системы адаптации. Причем обратимость этих изменений также зависит от срока гипокинетического режима. Наблюдаемые при гипокинезии сдвиги количественного показателя толщины эпидермиса кожи стопы во многом определяют нарушение временной характеристики формирования оборонительно-двигательного паттерна поведения активного избегания, основанного на электрокожной стимуляции. Кроме того, результаты настоящего исследования подтверждают наличие непосредственной функциональной связи между местной и общей системами адаптации при гипокинезии, отдельные механизмы и компоненты которой требуют дальнейшего детального изучения.

*Поступила 21.01.05*

## Ոտնաթաթի մաշկի փոփոխությունների դերը փորձարարական կրկնվող սակավաշարժության ժամանակ գործիքային ուսուցման դեֆիցիտի զարգացման գործընթացում

Ն.Բ. Երիցյան

Կրկնվող սակավաշարժության 7-, 15- և 70-րդ օրերին հետազոտվել են առնետների ոտնաթաթի մաշկում զարգացող մորֆոլոգիական և մորֆոմետրիկ փոփոխությունները, ակտիվ փախուստի վարքագծային թեստում մաշկի էլեկտրական դրդման կիրառմամբ գործիքային ուսուցման տևողությունն ու արդյունավետությունը և առաջացած տեղաշարժերի վերականգնման աստիճանը 15-օրյա հետսակավաշարժային շրջանում: Գնահատվել է կապը ոտնաթաթի մաշկում դիտվող վերնամաշկի հաստության փոփոխությունների և գործիքային հմտության ձեռքբերման միջև:

Սակավաշարժության 7-րդ օրը ոտնաթաթի մաշկում զարգացող փոփոխությունները բնութագրվում են վերնամաշկի հաստացմամբ, նրանում դիստրոֆիկ տեղաշարժերի առաջացմամբ և անոթային ռեակցիայով: Սակավաշարժության 15-րդ և 70-րդ օրերին տեղի են ունենում վերնամաշկի հաստացում, ենթամաշկային ճարպային հյուսվածքի գերաճ, դիտվում է բուն մաշկի ֆիբրոզ և հաստության նվազում: Սակավաշարժության տևողությունը պայմանավորում է մաշկում փոփոխված ցուցանիշների վերականգնման աստիճանը, ընդ որում, հետսակավաշարժային շրջանում վերականգնման միտումը առավել արտահայտված է 7-օր տևողությամբ սակավաշարժության ենթարկված առնետների մոտ: Առաջացած փոփոխությունները դիտարկվել են մաշկում տեղային և ընդհանուր հարմարողական մեխանիզմներ ընդգրկող սթրես-պատասխանի համակարգի ձևավորման տեսանկյունից: Հարմարվողականության ընդհանուր համակարգի վիճակը բնութագրող վարքագծային փոփոխությունների շարժընթացը սակավաշարժության ժամանակ դրսևորվում է գործիքային ուսուցման դեֆիցիտով, որի վերականգնման աստիճանը նույնպես կախված է սակավաշարժության տևողությունից և առավելագույնն է հետսակավաշարժային շրջանում 7-օրյա սակավաշարժության ենթարկված առնետների մոտ:

Վերնամաշկի միջին հաստության և գործիքային ուսուցման տևողության և արդյունավետության ցուցանիշների միջև քանակական համահարաբերակցական կապի գնահատումը պարզեց, որ վերնամաշկի հաստացումը սակավաշարժության ընթացքում հանգեցնում է ակտիվ փախուստի վարքագծի ձեռք բերման ժամանակային բնութագրի խաթարման՝ էապես չազդելով գործիքային ուսուցման արդյունավետության ցուցանիշի վրա:

## Role of hindpaw skin changes in instrumental learning deficit caused by experimental repeated hypokinesia

N. B. Yeritsyan

Morphological changes of hindpaw skin, efficacy and duration of instrumental learning process studied in the paradigm of active avoidance based on electrocutaneous stimulation were studied in rats on the 7th, 15th and 70th day of experimental repeated hypokinesia as well as the ability to recover hypokinesia-induced shifts in post-hypokinetic period lasting 15 days. The correlation between average thickness of epidermis and instrumental skill acquisition was checked.

On the 7th day of hypokinesia the changes in rat skin were characterized by thickening of epidermis, dystrophy of epidermal cells, and vascular response whereas on the 15th and 70th days of hypokinetic regimen the increase of average thickness of epidermis was associated with overgrowth of subcutaneous adipose tissue, fibrosis and thinning of derma. The duration of hypokinesia greatly affected the recovery of skin altered function and morphology, and the tendency to complete restoration was observed only in post-hypokinetic period after 7-day hypokinesia. In the present study hypokinesia-induced changes of skin considered in the framework of formation of skin stress-response system involving local and systemic adaptive mechanisms. The behavioural shifts referring to general state of organism adaptation displayed the irreversible deficit of instrumental learning process in lasting hypokinesia while the restoration of instrumental skill acquisition was well expressed in post-hypokinetic period after 7-day restriction of motor activity. The estimation of quantitative correlation between average value of epidermal thickness and time and efficacy characteristics of instrumental learning in hypokinesia and post-hypokinetic period showed that hypokinesia-induced thickening of epidermis results in failed time characteristics of active avoidance behaviour formation without significant effect on instrumental learning efficacy.

## Литература


1. *Автандилов Г.Г.* Основы количественной патологической анатомии. Уч. пособие. М., 2002.
2. *Буреш И., Бурешова О., Хьюстон Г.* Методы и основные эксперименты при исследовании мозга и поведения. М., 1991.
3. *Галеева А.Ю.*, Жуков Д.А. Ж. ВНД им. И.П.Павлова,1996, т.46, 5, с.929.
4. *Гамбарян Л.С.* Физиологические методы изучения высшей нервной деятельности. Ереван, 1963.
5. Жвания М.Г., Костенко Н.А. Морфология, 1997, т.111, 3, с. 25.
6. *Кламан И.К.* И кн.: Общие и частные вопросы онкоморфологии. Л., 1985, с. 73.
7. *Коваленко Е.А., Гуровский Н.Н.* Гипокинезия. М., 1980.
8. *Лилли Р.* Патогистологоческая техника и практическая гистохимия. М., 1969.
9. Манукян А.А. Мед. наука Армении, 2004, т. XLIV, 1, с.27.
10. Механизмы формирования и торможения условных рефлексов. М., 1973.
11. Микроскопическая техника. Руководство для врачей и лаборантов (под ред. Д.С. Саркисова и Ю. Л. Перова). М., 1996.
12. *Навасардян Г.А., Ерицян Н.Б.* Вестник МАНЭБ ISSN 1605-4369, 2003, т.8, 7, с.167.
13. *Хоничева Н.М., Поппаи М.Ж.* ВНД им. И.П.Павлова, 1979, т. 29, 5, с. 970.
14. *Abidin I., Yargicoglu P., Agar A., Gumuslu S., Aydin S., Ozturk O., Sahin E.* Int J. Neurosci., 2004, 114(5):683-99.
15. *Airapetyants M.G., Hecht K., Mekhedova A.Ya., Poppai M., Kolomeitseva I.A., Khonicheva N.M.* Neurosci. Behav. Physiol., 1982, Mar-Apr;12(2):154-61.
16. *Ansel J.C., Armstrong C.A., Song I., Quinlan K.L., Olerud J.E., Caughman S.W., Bunnett N.W.* J. Invest. Dermatol. Symp. Proc., 1997, 2:23–26.
17. *Botchkarev V. A., Botchkareva N.V., Welker P., Metz M., Lewin G. R. et al.* FASEB,1999, 13, 395–410.
18. *Chandramohan A., Srinivasan V., Thombre D.P.* Indian J. Physiol. Pharmacol.,1998, 42(2):214-22.
19. *Dal-Zotto S., Marti O., Armario A.* Psychoneuroendocrinology, 2003, 28(8):992-1009.
20. *De-Doncker L., Picquet F., Petit J., Falempin M. J.* Neurophysiol., 2003, 89:3000–3007.
21. Deplewski D., Rosenfield R.L. Endocrinology, 1999, 140(90):4089–4094.
22. *Dragojevic R., Zivkovic M.* Med Pregl., 2003, 56 (Suppl. 1):93-6.
23. *Dupont E., Canu M.H., Falempin M.* Brain Res., 2002, 926 (1-2):51-7.
24. *Feling P., Baxter J.D., Frohman L.A.* Endocrinology and Metabolism. McGraw-Hill,New York.,1995.
25. *Goldsmith L.A.* Physiology, Biochemistry, and Molecular Biology of the Skin.Oxford University Press, New York, 1991.
26. *Grando S.A.*. J. Am. Acad. Dermatol., 1993, 28:981–992.
27. *Hakopian V.P.* Hypokinesia & Cerebral Blood Circulation. National & Kapodistrian University of Athens, Athens, 2002,
28. *Hakopian V.P., Baykov A.V. Acta Physiol.* Hung., 2003, 90(1):35-45.
29. *Korte S.M.* Neurosci Biobehav. Rev., 2001, 25(2):117-142.
30. *Kumuves L.G., Hanley K., Jiang Y., Elias P.M., Williams M.L., Feingold K.R.* J. Invest. Dermatol., 1998, 111:429–433.
31. *Langlet C., Canu M.H., Falempin M.* Neuroscience Letters, 1999, 266(2):145-148.
32. *Lewin G.R. Philos Trans R.* Soc. Lond. B. Biol. Sci., 1996, 351:405–411.
33. *Mizoguchi K., Ishige A., Aburada M., Tabira T.* Neuroscience, 2003, 119(3):887-97.
34. *Sharp P.E., La Regina M.C.* The Laboratory Rat. CRC Press, New York, 1998.
35. *Slominski A., Wortsman J.* Endocrine Rev., 2000, 21:457–487.
36. *Slominski A., Wortsman J., Paus R., Luger T., Salomon S.* Physiol. Rev., 2000, 80:979–1020.
37. *Swinscow T.D.V., Campbell M.J.* Statistics at Square One. BJM Books, London, 2002.
38. *Yeritsyan N.B., Navasardyan G.A., Matosyan S.G.* Psychopharmacology & Biological Narcology, 2004, 2-3: 761-762.

УДК 615.03

# Исследование биодоступности салидрозида и розавина – активных компонентов экстракта Rhodiola rosea-SHR -5 у крыс

А.Г.Абраамян, А.С.Оганесян, А.Г.Паносян, Э.С.Габриэлян

*Экспертно-аналитическая лаборатория Научного центра по экспертизе лекарств и медицинских технологий АОЗТ*

*375051 Ереван, ул. Комитаса, 49/4*

*Ключевые слова*: Родиола розовая, фармакокинетика, высокоэффективный капиллярный электрофорез

Родиола розовая или Золотой корень (Rhodiola rosea L.) – один из широко используемых растительных адаптогенов, экстракты корней которого обладают антистрессорным, тонизирующим, стимулирующим, кардиопротекторным и антиаритмическим действием [4–10]. Известно, что препараты, изготовленные из экстракта корней Rhodiola rosea, увеличивают работоспособность при статистической и динамической нагрузке и стимулируют умственную деятельность[15–17]. В настоящее время химический состав и фармакологическая активность основных компонентов Rhodiola rosea достаточно хорошо изучены и установлено, что активными компонентами ее являются, в частности, фенолные гликозиды – салидрозид и розавин [3–12,15–17].

Известно, что для оценки вклада отдельных компонентов в суммарный эффект лекарственных растений необходимо, в первую очередь, исследовать их фармакокинетику и особенно биодоступность после однократного и многократного введения [14]. Однако несмотря на наличие многочисленных работ по исследованию фармакологических свойств активных компонентов экстракта корней Rhodiola rosea их фармакокинетика и биодоступность до сих пор не изучены.

Цель настоящей работы – исследовать фармакокинетику и биодоступность розавина и салидрозида у крыс после однократного и многократного перорального введения экстракта корней Rhodiola rosea.

## Материал и методы

Исследовали экстракт корней Rhodiola rosea L. roots (special Extract SHR-5 spissum, batch No EX 20465), предоставленный шведским институтом лекарственных растений, стандартизированный по розавину (20±3 *мг/г*) и салидрозиду (10±2 *мг/г*).

В работе были использованы следующие стандарты и реактивы: стандарты розавина и салидрозида (ВИЛАР, Москва, РФ, серия S10402), метанол (Rotisolv ® HPLC Gradient Grade, Carl Roth GmbH), ацетон (HPLC grade Carl Roth GmbH, Art. No. 7328.2), боратный буфер pH=9.3, деионизированная вода, раствор 0.1N NaOH (HEWLETT-PACKARD for HPCE), гепарин (Heparin Lock Flush Solution, 500 USP heparin units/5*ml*, Corpuject®, USA). Исходными стандартными растворами исследуемых соединений служили растворы их стандартов в метаноле в концентрации 5 *мг/мл*.

В эксперименте были использованы 258 белых беспородных крыс-самцов массой 110–170 *г*. Животные содержались в стандартных условиях и получали одинаковую пищу.

В исследованиях использовали две дозы экстракта корней Rhodiola rosea: 20 *мг/кг*, которая обеспечивает максимальный антиаритмический и антистрессорный эффекты у крыс и 50 *мг/кг*, эквивалентная суточной человеческой дозе (25 капель экстракта) [4]. С целью приготовления растворов для введения взвешивали 2.5 *г* экстракта Родиолы розовой (РР), переносили в мерную колбу и растворяли в 50 *мл* воды. Раствор тщательно перемешивали, 10 *мл* раствора переносили в мерную колбу на 100 *мл* и доводили водой объем до метки. Животным вводили раствор РР утром в 9.00 натощак в соответствии с их массой. Как видно из табл.1, животные получали препарат однократно: внутривенно в хвостовую вену в дозе 20 *мг/кг* и перорально с помощью зонда в дозе 20 и 50 *мг/кг* и многократно: перорально один раз в день в дозах 50 и 20 *мг/кг*. Отбор проб крови проводился согласно схеме, приведенной в табл. 1.

Концентрация розавина и салидрозида в вводимом растворе составляла 97,52 и 57,618 *мг/мл* соответственно.

Пробы крови отбирали в гепаринизированные пробирки после декапитации животных. Плазму крови отделяли после центрифугирования при 2000 x g в течение 10 *мин*. Для каждого временного интервала

*Таблица 1*

*Схема проведения эксперимента по изучению фармакокинетики экстракта РР*

| Группа No | Колич. животных в группе | Средний вес животных, *г* | Кратность введения | Доза РР, *мг/кг* | Путь введения | Вводимый объем, *мл/кг* | Доза салидрозида, *мг/мл/кг* | Доза розавина, *мг/мл/кг* | Время отбора крови после последнего введения препарата, ч |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 54 | 112 | 20 | однокр. | в/в | 2 | 0.230 | 0.390 | 0; 0.06; 0.33; 0.5; 0.75; 1.0;1.5; 2.0; 3.0 |
| 2 | 54 | 137 | 20 | однокр. | 10 | 10 | 0.230 | 0.390 | 0; 0.5; 1.0;1.25; 1.5; 2.0; 4.0; 5.0; 6.0 |
| 3 | 54 | 120 | 50 | однокр. | 10 | 10 | 0.576 | 0.975 | 0; 0.5; 1.0; 1.25; 1.5; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0 |
| 4 | 48 | 157 | 20 | многок.* | 10 | 10 | 0.230 | 0.390 | 0; 0.5; 1.0; 1.25; 1.5; 2.0; 4.0; 6.0; |
| 5 | 42 | 145 | 50 | многок.* | 10 | 10 | 0.576 | 0.975 | 0; 1.0; 1.5; 2.0; 4.0; 5.0; |

* животные получали препарат один раз в день в течение 5 дней

использовали 6 крыс.

С целью подготовки проб плазмы крови для анализа к 1.5 *мл* плазмы крови добавляли 1.5 *мл* ацетона, встряхивали на вибрационном встряхивателе, к смеси снова добавляли 5 *мл* ацетона и повторно встряхивали. Полученную смесь центрифугировали при 3000 x g в течение 15 *мин*. Безбелковый супернатант отделяли, упаривали досуха на роторном испарителе при 40° С. Остаток растворяли в 100 *мкл* метанола и проводили количественное определение розавина и салидрозида валидированным методом высокоэффективного капиллярного электрофореза, описанным нами ранее [1]. Валидация метода была проведена согласно требованиям ICH Q2A/CPMP/281/95 и ICH Q2B/CPMP/281/95. В частности, точность определения салидрозида и розавина в плазме крови составляла 98%, предел количественного определения в плазме – 100 *нг/мл*. Калибровочные графики для розавина и салидрозида сохраняли линейность в диапазоне концентраций в плазме от 100 до 1000 *нг/мл*. Коэффициент корреляции для обоих соединений был выше 0.9985, причем стандартное отклонение было незначительным – менее 0.022.

Фармакокинетические параметры определяли с помощью компьютерной графической программы TOPFIT, версия 1.1 (Godke/Schering/Thomae GmbH, 1991г). Рассчитывали следующие параметры: константу скорости всасывания (Ka,$ч^{-1}$), максимальную концентрацию ($C_{max}$,*нг/мл*), кажущийся объем распределения ($V_{dss}$,*л*), общий клиренс ($Cl_t$, *мл/мин*), площадь под фармакокинетической кривой ($AUC_{0-\infty}$,*нг ·ч/мл*), скорость перехода из крови в органы и ткани и обратно ($K_{1/2}$ и $K_{2/1}$, $ч^{-1}$), период полувыведения ($t_{1/2}$,ч), среднее время удерживания (MRT,ч), абсолютную биодоступность (F, %).

Статистический анализ проводили с помощью программы GraphPad Prism Software (версия 3.0; 2002*г*).

## Результаты и обсуждение

***Салидрозид.*** Установлено, что после внутривенного введения экстракта концентрация салидрозида резко снижается в течение первых 0.5 ч от начальных 920 до 367 *нг/мл*, затем постепенно уменьшается и через 2 часа его уровень в крови составляет менее 100 *нг/мл*. После перорального введения концентрация салидрозида в плазме крови крыс достигает максимума через 1 ч как после введения дозы 20 *мг/кг*, так и 50 *мг/кг* и составляет 400.4 и 699.9 *нг/мл* соответственно. В обоих случаях в интервале 1–2 ч уровень салидрозида резко снижается, а затем экспоненциально уменьшается. Через 6 ч концентрация салидрозида в плазме составляет 140 и 160 *нг/мл* для доз 20 и 50 *мг/кг* соответственно (рис.1).

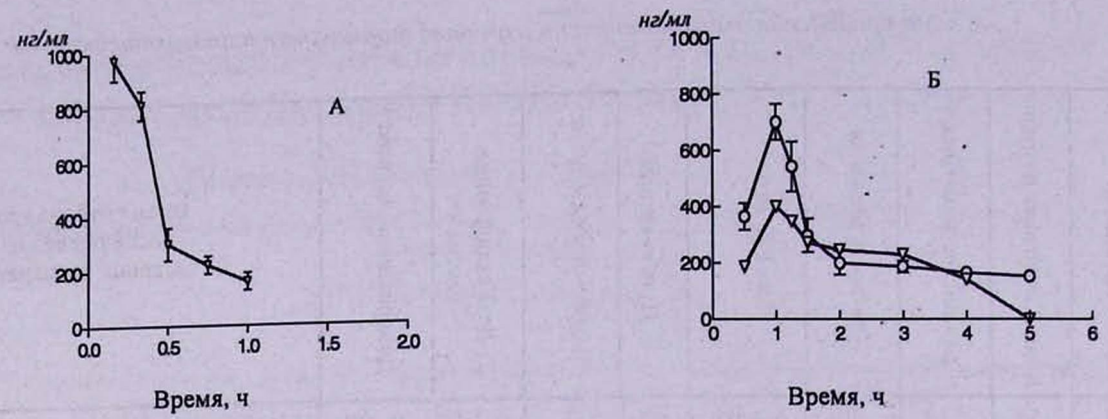



Рис. 1. Изменение концентрации салидрозида в плазме крови крыс после внутривенного (А) и перорального (Б) введения экстракта РР в дозах 20 (- ∇ -) и 50 *мг/кг* (-о-), n=6

Анализ полученного графика с помощью программ TOPFIT и AS [2] показал, что изменение концентрации салидрозида происходит согласно двухчастевой модели. Анализ фармакокинетических параметров, приведенных в табл. 2, позволяет заключить, что после введения внутрь экстракта РР в дозах 20 и 50 *мк/кг* салидрозид быстро и практически полностью всасывается в системный кровоток ($K_a$ – 0.7-2.0 $h^{-1}$, F – 78-93 %). Соединение быстро проникает в органы и ткани крыс и относительно медленно поступает обратно в кровь ($K_{1/2}/K_{2/1} > 2$ ). Как видно из табл. 2, фармакокинетика салидрозида после однократного и многократного введения имеет сходный характер, а в величинах фармакокинетических параметров салидрозида после однократного и многократного введения не отмечено статистически достоверных различий. Необходимо отметить также, что теоретически рассчитанная средняя равновесная максимальная концентрация салидрозида после 5-го введения экстракта РР незначительно отличается от данных, полученных экспериментальным путем. Несмотря на то, что скорость всасывания салидрозида может изменяться при использовании разных доз экстракта РР, величина его биодоступности остается постоянной независимо от кратности дозировки (табл.2).

*Таблица 2*

*Сравнение фармакокинетических параметров салидрозида после однократного и многократного введения внутрь экстракта РР*

| Параметры | Путь введения | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | однократно внутривенно | однократно внутрь | | многократно внутрь после 5-го введения | |
| Доза, *мг/кг* | 20 | 20 | 50 | 20 | 50 |
| Ka, $ч^{-1}$ | – | 2.058±0.058 | 0.947±0.07 | 0.734±0.136 | 1.699±0.184 |
| C max, *нг/мл* | 974.476±27.396 | 400.362±8.026 | 699.985±26.123 | 472.399±8.878 | 545.546±8.430 |
| Vdss, *л* | 0.087±0.020 | 0.023±0.001 | 0.025±0.006 | 0.040±0.002 | 0.059±0.012 |
| $AUC0_{0-\infty}$ *нг ×ч/мл* | 809.101±26.38 | 1121.606±26.98 | 1703.685±33.51 | 1013.000±23.11 | 2114.781±61.09 |
| $K_{1/2}$, $ч^{-1}$ | 0.738±0.316 | 4.776±0.769 | 1.446±0.267 | 0.582±0.200 | 1.301±0.0335 |
| $K_{2/1}$, $ч^{-1}$ | 1.493±0.265 | 0.715±0.022 | 0.392±0.088 | 0.185±0.024 | 0.661±0.160 |
| Clt, *мл/мин* | 1.681±0.084 | 0.562±0.065 | 0.531±0.011 | 0.350±0.008 | 0.536±0.017 |
| $t_{1/2}$, *ч* | 0.569±0.04 | 3.568±0.178 | 4.449±0.639 | 5.589±0.516 | 3.481±0.347 |
| MRT, *ч* | 0.805±0.05 | 5.752±0.472 | 6.421±0.922 | 8.446±0.978 | 5.025±0.050 |
| F, % | 100 | 93.110±5.189 | 78.375±4.056 | 89.478±2.868 | 82.043±8.161 |
| $C_{max}^{ss}$, *нг/мл* | – | 458.238 | 607.846 | 472.399± 21.750 | 545.546± 30.600 |

***Розавин.*** В течение первых 0.5 ч после внутривенного введения концентрация розавина резко снижается от 775 до 274 *нг/мл*, и уже через 1 ч в крови практически не удается определить неизмененный розавин. После введения внутрь максимальная концентрация розавина в плазме достигается через 1 ч после введения экстракта РР. В дальнейшем уровень соединения независимо от введенной дозы резко снижается и уже через 2 ч уменьшается до количеств ниже предела детектирования метода (100 *нг/мл*) (рис. 2).

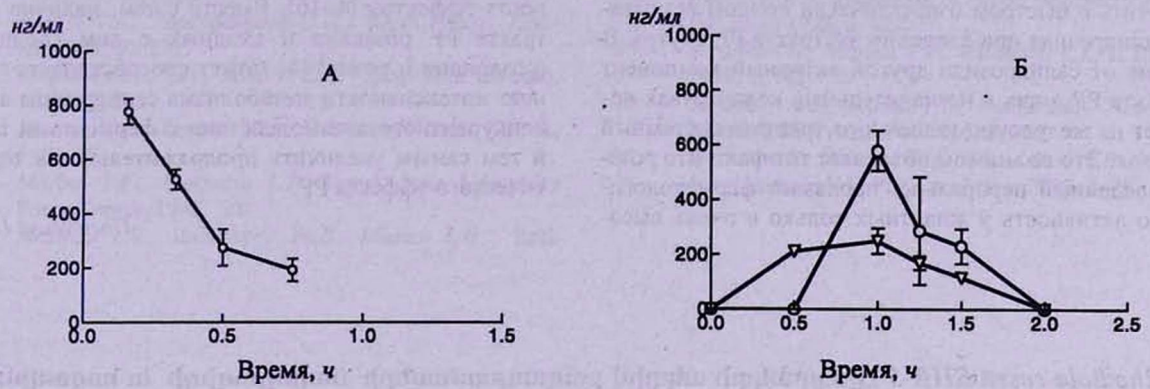



Рис. 2. Изменение концентрации розавина в плазме крови крыс после внутривенного (А) и перорального (Б) введения экстракта РР в дозах 20 (- ∇ -) и 50 *мг/кг* (-o-), n=6

*Таблица 3*

*Сравнение фармакокинетических параметров розавина после однократного и многократного введения экстракта РР*

| Параметры | Путь введения | | | |
|---|---|---|---|---|
| | однократно внутривенно | однократно внутрь | однократно внутрь | многократно внутрь |
| Доза РР, *мг/кг* | 20 | 20 | 50 | 50 |
| Ka, $ч^{-1}$ | – | 0.489±0.017 | 1.935±0.438 | – |
| C max, *нг/мл* | 525.328±15.146 | 249.601±19.442 | 579.160±30.262 | – |
| $V_{dss}$, *л* | 0.054±0.007 | 0.058±0.008 | 0.057±0.001 | – |
| $AUC_{0-\infty}$, *нг ×ч/мл* | 485.942±56.412 | 171.189±10.180 | 492.311± 73.511 | – |
| $Cl_t$, *мл/мин* | 1.297±0.110 | 1.374±0.080 | 1.762±0.116 | – |
| $t_{1/2}$, *ч* | 0.532±0.065 | 0.469±0.026 | 0.631±0.044 | – |
| MRT, *ч* | 0.768±0.006 | 0.677±0.038 | 0.684±0.166 | – |
| F, % | 100 | 20.317±1.926 | 26.022±6.561 | – |
| $C_{max}^{ss}$, *нг/мл* | – | 247.251 | 574.360 | 620.2 ± 131.0 |

Как видно из рис. 2 и табл. 3, после перорального введения в дозах, эквивалентных терапевтическим, разработанный метод позволяет проводить количественное определение розавина в крови только в интервале 0–1.5 ч. Во всех остальных отобранных пробах крови уровень розавина ниже 100 *нг/мл* (предел детектирования метода). Этот факт можно объяснить очень низкой биодоступностью розавина (F-26%) и высокой скоростью его элиминации из крови ($t_{1/2}$ – 0.5 ч, MRT –0.7 ч). Аналогичная картина наблюдается и после многократного введения экстракта РР. Так, после 5-го перорального введения экстракта РР определить концентрацию розавина удалось только в интервале 1–1.5 ч после использования дозы 50 *мг/кг/сут*, а при введении дозы 20 *мг/кг/сут* один раз в сутки обнаружить розавин удалось только через 1 ч (260 *нг/мл*). Теоретически ожидаемая средняя равновесная максимальная концентрация розавина была примерно равна экспериментальной (табл. 3). Согласно расчетам, через 2 ч после 5-го введения минимальная концентра-

ция розавина, высокая скорость его элиминации из крови, резкое повышение константы скорости всасывания при увеличении дозы – все это позволяет предположить о возможном пресистемном метаболизме розавина, вероятнее всего, в печени крыс (табл.3).

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить о быстром и практически полном всасывании салидрозида при введении экстракта РР внутрь. В отличие от салидрозида другой активный компонент экстракта РР лишь в незначительных количествах поступает из желудочно-кишечного тракта в системный кровоток. Это во многом объясняет тот факт, что розавин, введенный перорально, проявляет фармакологическую активность у животных только в очень высоких дозах (300 *мг/кг*) [4,9,10].

Можно предположить, что многие фармакологические эффекты экстракта РР обусловлены, по-видимому, действием салидрозида, что подтверждается и тем, что салидрозид, введенный индивидуально, обеспечивает идентичную с экстрактом РР выраженность эффектов [4–16]. Вместе с тем, наличие в экстракте РР розавина и сходных с ним соединений (розаридин и розин) [4] может способствовать снижению интенсивности метаболизма салидрозида за счет конкурентного взаимодействия с ферментами печени и тем самым увеличить продолжительность терапевтического эффекта РР.

*Поступила 15.12.04*

## *Rhodiola rosea SHR-5* էքստրակտի ակտիվ բաղադրամասերի՝ սալիդրոզիդի եւ ռոզավինի կենսամատչելիությունը առնետների մոտ

Հ. Գ. Աբրահամյան, Ա.Ս. Հովհաննիսյան, Ա.Գ. Փանոսյան, Է.Ս Գաբրիելյան

Rhodiola rosea էքստրակտը կիրառվել է դեռևս 18-րդ դարից: Մշակված է սալիդրոզիդի և ռոզավինի՝ Rhodiola rosea էքստրակտի ակտիվ բաղադրամասերի արյան պլազմայում որոշման նոր մեթոդ՝ մազանոթային էլեկտրաֆորեզի կիրառմամբ, որի օգնությամբ ուսումնասիրվել է նրանց ֆարմակոկինետիկան: Առնետներին 20 և 50մգ/կգ դեղաչափով Rhodiola rosea SHR-5 էքստրակտի օրալ ներմուծումից հետո սալիդրոզիդը արագ և ամբողջականությամբ(90%) ներծծվում է արյուն: Ռոզավինը՝ մյուս ակտիվ բաղադրիչը, ունի շատ ցածր կենսամատչելիություն (20-26%) և արագորեն դուրս է մղվում արյունից: Սալիդրոզիդի ֆարմակոկինետիկան և կենսամատչելիությունը համարյա նույնն են SHR-5-ի միանվագ և բազմանվագ ներմուծումից հետո:

## The bioavailability of salidroside and rosavin, active components of *Rhodiola rosea* extract -*SHR-5* in rats

H.G. Abrahamyan, A. S. Hovhannisyan, A.G. Panossian, E.S. Gabrielyan

The extract of Rhodiola rosea L. roots (SHR-5) have a well-established use back as far as 18th century. A validated method (high performance capillary electrophoresis) has been developed for determining salidroside and rosavin, the active constituents of SHR-5 extract in blood plasma of rats. Salidroside is quickly and completely absorbed in the blood (90%) after oral administration of SHR-5 in the doses 20 and 50 mg/kg in rats. Rosavin, the other active component, has very low bioavailability (20 - 26%). It is quickly eliminated from the blood of rats after administration of SHR-5. Pharmacokinetics and bioavailability of salidroside is actually the same both in single and multiple regimens of administration of SHR-5.

## Литература

1. *Абраамян А. Г., Оганесян А.С., Габриэлян Э.С., Паносян А.Г.* Лекарство и медицина, 2004, 3, с. 32.
2. *Оганесян А.С.* Вестник МАНЭБ, 2003, 8, 4, с.116.
3. Государственная фармакопея СССР, ГФ XI 1987, Rhodiola rosea rhizome and roots, С. 364-366 и Изменение № 2 к статье 75.

4. *Саратиков А.С.* Золотой корень, М., 1973.
5. *Krasik E.D., Morozova E.S., Petrova K.P., Ragulina G.A., Shemetova L.A., Shuvaev V.P.* Kemerovo City: Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 1970a, 298.
6. *Krasik E.D., Petrova K.P., Rogulina G.A.* Sverdlovsk Press, 1970b, 215.
7. *Kurkin V.A., Zapesochnaya G.G.* Khim Pharm. Zhurnal,1986, 20: 231.
8. *Maimeskulova L.A., Maslov L.N.* Eksp Klin Farmak., 1998, 61, 2, 37.
9. *Marina T.F.* Tomsk State University Press, Tomsk, 1986, 27.
10. *Marina T.F., Alekseeva L.P.* Tomsk State University Press, Tomsk, 1968. 22.
11. *Maslova L.V., Lishmanov Yu.B., Maslov L.N.* Bull. Eksp.Biol.Med., 1993,115,3, 269.
12. *Nechoda, M.F., Aksenova, R.A., Tschrdinzeff, S.G.* Die Pharmazie,1968, 23, 392-395.
13. Gablielian E., Hovhannisyan A, Abrahamyan H., Panossian A., Wikman G; Singapore 1-6 September, 2001, 412.
14. *Ritschell W.A.* Handbook of basic pharmacokinetics 5th Ed., N-Y, 1998, p. 427.
15. *Saratikov A., Marina T.F., Fisanova L.L.* J. Biol. Sci., 1978, 6, 142.
16. *Saratikov A.S., Marina T.F., Kaliko I.M.* Newslett Sib Branch USSR Acad Sci, 1965, 8, 120.
17. *Spasov A.A., Wikman G.K., Mandrikov V.B., Mironova I.A., Neumoin V.V.* Phytomedicine, 2000, 2, 85.

УДК 616.36.699.887.004

# Повреждающее воздействие эпилептогена коразола на металлопротеины крови in vitro

Л. А. Симонян, Г. М. Симонян, А. А. Симонян, М. А. Симонян

*Институт биохимии им. Г.Х. Буниятяна НАН РА*

*375014, Ереван, ул. П. Севака, 5/1*

*Ключевые слова*: кровь, металлопротеины, коразол, оксидативное повреждение

Механизмы токсического воздействия коразола in vivo обусловлены с повышением липидной пероксидации мембран нейронов, степенью гемолиза эритроцитов, уровнем церулоплазмина (ЦП) в сыворотке крови и снижением уровня витаминов С и А и глютатион редуктазы [13]. При этом терапия карбамазепином приводит к увеличению уровня Cu,Zn-супероксиддисмутазы (СОД) и снижению содержания глутатиона в плазме крови [11]. При эпилепсии уровни СОД, глутатион редуктазы и каталазы также заметно изменяются [8,15]. Одним из механизмов эпилептических судорожных состояний является нарушение физиологического баланса между анти- и прооксидантными системами мозга [14] и крови [2], препараты же антиоксидантного действия α-токоферол и Cu,Zn-СОД [3], а также оксакарбазепин [7] оказывают противоэпилептическое регулирующее действие. Однако молекулярные механизмы непосредственного воздействия эпилептогена коразола на компоненты крови (металлопротеины) in vitro остаются невыявленными. Целью работы является определение воздействия токсических доз коразола на состояние анти- и прооксидантного действия металлопротеинов крови – регуляторов метаболизма активных форм кислорода (АФК).

## Материал и методы

Металлопротеины (МП) антиоксидантного действия (МАД): Cu,Zn- СОД, каталаза, полученные из растворимой фракции эритроцитов, ЦП и трансферрин (ТФ) – из сыворотки крови крыс, и металлопротеины прооксидантного действия (МПД): изоформы цитохрома (цит.) b558, в частности b558III эритроцитарных мембран (ЭМ), супероксид ($O_2^-$)-продуцирующий липопротеин сыворотки – супрол получали в высокоочищенном состоянии биотехнологическим способом [4], без использования детергента при солюбилизации цит. b558 из ЭМ. При этом белковые фракции сыворотки растворимой части эритроцитов и ЭМ подвергали ионообменной хроматографии на целлюлозах DE-52, KM-52 ("Whatman", Англия) и DEAE A-50 ("Pharmacia", Швеция) и гель-фильтрации – на сефадексах G-75 и G-100. Количество МАД и МПД определяли, рассчитывая характерную для данного белка плотность максимального оптического поглощения, что для цит. b558III имеется при 530 *нм*, супрола – 430 *нм*, ЦП – 610 *нм* и ТФ – 470 *нм*. Активность СОД, $O_2^-$-продуцирующая активность цит. b558III и супрола вычисляли нитротетразолиевым синим (НТС) методом [1], определяя % ингибирования (для СОД) и прироста (для супрола и цит. b558III) образования формазана (при 560 *нм*) при восстановлении НТС супероксидными радикалами. За единицу СОД активности и $O_2^-$-продуцирующей активности принимали то количество белка, которое вызывает 50% ингибирование (для СОД) или 50% стимулирование (для супрола и цит. b558III) образования формазана. Активность каталазы определяли перманганатометрическим методом с учетом количества расщепленной за 1 *мин* (при $20^0$) перекиси водорода ($H_2O_2$) под воздействием определенного количества каталазы. За единицу каталазной активности принимали то количество белка, которое вызывает расщепление 0,1 М $H_2O_2$ в приведенных условиях. Метгемоглобин (метHb)-восстанавливающую активность цит. b558III определяли оптическим спектральным методом, путем вычисления плотности максимального оптического поглощения феррогемоглобина (ферроHb) при 555 *нм*, под воздействием стехиометрического количества цит. b558 III ($10^{-5}$М) в аэробных условиях in vitro при $20^0$ в течение 4–5*ч* [6].

Оптические спектры поглощения регистрировали на спектрофотометре "Specord UV-VIS" (Германия) с длиной оптического пути 1 *см* при $20^0$. Коразол получали из фирмы "Sigma" в кристаллическом виде. Коразол в дозе 50 *мг* вызывает 50% гибель крыс (ЛД - 50), а 70 *мг* – 100% (ЛД - 100) [3]. Исходя из этого был определен эффект приведенных токсических доз коразола (до 60 *мг*) на оптико-спектральные показатели и активность МАД и МПД. Коразол (10–60 *мг/мл*) инкубировали с определенным количеством МП (послед-

ние были растворены в 0,02 М калийфосфатном буфере (КФБ), pH 7,4 при $20^0$ в течение 1 *ч* и 24 *ч* в аэробных условиях. В ходе получения и очистки МП были использованы центрифуги К-70 и К-24 (Германия), а также стеклянные колонки для ионообменной хроматографии (3x15, 2x20 *см*) и гель-фильтрации (2x90*см*). Статистическую обработку полученных результатов осуществляли общеизвестным методом вариационной статистики Стьюдента-Фишера с определением критерия p (n=10).

## Результаты и обсуждение

В результате инкубирования коразол в приведенных условиях практически не влияет на активность СОД (рис. 1) и не изменяет форму и интенсивность (при 470 *нм*) ТФ (рис. 2). Однако коразол почти полностью (83,4±6,1 %) инактивирует каталазу (рис. 3), снижает $O_2^-$-продуцирующую активность (25,2±3,1 %) и метHb-восстанавливающую активность (18,7±1,9 %) цит. b558III (рис. 4).

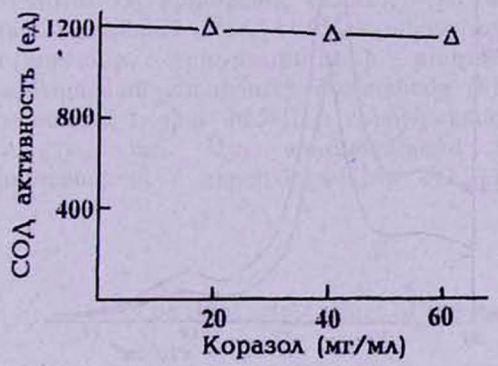



Рис. 1. Изменение активности Cu,Zn-СОД под воздействием коразола в приведенных концентрациях после инкубирования фермента с коразолом в течение 1 *ч* при $20^0$

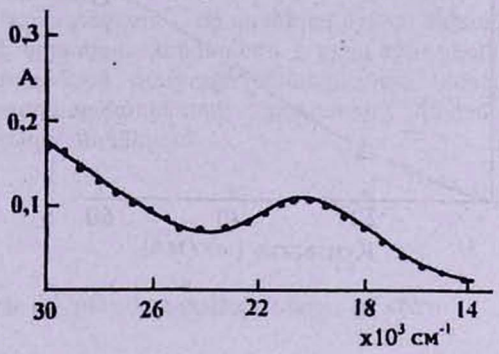



Рис. 2. Оптический спектр ТФ до (___) и после (....) инкубирования белка с 60 *мг/мл* коразолом в течение 24 *ч* при $20^0$

После 24 *ч* инкубирования коразола (60 *мг/мл*) с ЭМ (последние были смешаны с 0,04 М КФБ) не наблюдается изменения степени отщепления (рилизинга) изоформ цит. b558 ЭМ (при pH 7,4). Однако это вызывает резкое повышение степени агрегации изоформ цит. b558 (81,4±4,0%), как это показано на рис. 5а. При этом повышается величина оптического индекса ($A_{412}/A_{530}$) цит. b558III от 8,7 до 9,1 и немного снижается интенсивность поглощения (12,0±1,4 %) цит. b558III при 530 *нм* (рис.5б). Фактически коразол резко снижает растворимость изоформ цит. b558 ЭМ (они снова переходят в растворимую фазу при pH 9, с дальнейшим диализом против воды). Коразол несколько и необратимо снижает (до 12,2±1,1%) плотность поглощения ЦП (при 610 *нм*) (рис. 6). При этом ощутимо повышается $O_2^-$-продуцирующая активность

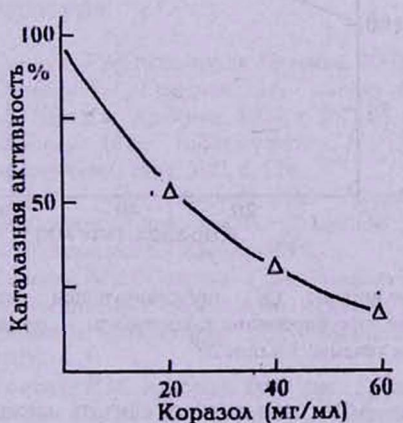



Рис. 3. Изменение активности каталазы после ее часового инкубирования с коразолом в приведенных количествах при $20^0$

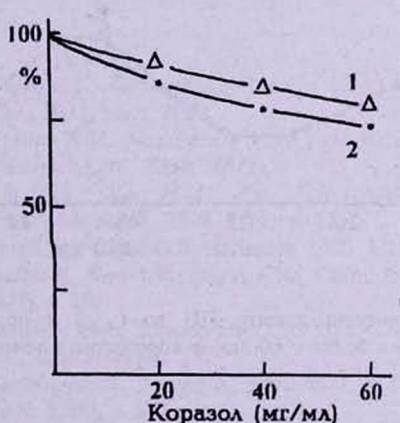



Рис. 4. Изменение метHb-восстанавливающей активности (1) и $O_2^-$-продуцирующей активности (2) цит. b558III ($10^{-5}$М) после его инкубирования с коразолом в приведенных количествах

супрола (49,1±3,7%) (рис. 7) с одновременным снижением стабильности (растворимости) этого липопротеина сыворотки высокой плотности. Повышение степени агрегации цит. b558 ЭМ и супрола под воздействием коразола может вызывать снижение текучести ЭМ и повышение вязкости сыворотки с нарушением гемодинамики. С другой стороны, снижение метHb-восстанавливающей и $O_2^-$-продуцирующей активности цит. b558III может вызывать изменение гомеостаза кислорода (метHb не транспортирует $O_2$ к клеткам) [13].

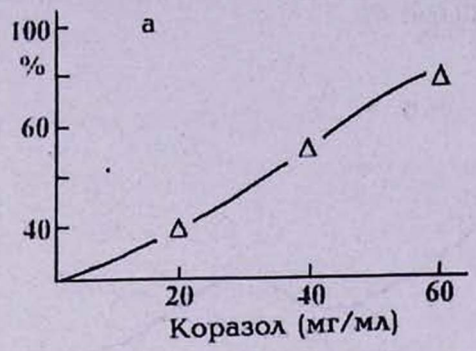
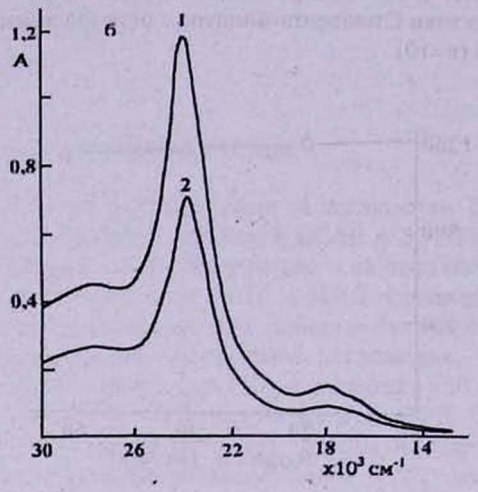



Рис. 5. а – изменение уровня агрегированного цит.b558III, полученного из ЭМ крыс после их инкубирования с 60 *мг/мл* коразолом в течение 24 *ч* при $20^0$




б – оптический спектр поглощения нативного цит. b558III (1) и агрегированного цит. b558III (2)

Полученные результаты хорошо коррелируют литературные данные, связанные с увеличением уровня ЦП [13, 16] и каталазы [10, 12] под воздействием коразола (или другого эпилептогена пентилентетразола) in vivo. Это, видимо, является ответом адаптационных механизмов организма против снижения уровня ЦП и каталазы под воздействием коразола.

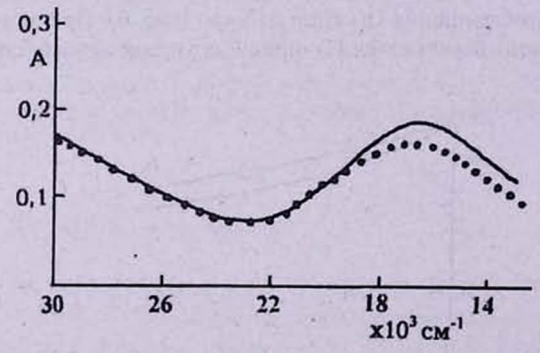



Рис. 6. Оптический спектр ЦП до (___) и после (.....) инкубирования белка с 60 *мг/мл* коразолом в течение 24 *ч* при $20^0$

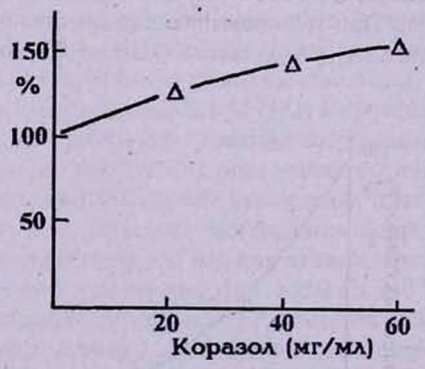



Рис. 7. Увеличение $O_2^-$ -продуцирующей активности супрола после инкубирования с коразолом в приведенных количествах в течение 1 *ч* при $20^0$

Можно заключить, что наряду с нейротоксическим действием [17] коразол оказывает определенное деградирующее действие на МАД и МПД, регуляторов метаболизма АФК, что можно считать механизмом оксидативного повреждения крови под воздействием эпилептогена коразола.

*Поступила 25.12.04*

## Էպիլեպտոգեն կորազոլի վնասակար ազդեցությունը արյան մետաղապրոտեինների վրա in vitro

Լ. Ա. Սիմոնյան, Գ. Մ. Սիմոնյան, Ա. Ա. Սիմոնյան, Մ. Ա. Սիմոնյան

Էպիլեպտոգեն կորազոլը (մինչև 60 մգ/մլ) 1-24 ժամ 20°-ում ինկուբացման հետևանքով ցուցաբերում է վնասակար ազդեցություն արյան հակա- և պրոօքսիդանտային ազդեցության մետաղապրոտեինների վրա in vitro: Դա արտահայտվում է կատալազի ակտիվազրկմամբ (83,4±6,1%), ցիտոքրոմ (ցիտ.) b558III-ի $O_2^-$ -գոյացման (25,2±3,1 %) և մեթ.Hb-վերականգնման (18,7±1,9%) ակտիվությունների նվազմամբ, էրիթրոցիտների թաղանթներում ագրեգացման աստիճանի մեծացմամբ (81,4±4,0%): Նկատվում է ցիտ. b558III-ի օպտիկական ինդեքսի ($A_{412/A530}$) աճ: Այդ պայմաններում կորազոլը գունաթափում է ցերուլոպլազմինը (12,2±1,1 %) և բարձրացնում է սուպրոլի $O_2^-$-գոյացնող ակտիվությունը (49,1±3,7%), նվազեցնելով նրա կայունությունը (լուծելիությունը): Միաժամանակ կորազոլը գործնականորեն չի ակտիվազրկում Cu,Zn–ՍՕԴ-ը, չի վնասում տրանսֆերինին և չի փոփոխում էրիթրոցիտների թաղանթներից ցիտ. b558-ի իզոձևերի արտազատման աստիճանը:

Եզրակացվում է, որ գործելով նշված մեխանիզմներով, կորազոլը հանգեցնում է թթվածնի ակտիվ միացությունների նյութափոխանակության կարգավորող մետաղապրոտեինների օքսիդատիվ վնասմանը in vitro պայմաններում:

## The damaging effect of the epileptogen corazole on blood metalloproteins in vitro

L.A. Simonyan, G.M. Simonyan, A.A. Simonyan, M.A. Simonyan

After the incubation of corazole (to 60 *mg/ml*) with blood metalloproteins in vitro, a damaging effect of these proteins is observed. This is expressed by inactivation of catalase (83,4±6,1%), decrease of $O_2^-$ -producing (25,2±3,1%) and met.Hb-reducing (18,7±1,9%) activities of cytochrome (cyt.) b558 III in erythrocyte membranes to 81,4±4,0%. Simultaneously an increase of the optical spectral index (A412/A530) of cyt. b558 III is observed. In these conditions corazole irreversibly bleaches ceruloplasmin (12,2±1,1 %), increases $O_2^-$ -producing activity of suprol (49,1±3,7%) and decreases its stability. Corazole does not practically inactivate Cu,Zn-SOD and does not damage transferrin, neither influences the releasing degree of isoforms of cyt. B558 from EM.

Thus, the toxic effect of corazole is expressed by oxidative damage of blood metalloproteins – regulators of metabolism of reactive oxygen species in vitro.

### Литература

1. *Симонян Г.М.* Мед. наука Армении, 2002, 2, с.101.
2. *Симонян Л.А., Симонян Г.М., Симонян А.А., Симонян М.А.* Биол. ж. Армении, 2004, т. 56(1-2), с. 63.
3. *Симонян М.А., Табачникова С.И., Громов Л.А.* Нейрохимия, 1984, 3(2), с. 124.
4. *Симонян М.А., Симонян Г.М.* Способ получения металлопротеинов крови. Лицензия изобретения N341 Армпатента, Ереван, 1997.
5. *Симонян М.А., Симонян Г.М., Симонян Р.М.* Способ получения цитохромов b из мембран эритроцитов. Лицензия изобретения N908 Армпатента, Ереван, 2001.
6. *Симонян Р.М.* Автореф. канд. дис., Ереван , 2004.
7. *Bolayir E., Celik K., Tas A. et al.* Methods Find – Exp. Clin. Pharmacol., 2004, 26(5), p. 345.
8. *Cengiz M., Yuksel A., Seven M.* Pharmacol. Res., 2000, 41(4), p. 423.
9. *Della R.F., Granata A., Broccio M. et al.* Anticancer Res., 1995, 15, p. 2089.
10. *Freitas R.M., Nascimento V.S., Vasconcelos S.M. et al.* Neurosci. Lett., 2004, 365(2), p. 102.
11. *Liu C.S., Wu H.M., Kao S.H., Wei Y.H.* Clin. Neuropharmacol., 1998, 21(1), p. 62.
12. *Singh R., Pathak D.N.* Epilepsia, 1990, 31(1), p. 15.
13. *Sudha K., Rao A.V., Rao A.* Clin. Chim. Acta, 2001, 303 (1-2), p. 19.
14. *Sutkovoi D.A., Laponohov O.O., Huk A.P. et al.* Fiziol. Zh., 2002, 48(4), p. 53.
15. *Turkdogan D., Toplan S., Karakos Y.* J. Child. Neurol., 2002, 17(9), p. 673.
16. Tutr – Crespo M. J., Hermida J., Tutor J. C.Epilepsy Res., 2003, 56(2-3), p. 147.
17. *Yegin A., Akbas S.H., Ozben T., Korgun K.* Acta Neurol. Scand., 2002, 106(5), p. 258.

УДК 611-018

# Гистологические и ультраструктурные изменения лимфатических узлов и селезенки при синдроме длительного раздавливания в эксперименте

А.В. Азнаурян, М.З. Бахшинян, М.Ю. Артищева, Г.Л. Мкртчян, В.В. Воскерчян

*ЕрГМУ им. М.Гераци, кафедра гистологии*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова*: синдром длительного раздавливания, периферические органы, строма, паренхимальные клетки

Изучение структурных и патогенетических аспектов синдрома длительного раздавливания (СДР) остается актуальным. Природные катаклизмы, стихийные и социальные бедствия, которые являются причиной возникновения данной патологии, в настоящее время происходят нередко, а само поражение чаще всего носит массовый характер.

Как известно, СДР – это сложный симптомокомплекс, развивающийся после возобновления кровотока в поврежденных тканях и характеризующийся своеобразием механической травмы, токсемией, полиорганными повреждениями [7]. Термин "Крашсиндром" (от английского "crushing" означает раздавливание, раздробление) ввели Bywaters [9] и Duncan, Blalock [10]. Исследования ряда авторов показали, что токсемия оказывает определенное воздействие на органы иммунной системы [2,3,4,6,11]. В настоящее время не вызывает сомнений, что в патогенезе СДР иммунному звену принадлежит существенная роль. Вместе с тем следует отметить, что работы, посвященные строению органов иммунной защиты системы в условиях СДР, малочисленны и не носят комплексного характера [1,5,8,12,14, 15].

Целью настоящего исследования является изучение структурных элементов лимфоидной ткани периферических органов иммунитета через 3, 7, и 30 дней после раздавливания задней конечности крыс в течение часа.

## Материал и методы

Опыты ставили на крысах-самцах массой 130–150 *г*. Животные были подвергнуты экспериментальному воздействию на специальной установке в виде локальной компрессии одной тазовой конечности.

Площадь поражения занимала всю внутреннюю поверхность бедра (3,14 $см^2$), давление – 140 *кПа*, длительность экспозиции – 1 *ч*. Контролем служили животные, которые находились в установке такое же время, но без груза. Материалом для морфологического исследования явились кусочки селезенки и брыжеечных лимфатических узлов. Образцы ткани брали на 3-, 7- и 30-е сутки после декомпрессии. Для целей световой микроскопии кусочки селезенки и брыжеечных лимфатических узлов фиксировали в 10% р-ре формалина и заливали в парафин. При окраске препаратов гематоксилин-эозином выявлялась общая гистоструктура исследуемых органов. Подсчет количества лимфоцитов (больших, средних и малых), плазматических клеток и бластов проводился в 50 полях зрения. Полученные данные были подвергнуты обработке методом вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Для электронно-микроскопического исследования материал брали прижизненно в условиях эфирного наркоза в те же сроки после 1-часовой экспозиции на установке. Кусочки селезенки и лимфатических узлов толщиной не более 1 *мм* фиксировали в 2% растворе глютаральдегида на 0,2М какодилатном буфере при температуре +4°С. Затем образцы ткани промывали в холодном 0,15М какодилатном буфере и проводили постфиксацию в 1 % растворе $OsO_4$ на какодилатном буфере при той же температуре. Дегидратацию материала проводили в растворах ацетона возрастающей концентрации, заливку в смесь эпона с аралдитом – по Moullenhauer. Ультратонкие срезы готовили на ультратоме LKB-8.800, помещали на медные сеточки, напыленные углем. Материал контрастировали уранилацетатом и цитратом свинца [13] и просматривали в электронном микроскопе FEM-100C (Япония) при ускоряющем напряжении 60 kV.

## Результаты и обсуждение

При гистологическом исследовании мезентериальных лимфатических узлов к 3-им суткам после деком-

прессии были выявлены изменения во всех зонах лимфатического узла. В эти сроки эксперимента важное значение имеют структурные и количественные изменения клеточного состава фолликулов (таблица). При этом отмечается стертость границ фолликулов (рис.1), обнаруживаются признаки лимфоцитолиза, миграции малых и средних лимфоцитов, ретикулярная строма оголяется (рис.2), хорошо различимы гистотопографические взаимоотношения ретикулярных клеток. Определяются также многочисленные дегенеративные формы лимфоцитов.

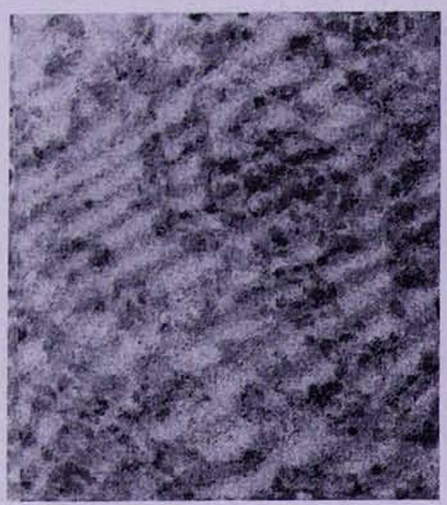


Рис 1. Лимфатический узел. Стертость границ фолликула. 3-й день эксперимента, окраска гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 10.

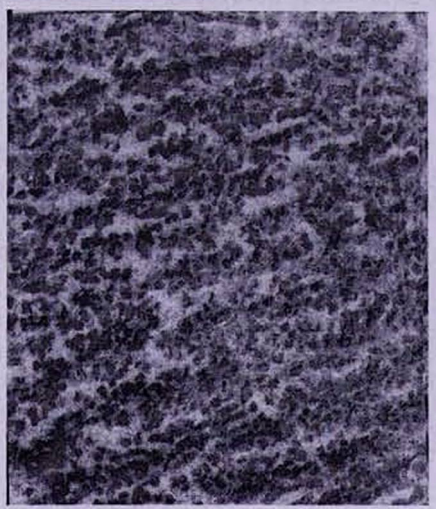


Рис2. Лимфатический узел. Ретикулярная строма фолликула, опустошение паренхимы. 3-й день эксперимента, окраска гематоксилин-эозином. Об. 40, ок. 10.

На 7-е сутки декомпрессии гистоструктура лимфатических узлов постепенно восстанавливается. Границы фолликулов становятся заметными. Появляются центры размножения. Количество бластов в них, больших, средних и малых лимфоцитов возрастает по сравнению с предыдущим сроком опыта. Появляются зрелые формы плазматических клеток ( таблица).

*Таблица*

*Содержание клеток на единицу площади в лимфоидных фолликулах в различные сроки после одночасового сдавливания (в мкм) X±SX (min-max)*

| Число животных | Клетки | Контроль | Время после начала эксперимента, сут. | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | 3 | 7 | 30 |
| 15 | бласты | 0,89±0,03 | 1,95±0,07 | 1,11±0,04 | 1,08±0,03 |
| 15 | большие лимфоциты | 2,67±0,06 | 3,01±0,08 | 2,61±0,04 | 2,58±0,02 |
| 15 | средние лимфоциты | 7,64±0,06 | 7,96±0,04 | 7,85±0,08 | 7,88±0,09 |
| 15 | малые лимфоциты | 12,02±0,07 | 8,36±0,05 | 11,64±0,04 | 11,91±0,08 |
| 15 | плазматические | 0,22±0,08 | — | 0,24±0,04 | 0,21±0,03 |

На 30-е сутки структура фолликул полностью восстанавливается. Размеры их почти не отличаются от контрольных показателей. В эти сроки количество бластов, больших, средних и малых лимфоцитов, плазматических клеток становится почти равным контрольным показателям.

При электронно-микроскопическом исследовании лимфатического узла на 3-и сутки после декомпрессии были выявлены ультраструктурные изменения как в клетках стромы, так и в лимфоцитах. Так, в ретикулярных клетках встречается отек цитоплазмы, скудное расположение органелл и краевое расположение хроматина. В цитоплазме некоторых стромальных клеток имеет место накопление липидных капель в цитоплазме (рис 3). Деструктивные изменения имеют место не только в стромальных клетках, но и в лимфоцитах и плазмоцитах. Так, в плазматических клетках и лимфоцитах обнаруживаются набухание и деструкция митохондрий, расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети (рис. 4).

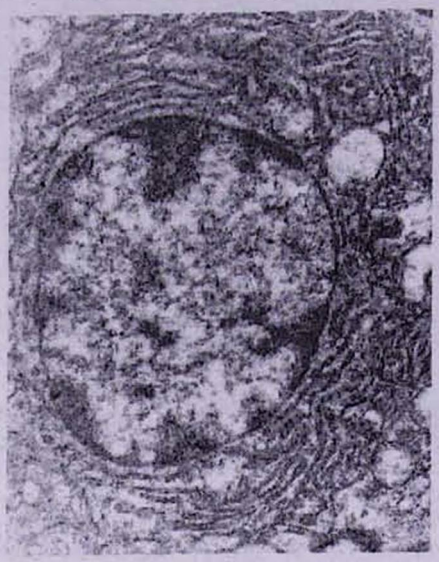


Рис. 3. Лимфатический узел. Скопление липидных капель в цитоплазме ретикулярной клетки. 3-й день эксперимента. Ув. 14000.

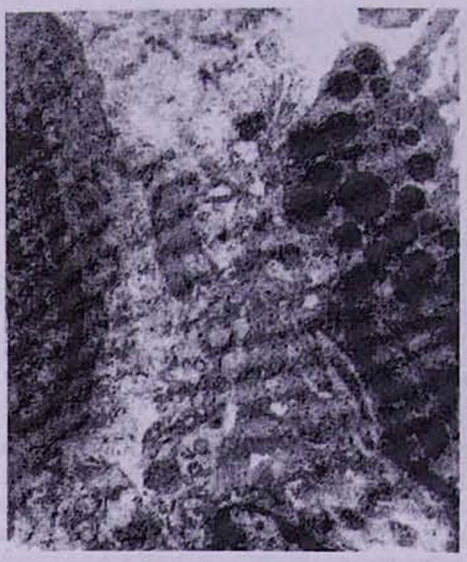


Рис. 4. Лимфатический узел. Набухание и деструкция митохондрий, расширение цистерн гранулярной эндоплазматической сети. 3-й день эксперимента, Ув. 14000.

К 7-ым суткам декомпрессии признаки ультраструктурной патологии стромальных клеток и клеток паренхимы персистировали. Наряду с явлениями деструкции отмечается некоторая реактивная пролиферация стромальных элементов, а также визуальное увеличение числа плазматических клеток с хорошо развитой эндоплазматической сетью. К 30-му дню отмечается заметное ослабление вышеописанных признаков. Ультраструктура кровеносных капилляров лимфатических узлов при СДР представлялась неоднородной. На 3- и 7-е сутки декомпрессии наряду с сосудами микроциркуляторного русла, имеющими широкий просвет и сохранную структуру эндотелиоцитов, встречались сосуды с деструктивными изменениями в виде вакуолизированной цитоплазмы эндотелия. Это свидетельствует, что часть капилляров имела ультраструктурные признаки, свидетельствующие о повышении проницаемости их стенки. Эти изменения персистировали в более поздние сроки после декомпрессии. Несмотря на наличие в лимфатических узлах как реактивных, так и деструктивных изменений, а в некоторых случаях и признаков запрограммированной клеточной смерти (апоптоз) ультраструктура лимфатических узлов представляется достаточно сохранной, чтобы иметь возможность реализовать иммунный ответ.

На 3-и сутки после декомпрессии при гистологическом исследовании селезенки обнаруживаются изменения в фолликулах, аналогичные изменениям в лимфоузлах. Границы их нечеткие, размеры уменьшены. Во всех фолликулах в значительном количестве обнаруживаются макрофаги. В сосудах – полнокровие и изменение строения эндотелия, который становится призматическим. В паренхиме селезенки к 7-ым суткам обнаруживается множество лимфоцитов.

Таким образом, в исследованных органах иммунной системы (лимфатические узлы, селезенка) при экспериментальном СДР в ранних сроках декомпрессии обнаруживаются деструктивные изменения, характеризующие иммунодефицитное состояние органов иммунологической защиты. Вышесказанное дает основание констатировать, что органы иммунологической защиты при СДР подвергаются определенным морфофункциональным изменениям в зависимости от

стадии индуцированного СДР. Эти изменения могут рассматриваться как морфологический субстрат иммунодефицита, характерного для данной патологии. Полученные результаты свидетельствуют, что на 3-и сутки декомпрессии обнаруживаются признаки лимфоцитолиза, изменения клеточного состава и размера фолликулов лимфатических узлов и селезенки. После 7-го дня декомпрессии отмечаются признаки персистенции гистологических и ультраструктурных изменений в органах иммунной системы. Наличие как реактивных, так и деструктивных изменений в исследуемых органах не является причиной для реализации иммунного ответа в поздние сроки эксперимента.

*Поступила 28.10.04*

## Ավշային հանգույցներում եւ փայծաղում հյուսվածաբանական եւ անդրկառուցվածքային փոփոխությունները փորձարարական երկարատեւ ճնշման ժամանակ

Ա.Վ. Ազնաուրյան, Մ.Զ. Բախշինյան, Մ.Յու. Արտիշչևա, Գ.Լ. Մկրտչյան, Վ.Վ. Ոսկերչյան

Աշխատանքում ուսումնասիրվել են ավշային հանգույցներում, փայծաղում տեղի ունեցող հյուսվածաբանական և անդրկառուցվածքային փոփոխությունները երկարատև ճնշման համախտանիշի տարբեր ժամկետներում:

Փորձի ժամանակ դեկոմպրեսիայի 3-րդ օրը գրանցվել են լիմֆոցիտոլիզի նշաններ, լիմֆոցիտների խտության նվազում, լիմֆատիկ հանգույցների և փայծաղի ֆոլիկուլների չափսերի և բջջային կազմի փոփոխություններ:

Դեկոմպրեսիայի 7-րդ օրը նկատվում է ծայրամասային իմունային օրգաններում հյուսվածաբանական և անդրկառուցվածքային փոփոխությունների պերսիստենցիա:

## Histological and ultrastructural changes in lymph nodes and spleen at experimental crush syndrome

A.V. Aznauryan, M.Z.Bakhshinyan, M.Y. Artishcheva , G.L. Mkrtchyan, V.V. Voskerchyan

Histological and ultrastructural analysis of some changes in peripheric organs of immune system was conducted at different stages of experimental crush syndrome. On the 3rd day after decompression some signs of lymphocytolysis and changes in contents and the sizes of the follicles of spleen and lymph nodes were revealed. On the 7th day of the decompression a persistention of the histological and ultrastructural changes in the peripheric organs of immune system was observed. Both reactive and destructive changes in the investigated organs are not the cause of the immune response in the late stages of experiment.

## Литература

1. *Григорович И.Н.* Ученые записки Петрозаводского гос. университета имени О.В. Кусинена. Петрозаводск, 1975, т. 21, вып.2, с. 26.
2. *Зимин Ю.И.* Итоги науки и техники. Иммунология, т.8, 1979, с.173.
3. *Кузин Б.И., Васильев Н.В., Цыбиков Н.Н.* Иммуногенез, гемостаз и неспецифическая резистентность организма. М., 1989.
4. *Манафеева Э.В., Белокуров Ю.Н., Давыдов Ю.А., Белов А.С.* В кн.: Характеристика иммунной системы больных гнойной инфекцией. Ярославль, 1980, с. 11.
5. *Пытель А.Я.* Клин. мед., 1945, 49, с. 13.
6. *Папантопуло А.Н., Головнев В.А., Голубева И.А.* В. сб.: Морфология и хирургия. Новосибирск, 1999, с.149.
7. *Секамова С.М.* Архив патологии, 1987, т. 49, 2, с. 3.
8. *Allen G., Galer B.S., Schwartz L.* Pain, 1999 Apr; 80(3): p. 539.
9. *Bywaters E.C.* Brit. Med.J., 1941,1 p.427.
10. *Duncan C.W., Blalok A.B.* Ann.Surg.,1942, v. 115, p. 584.
11. *Pospishil L. 0., Zakhariiasevich L.L.* Klin.Khir., 1995, 7-8, 45.
12. *Nespoli A., Corso V., Mattarel D., Valerio M., Nespoli L.* Minerva Anestesiol., 1999 May; 65(5): p. 256.
13. *Reynolds F. S.* J.Cell in Biol., 1963, 17, p. 208.
14. *Winchurch R.A., Winster A.N.* RES- I Reticuloendothel. Soc., 1980, 27, p. 83.
15. *Reid C., Liversey S.A., Engelson C.V.* J.Accid. Ember. Med., 1999, 16(4); 299.

УДК.578.821.5:615.371

# Адаптация вируса кори, штамма Edmonston-B, к клеткам CaCo-2

З.А. Каралян, Н.К. Гаспарян, С.Р. Давидян, М.Г. Гаспарян

*Лаборатория вирусологии, Онкологический научный центр МЗ РА, кафедра медицинской биологии и генетики ЕрГМУ им. М. Гераци*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова*: вирус кори штамм Edmonston-B, культура аденокарциномы толстого кишечника человека – CaCo-2

Коревой вакцинный штамм Edmonston B и его дериваты – штаммы Moraten и Шварц весьма широко применяются в клинике в качестве живых противокоревых вакцин. Эти вирусы способны реплицироваться в различных клеточных системах – как тканевых, так и перевивных клеточных линиях. Показана также способность этих штаммов к длительной персистенции и их влияние на генетический аппарат клеток кишечника человека [2, 4]. Влияние вируса кори на клетки имеет ряд особенностей и зависит от штамма, степени адаптации вируса, дозы и других факторов [3].

Известно, что основная часть живых коревых вакцин, включая вышеупомянутые штаммы, получена с помощью длительной репликации вируса на первичных культурах клеток куриных эмбрионов. Вследствие этого адаптация их к человеческим перевивным культурам, несмотря на широкое применение в современной научной практике, имеет некоторые особенности. С учетом того, что в современной литературе мало уделяется внимания связи морфологических изменений с титрами накопления вируса [1], мы сочли актуальным сопоставить динамику высвобождения вируса в среду с динамикой морфологических изменений клеточной культуры.

Цель настоящей работы – раскрыть методику адаптации и характер цитопатического действия вируса кори штамма Edmonston-B на перевивных клетках аденокарциномы толстого кишечника человека – CaCo-2, а также выявить связь морфологических изменений в зараженных клетках с динамикой вирусных титров.

## Материал и методы

*Живая коревая вакцина, штамм Edmonston-B.* Для получения острой вирусной инфекции вирус использовался в дозе 0.01 $TCD_{50}$ на клетку. Во всех клеточных культурах в качестве исходного употреблялся 48-часовой монослой. Инфекция, как и контроль, проводилась при 37$^0$C. Вирусный титр рассчитывался по методу Kärber. Изучение всех параметров проводилось в сроки – 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216 *ч* после инфицирования.

***CaCo-2 - трансформированная перевивная линия аденокарциномы толстого кишечника человека.*** Клетки культивировались в среде Eagle с добавлением 20% фетальной бычьей сыворотки.

Посевная доза – 2 x $10^5$ клеток/*мл*. Монослой получали через 48 *ч*. после начала пассирования (клетки были любезно предоставлены Dr Pascale Galea Trophos). Окараска клеток проводилась стандартным способом галлоцианин-хромовыми квасцами (РНК специфичная).

## Результаты и обсуждение

На 48-часовой монослой CaCo-2 наносились исходные разведения вируса. Клетки вместе с вирусом выдерживались до 9 суток с момента инфицирования. I пассаж вируса не дал видимых изменений клеток по сравнению с соответствующими контрольными пассажами. Часть надосадочной жидкости с I пассажа нанесли на 48-часовой монослой интактных клеток CaCo-2 – II пассаж. Во II пассаже, начиная с 6–7 суток после заражения, нами определялся цитопатический эффект вируса в виде формирования симпластов. После этого в течение 2–3 суток (на 8–10 сутки после заражения) начиналась деградация монослоя. Начиная с III пассажа, вирус регулярно выделелся в надосадочной жидкости в титрах 2.5–3.5 ТСД 50/*мл*. С III пассажа время образования симпластов сократилось до 48 *ч*., а деструкция монослоя начала наблюдаться уже к 7–8 суткам после заражения. В дальнейшем подобные показатели адаптированный вирус демонстрировал стабильно. Динамика изменений титра вируса после становления инфекции представлена на рис 1.

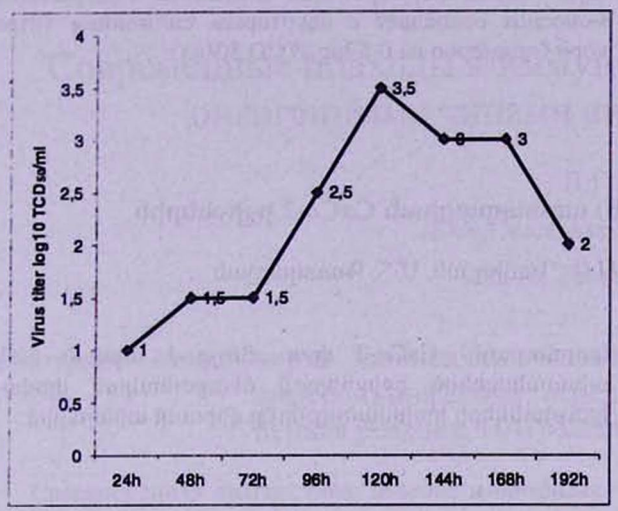



Рис.1 Динамика титров вируса кори (Edmonston-B) на клетках CaCo-2

По сравнению с ранними пассажами после стабилизации инфекции, начиная с IV–V пассажей, цитопатическое действие вируса начало наблюдаться в более ранние сроки – с 3–5 суток, деградация монослоя начиналась уже к 6–8 суткам после заражения. Анализ цитопатогенного действия вируса показал, что образование симпластов не является единственным его действием. Наряду с образовнием многоядерных формаций на более поздних сроках (6–8-е сутки) наблюдается разрушение клеток, содержащих одно ядро.

*Таблица*

*Количество клеток культуры CaCo-2 на единицу площади в контроле и под действием вируса кори*

| Время инкубации, ч | | Среднее число клеток на 0,01мм$^2$ | |
|---|---|---|---|
| Контр. | действие вируса на 48-часовой монослой | контроль | вирус |
| 48 | - | 10.0±0.8 | - |
| 60 | - | 15.1±0.9 | - |
| 72 | 24 | 24.6±0.9 | 23.5±0.6 |
| 96 | 48 | 38.2±1.2 | 24.3±0.8 |
| 120 | 72 | 22.3±0.6 | 27.7±0.9 |
| 144 | 96 | 32.6±0.8 | 31.0±0.7 |
| 168 | 120 | 18.7±0.1 | 30.9±0.6 |
| 192 | 144 | 20.4±0.9 | 17.4±0.6 |
| 216 | 168 | 19.1±0.8 | 18.0±0.6 |
| 240 | 192 | 31.5±0.6 | 6.7±0.8* |

* – ниже по сравнению со всеми предыдущими показателями ($p<0.001$)

Формирование многоядерных клеток – одно из проявлений цитопатического действия вируса кори. причем характер и интенсивность симпластообразования во многом определяет исход инфекционного процесса [1]. Изучение инфицированного монослоя клеток CaCo-2 выявило формирование симпластов начиная с 48 ч после заражения. Количество симпластов резко возрастало со 2–4-ых суток, а деградация монослоя начиналась к 6–8 суткам после заражения. Количество ядер в симпластах колебалось от 3–5 до 30–35. Симпласты с максимальным числом ядер наблюдались к 4–5-ым суткам после инфицирования. Основная часть симпластов была небольшой по размеру и содержала от 5 до 10 ядер.

На рис 2 и 3 приведена контрольная популяция клеток CaCo-2 и типичный симпласт, полученный к 120 ч после заражения культуры.

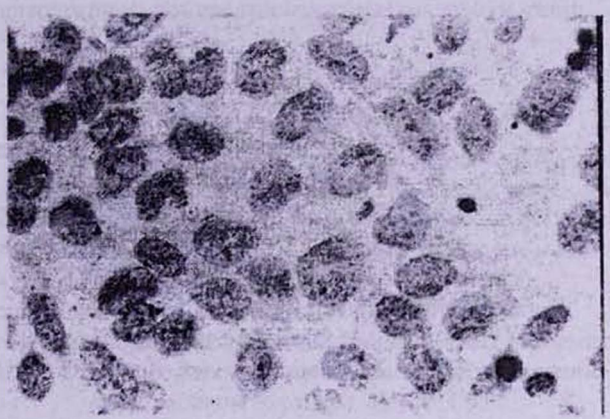


Рис 2. Контроль CaCo-2. 168-часовая инкубация. х 900, окраска галлоцианин хромовыми квасцами

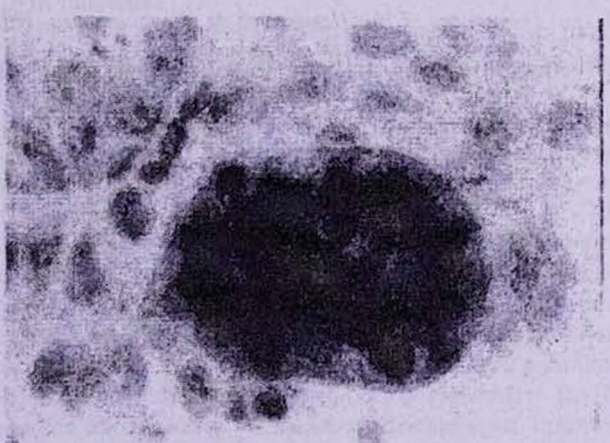


Рис 3. Завершающая стадия формирования синтиция. 120 ч с момента заражения. х 900, окраска галлоцианин хромовыми квасцами

Таким образом, вирус сравнительно легко адаптируется к клеткам CaCo-2 и дает симпластобразующую и цитодеструктивную формы инфекции. Максимальный пик вирусного титра приходится на завершающую стадию формирования симпласта, а деградация монослоя совпадает с некоторым снижением титра кори (примерно на 0.5 $\log_{10}$TCD 50/*мл*).

## Կարմրուկի վիրուսի շտամ (Edmonston B) ադապտացիան CaCo-2 բջիջներին

Զ. Ա.Կարալյան, Ն.Կ.Գասպարյան, Ս.Ռ. Դավիդյան, Մ.Հ. Գասպարյան

Աշխատանքում ցույց է տրված կարմրուկի վիրուսի շտամ՝ Edmonston B-ի ադապտացիայի մեթոդիկան և բջջաախտաբանական ազդեցության բնույթը մարդու հաստ աղու ադենոկարցինոմայի բջջային կուլտուրայի՝ CaCo-2 վրա: Ցույց է տրված նաև ախտահարված բջիջներում ձևաբանական փոփոխությունների կախվածությունը վիրուսի տիտրերից:

## Adaptation of vaccine strain of the measles virus Edmonston B to CaCo-2 cells

Z.A. Karalyan, N.K. Gasparyan, S.R. Davidyan, M.H. Gasparyan

The method of adaptation and the type of cytopathic action of the vaccine strain of the measles virus (Edmonston B) on the continuous cell line CaCo-2 is shown in the article. It was also demonstrated the dependence of morphological changes in the cells on the titers of the virus.

## Литература

1. *Гетманова Т.Н., Нечаева Е.А., Колокольцева Т.Д.* Вопросы вирусологии, 2000, 5, 34, 7.
2. *Blau D.M., Compans R.W.* Virology, 1997, May 12;231 (2):281.
3. *Griffin D.E.* In: D. M. Knipe and P. M. Howley (ed.), Fields virology, 4th ed. 2001, Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, p. 1401.
4. *Sinn P.L., Williams G., Vongpunsawad S., Cattaneo R., McCray P.B. Jr.* J. Virol., 2002 Mar;76(5):2403.

УДК 617.616-073.1

# Современные подходы к иммунотерапии заболеваний, вызванных онкогенными типами вируса папилломы человека

Л.Г. Хачатрян

*Центр медицинской генетики НАН РА*

*375010, Ереван, ул.Закияна, 5/1*

*Ключевые слова*: вирус папилломы человека, иммунотерапия, ликопид, полиоксидоний, виферон, инфекции, передаваемые половым путем (ИППП), полимеразная цепная реакция, ПАП-мазок, кольпоскопия

Своевременная диагностика, лечение и профилактика заболеваний, вызванных вирусом папилломы человека (ВПЧ), несмотря на значительные успехи медицины в этой области, продолжают оставаться чрезвычайно сложной задачей для практических врачей [6, 10, 12, 13]. Важную роль в развитии генитальных вирусных заболеваний играет дисбаланс иммунной системы. В свою очередь, вирусная инфекция усугубляет это состояние, что приводит к длительному персистированию вируса в организме и рецидивам заболевания. Папилломавирусная инфекция (ПВИ), как правило, сопровождается угнетением иммунитета [2, 5, 6]. Все вышеизложенное диктует необходимость применения иммунотропных препаратов в лечении ПВИ, тем самым помогая иммунной системе справиться с вирусной инфекцией без использования специфических противовирусных препаратов, которых, как известно, против ВПЧ пока не создано [5]. В настоящее время одной из групп иммунотропных препаратов являются мурамилдипептиды [3]. Из этой группы препаратов мы остановились на разработанном российскими исследователями препарате ликопид, который обладает выраженной противоопухолевой, адъювантной и противоинфекционной активностью. Как показали исследования, препарат довольно эффективен при острых и хронических инфекциях, особенно при вирусных инфекциях гениталий. В частности, показана высокая эффективность ликопида при лечении патологии шейки матки, вызванной ВПЧ [3].

В последнее время в клинической практике широко используется препарат полиоксидоний, обладающий модулирующим действием на различные звенья иммунной системы. Наряду с иммуностимулирующим действием полиоксидоний обладает выраженным дезинтоксикационным, антиоксидантным и мембраностабилизирующим эффектом [4].

Целью настоящего исследования явились разработка и апробация оптимальной схемы комплексной иммунотерапии женщин репродуктивного возраста, инфицированных ВПЧ, с различными результатами цитологического исследования мазков шейки матки.

## Материал и методы

В качестве материала при проведении молекулярно-генетического исследования, с целью детекции онкогенных типов ВПЧ и сопутствующих ИППП, были использованы мазки и соскобы из цервикального канала 111 женщин репродуктивного возраста.

Молекулярно-генетический анализ включал:

- метод экстракции геномной ДНК из первичного материала, который проводился с применением наборов фирмы "Gentra" (США);
- метод амплификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) [8].

Амплификация проводилась в смеси, состоящей из следующих компонентов: воды, 10х ПЦР буфера, праймеров, смеси dNTP, Tag-полимеразы, $MgCl_2$ и ДНК пациента.

Реакция амплификации проводилась в 30 *мкл* реакционной смеси по различным схемам, подобранным для каждой отдельной инфекции.

Эффективность амплификации оценивалась в 2% агарозном геле. Результаты визуализировались при помощи трансиллюминатора и фиксировались на пленке Kodak [9].

*Цитология.* Цитологическое исследование осуществлялось по методу Папаниколау (ПАП-мазки) наборами PAP-PAK Cytology kit (фирма "MPC"), которые обеспечивают взятие материала со всех поверхностей, включая зону стыка многослойного плоского и цилиндрического эпителиев. Оценка результатов ПАП-мазков проводилась согласно классификации, предложенной Национальным институтом по изучению рака (Bethesda, США) [11]:

1) цитограмма в пределах нормы (negative);

2) доброкачественные реактивные и репаративные

изменения;

3) неклассифицируемые атипичные клетки плоского эпителия (ASCUS);

4) изменения плоского эпителия низкой степени злокачественности (LSIL);

5) изменения плоского эпителия высокой степени злокачественности (HSIL).

*Кольпоскопия.* Для оценки кольпоскопической картины мы использовали рекомендации H. Bauer [7], где обобщены атипические и отклоняющиеся от нормы состояния по критерию подозрения на рак: мозаика, пунктация, уксусно-белый эпителий, лейкоплакия, атипические сосуды. Кольпоскопически выявлялись границы и масштабы поражения, выбирались участки для проведения прицельной биопсии шейки матки.

## Результаты и обсуждение

В результате молекулярно-генетического исследования были выявлены различные онкогенные типы ВПЧ. Исходя из результатов цитологического анализа обследованные женщины были распределены нами на 5 групп (табл. 1).

*Таблица 1*

*Распределение ВПЧ- инфицированных женщин по результатам цитологического исследования*

| Результаты цитологического исследования мазков с шейки матки | Количество ВПЧ-инфицированных женщин |
|---|---|
| Норма (negative) – I гр. | 17 |
| Реактивные и репаративные изменения – II гр. | 31 |
| Неклассифицируемые атипичные клетки (ASCUS) – III гр. | 11 |
| Изменения низкой степени злокачественности (LSIL) –IVгр. | 36 |
| Изменения высокой степени злокачественности (HSIL) – V гр. | 16 |
| Всего | 111 |

До апробирования представляемой схемы комбинированной иммунотерапии нами была проведена иммуномодуляция у 40 ВПЧ-инфицированных женщин препаратом ликопид и у 39 ВПЧ- инфицированных женщин препаратом полиоксидоний. В контрольную группу вошли 30 ВПЧ-инфицированных женщин, не получавших иммунотерапию.

Во всех группах местно применялся виферон (человеческий рекомбинантный интерферон альфа-2b), который оказывает противовирусное, иммуномодулирующее и антипролиферативное действие [1]. Для корректности оценки результатов сравнивались клинические группы женщин репродуктивного возраста с одинаковыми цитологическими и кольпоскопическими изменениями.

Контроль эффективности лечения проводился на основании заключения молекулярно-генетического анализа на наличие онкогенных типов ВПЧ, а также цитологического и кольпоскопического исследований.

В контрольной группе, к концу первого года наблюдения, при повторных исследованиях ДНК ВПЧ не определялась только в 3% случаев.

Эффективность лечения в группах женщин, принимавших в одном случае только ликопид, а в другом – полиоксидоний, была практически одинаковой, соответственно 40,5 и 37,4%. При этом к концу первого года наблюдения, в группе женщин, принимавших только ликопид, в 25% случаев наблюдались рецидивы ПВИ, а в группе женщин, принимавших только полиоксидоний, рецидивы наблюдались в 28% случаев. Это послужило причиной для разработки новой комбинированной схемы лечения. Предлагаемая комплексная иммунотерапия включала оба препарата и была проведена по следующей схеме:

- ликопид по 10 *мг* per os, за 20 *мин* до еды, 10 дней;
- полиоксидоний по 0,006 *г*, растворенный в 1,5 *мл* раствора NaCl изотонического, ex tempore, внутривенно, через день, на курс 10 инъекций.

Местно (интравагинально) использовался виферон в виде свечей, по 1 *млн ед.*, 10 дней.

При сочетании ВПЧ с другими ИППП проводилась соответствующая специфическая терапия. Несомненно, одним из важных показателей местного иммунитета является состояние вагинального микробиоценоза, поэтому лечение сочеталось с восстановлением микрофлоры.

Результаты эффективности комбинированного лечения представлены в табл. 2. Как видно из табли-

цы. комплексное лечение оказалось высоко эффективным.

Отмеченные комбинированные курсы терапии проводились нами двукратно в I группе только у 1 женщины (5,9%), в III – у 4 (36,4%), в IV – у 8 (22,2%). Было показано, что у ВПЧ-инфицированных женщин эффективность терапии снижается с возрастанием степени поражения плоского эпителия шейки матки, что требует проведения повторных курсов лечения.

Если в первых трех группах консервативные методы лечения оказались достаточными, то в IV группе в 3 случаях (8,3%) проведена прицельная биопсия шейки матки с последующей электроконизацией, по причине сохраняющихся кольпоскопических критериев атипизации.

Всем женщинам с цитологическим заключением об изменении плоского эпителия высокой степени злокачественности (V группа) проведена прицельная биопсия. Лечение начинали только после гистологического подтверждения диагноза и определения границ патологического очага.

*Таблица 2*

*Оценка эффективности лечения по группам*

| Лечение | Норма (n=17) | | Реактив.изм. (n=31) | | ASCUS (n=11) | | LSIL (n=36) | | HSIL (n=16) | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | n | % | n | % | n | % | n | % | n | % |
| 1 курс лечения | 16 | 94,1 | 31 | 100 | 7 | 63,6 | 25 | 69,5 | 1 | 6,3 |
| 2 курса лечения | 1 | 5,9 | – | – | 4 | 36,4 | 8 | 22,2 | 2 | 12,5 |
| Лечение, сочетанное с электроконизацией | – | – | – | – | – | – | 3 | 8,3 | 13 | 81,2 |

В одном случае гистологический диагноз свидетельствовал о наличии дисплазии легкой степени и больная получила вышеотмеченный курс лечения. Данные контрольных обследований подтвердили эффективность лечения. 13 женщинам лечение было проведено сочетанно с электроконизацией шейки матки.

Цитологическое исследование мазков с шейки матки и кольпоскопия проводились, после отрицательного заключения ПЦР анализа на наличие онкогенных типов ВПЧ, каждые три месяца и не выявили патологических изменений плоского эпителия шейки матки в течение первого года наблюдения.

Полученные результаты свидетельствуют о высокой эффективности вышеуказанной комплексной иммунотерапии женщин, инфицированных онкогенными типами ВПЧ, по сравнению с лечением, включающим только один из вышеупомянутых иммуномодуляторов.

Комплексная терапия, как показали наши результаты, обеспечивает у пациенток достижение стойкого клинического эффекта.

*Поступила 27.01.05*

## Մարդու պապիլոմավիրուսի ուռուցքածին տիպերով հարուցված հիվանդությունների իմունաթերապիայի ժամանակակից մոտեցումները

Լ.Գ. Խաչատրյան

Պապիլոմավիրուսային վարակը (ՊՎՎ) ուղեկցվում է օրգանիզմի իմունիտետի ընկճմամբ,այդ պատճառով ՊՎՎ-ի բուժումը պետք է ուղղված լինի իմունային համակարգի ակտիվացմանը, նրան օգնելով պայքարել վիրուսային վարակի դեմ, քանի որ, ինչպես հայտնի է, ՊՎՎ-ի դեմ դեռևս ստեղծված չեն հատուկ դեղամիջոցներ:

ՊՎՎ-ով վարակված 111 կանանց մոտ ևնց է կացվել իմունոթերապիա հետևյալ դեղամիջոցներով՝ լիկոպիդ, պոլիօքսիդոնիում, վիֆերոն (տեղային):

Բուժման արդյունավետությունը հսկվել է մոլեկուլագենետիկական (PCR), բջջաբանական (PAP-քսուք) և կոլպոսկոպիկ հետազոտություններով:

Հետազոտության արդյունքները ցույց են տալիս, որ հետազոտված կանանց մեծամասնության մոտ իմունաթերապիան ապահովում է կայուն դրական արդյունք:

## Modern approaches to the immunotherapy of deseases induced by oncogenic types of human papillomavirus

L.G. Khachatryan

Papilomaviral infection (PVI) is accompanied by the depression of immune system, therefore, the treatment of PVI should be directed towards the raising of the immune system helping the latter to overcome the infection until there is any specific medicine against PVI.

Human papilomavirus (HPV)-infected 111women undergwent an immunotherapy using licopid, polyoxydonium and viferon locally. The efficiency of the treatment was controlled by a molecular-genetic and cytological analyses, and colposcopy.

Our results show that after the immunotherapy positive results have been achieved in most of the patients.

## Литература

1. *Козлова В.И., Пухнер А.Ф.* Вирусные, хламидийные и микоплазменные заболевания гениталий. М., 1997.
2. *Новиков А.И., Кононов А.В., Ваганова И.Г.* Инфекции, передаваемые половым путем, и экзоцервикс. М., 2002.
3. *Пинегин Б.В., Андронова Т.М., Карсонова М.И.* Int.J. on Immunorehabilit. 1998, 10, с. 27.
4. *Пинегин Б.В., Некрасов А.В., Хаитов Р.М.* В сб.: Соврем.пробл. аллергологии, иммунологии и иммунофармакологии. 2001, т.1, с. 334.
5. *Роговская С.И., Прилепская В.Н.* Гинекология, 2002, т.4, 3.
6. *Скрипкин Ю.К., Шарапова Г.Я., Селисский Г.Д.* Инфекции, передаваемые половым путем. М., 2001.
7. *Bauer H.* Кольпоскопия. М., 2002.
8. Clinical applications of PCR (Methods in Molecular Medicine, Vol.16). Edited by D.Lo.Humana Press., March 1998.
9. DNA Profiling Protocols (Methods in Molecular Biology, Vol.98,) Edited by P.J.Lincoln and J.Thomson. Humana Press., January 1998.
10. Gross G., Barasso R., Human Papillomavirus infection. Atlas, Berlin/Wiesbaden, Ulsein Mosby, 1997.
11. National Cancer Institute Workshop. J.A.M.A.,1989, 262:931.
12. *Nindl I., Greinke C., Zahm D.M. et al.* Int.J.Gynecol. Pathol., 1997, 16(3): 197.
13. *Tabrisi S.N. at al.* Br. Obst. Gyn., 1999, 106: 252.

УДК 618.19-006

# Определение прогностических тканевых маркеров при раке молочной железы

А.Г.Мкртчян

*Центр медицинской генетики НАН РА*

*375010, Ереван, ул. Закияна, 5/1*

*Ключевые слова*: иммуногистохимия, EGFR, HER2, Bcl-2, рак молочной железы

Благодаря успехам молекулярной биологии, биохимии и иммуногистохимии, в настоящее время в арсенале исследователей и клиницистов имеется огромное количество биологически значимых показателей, которые могут помочь в прогнозе раннего рака молочной железы (РМЖ) и выборе адъювантной терапии при распространенном процессе [1].

Количество показателей, рассматриваемых в качестве потенциальных молекулярных маркеров, стремительно увеличивается, отражая достижения в области изучения механизмов регуляции пролиферации и дифференцировки опухолевых клеток. Выполнение молекулярно-биологических исследований требует больших материальных затрат, и ни одно медицинское учреждение не может позволить себе одновременное определение всех тканевых маркеров. Рутинное применение в клинике пока нашли только методики определения рецепторов стероидных гормонов (эстрогенов (ЭР) и прогестерона (ПР) [2].

В настоящее время огромное число фундаментальных исследований сфокусировано на поиске новых рациональных подходов к противоопухолевой терапии. Понимание молекулярных механизмов, ответственных за митогенную активность трансформированных клеток, открывает новые пути контроля опухолевого роста. Одним из объектов, активно изучаемых в последние годы в качестве новой противоопухолевой мишени, является семейство рецепторов эпидермального фактора роста, которое включает EGFR (или HER1); erbB2/HER2; erbB3/HER3 и erbB4/HER4.

*EGFR* – трансмембранный гликопротеин молекулярной массой 170 *kD*, обладающий тирозинкиназной активностью. EGFR экспрессируется на поверхности как нормальных, так и трансформированных эпителиальных клеток и участвует в регуляции клеточного роста и дифференцировки. Как и все рецепторные тирозинкиназы, EGFR состоит из трех участков: внеклеточный лиганд-связывающий домен, трансмембранный гидрофобный участок и внутриклеточный тирозинкиназный домен (рис.)

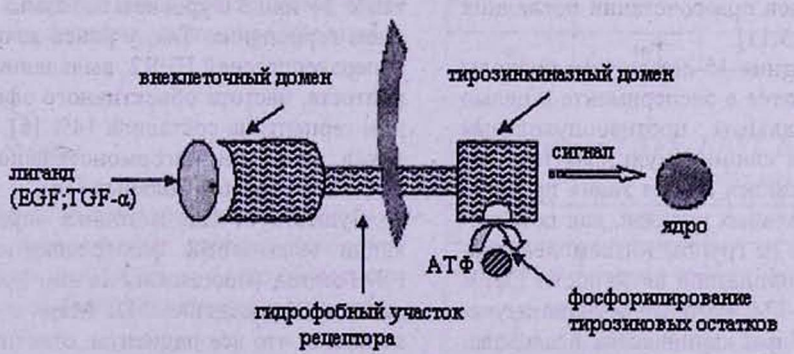



Рис. Схематическое строение EGFR

В роли лигандов выступают экскретируемые нормальными и/или опухолевыми клетками ростовые факторы EGF и TGF-α, которые аутокринным и/или паракринным путем регулируют активность рецептора эпидермального фактора роста. Активация EGFR происходит после связывания одного из специфичных лигандов с внеклеточным доменом, последовательных конформационных изменений в виде димеризации

рецептора и реакции фосфорилирования тирозиновых остатков внутриклеточного домена. На этапе взаимодействия с факторами роста существует возможность не только гомодимеризации EGFR, т.е. образования двух идентичных рецепторов EGFR, связанных с общим лигандом, но может произойти и гетеродимеризация EGFR с другими представителями семейства erbB, в частности с рецептором HER2 и erbB3. Образование гетеродимера приводит к значительному усилению внутриклеточных сигнальных импульсов. В результате всех этих взаимодействий активированная тирозинкиназа через специальные белки запускает целый каскад внутриклеточных процессов, передающих импульс к ядру клетки и тем самым инициирует клеточную пролиферацию и ряд других биологических эффектов, ответственных за опухолевую прогрессию: адгезию и инвазию трансформированных клеток, включение антиапоптотических механизмов [15].

При ряде опухолей эпителиальной природы (раке легкого, яичников, толстой кишки, предстательной железы, плоскоклеточном раке головы и шеи) обнаруживается избыточная экспрессия EGFR и/или одного из его лигандов (EGF; TGF-α), что может служить причиной повышенной пролиферативной активности трансформированных клеток [4,12]. Гиперэкспрессия EGFR опухолевыми клетками, как правило, ассоциируется с поздними стадиями и метастатическим фенотипом заболевания и, соответственно, коррелирует с плохим прогнозом [10].

В итоге выбор EGFR в качестве противоопухолевой мишени выглядит вполне обоснованным и логичным. Помимо этого результаты экспериментальных исследований указывают на возможность усиления цитотоксического действия других противоопухолевых агентов: платиновых производных, доксорубицина, гемцитабина и таксанов при сочетании последних с ингибиторами EGFR [3,5,11].

На протяжении последних 15 лет все эти подходы интенсивно разрабатываются в эксперименте с целью поиска новых потенциальных противоопухолевых агентов и внедрения их в клиническую практику. Результатом этого поиска явился синтез таких препаратов из группы моноклональных антител, как цетуксимаб (C225), и препаратов из группы низкомолекулярных ингибиторов тирозинкиназной активности EGFR - иресса (ZD1839) и OSI-774, которые активно изучаются уже в рамках II и III фаз клинических исследований.

*HER2.* В настоящее время главное внимание исследователей сосредоточено на клиническом использовании моноклональных антител (МКАТ) к гену erbB2 (герцептина) и поиске новых перспективных средств воздействия на его патологическую активацию преимущественно при РМЖ [16].

Оказалось, что определение избыточной экспрессии HER2 имеет большое значение при РМЖ. Избыточная экспрессия HER2 в ткани РМЖ обнаружена у 25–30% больных. В этом случае выявление HER2 может быть независимым признаком, определяющим течение болезни и эффективность лечения.

Оценка уровня экспрессии продукта гена erbB2 – белка HER2 сопряжена с рядом сложностей. Во-первых, подавляющее число соответствующих исследований выполнено методом иммуногистохимии, который является полуколичественным по своему характеру. Зачастую представляется довольно трудным провести грань между патологической активацией гена (резким увеличением его экспрессии) и "физиологическими" количествами белка HER2. Во-вторых, большинство иммуногистохимических работ проводилось на архивных патоморфологических срезах; хотя, теоретически, подобный материал является идеальным объектом для ретроспективных исследований, использование парафиновых блоков сопряжено с дополнительными техническими трудностями, такими как деградация антигена-мишени вследствие неадекватной консервации образцов, разная чувствительность различных антител и т.д. В-третьих, ранние работы не всегда дифференцировали между мембранным и цитоплазматическим окрашиванием HER2; по-видимому, клиническую значимость представляет только рецепторная форма белка [13]. В целом, тщательно проведенные исследования демонстрируют высокий уровень конкордантности между амплификацией гена erbB2 и резким увеличением количества мембранного продукта HER 2.

Вообще метод для определения HER2 в ткани опухоли окончательно не определен, и сегодня отбор пациентов для лечения герцептином осуществляется чаще всего с помощью одобренного FDA иммуногистохимического набора DAKO (Герцептест). Пациентам с 2+ или 3+ уровнем показано лечение с включением герцептина. Так, у ранее леченных пациентов с гиперэкспрессией HER2, выявленной с помощью Герцептеста, частота объективного эффекта при назначении герцептина составила 14% [6], а у тех, кто не получал ранее химиогормонотерапию, герцептин был эффективен у 26% больных [14].

Существует еще методика определения амплификации гена erbB2 флюоресцентным методом, т.н. FISH-метод (fluorescence in situ hybridization). Исследование, проведенное D. Mass и коллегами (2000), показало, что все пациенты, ответившие на терапию с включением герцептина имели гиперэкспрессию HER2, выявленную FISH-методом [9]. Частота объективного эффекта у ранее нелеченных FISH-позитивных больных составила 41%, а у получавших ранее химиотерапию – 20%, что ставит герцептин в ряд наиболее активных лекарственных препаратов, применяемых при РМЖ. При этом в группе ранее леченных больных, имевших гиперэкспрессию HER2 2+

или 3+, выявленную Герцептестом, но FISH-отрицательных, частота объективного эффекта была равна нулю. Другой важной находкой данного исследования стало то, что амплификация гена erbB2 флюоресцентным методом обнаруживается у 3 % больных с отрицательным результатом иммуногистохимического исследования и у 7% больных с уровнем гиперэкспрессии 1+.

На практике до настоящего времени доминирующее положение принадлежит иммуногистохимическому определению HER2. Данная методика достаточно специфична, легко и быстро выполнима и доступна для большинства лабораторий. Поскольку чувствительность иммуногистохимического метода зависит от используемых моноклональных антител (МКАТ), рекомендуется работать со стандартными наборами антител, в частности с HercepTestTM фирмы "DAKO" [7]. Не исключено, однако, что автоматизация FISH и приближение ПЦР-процедуры к практическим задачам могут изменить ситуацию, и эти методики придут на смену менее специфичной IHC.

*Bcl-2* – онкоген определяет механизм клеточной смерти, подавляя апоптоз. Он также выявляется иммуногистохимически. Интенсивность реакции коррелирует с наличием ЭР, низкой степенью злокачественности. Таким образом, экспрессия Bcl-2 связана с благоприятным прогнозом РМЖ. По данным Gasparini G. et al., высокая экспрессия этого онкогена является независимым показателем лучшей безрецидивной и общей выживаемости при РМЖ с метастазами в регионарных лимфатических узлах [8].

Для модуляции антиапоптотической функции Bcl-2 был получен пептидный компонент cmp (cell permeable moiety)-1285 проапоптотического белка Bad, модифицированный присоединением молекулы жирной кислоты. Этот препарат хорошо проникает в клетку, где он связывается с белком Bcl-2, блокируя его взаимодействие с другими белками, ассоциированными с апоптозом.

## Материал и методы

В Центре медицинской генетики проведено иммуногистохимическое исследование парафиновых срезов РМЖ 30 пациенток в возрасте от 34 до 68 лет, находившихся на лечении в Национальном центре онкологии в 2003 году.

Иммуногистохимические исследования проводили с использованием стандартного комплекса стрептовидин-биотин-пероксидаза и МКАТ к рецепторам прогестерона (клон PgR 636), к ЭР (клон ID5), а также поликлональных кроличьих антител против онкобелков EGFR, HER2, Bcl-2 («DAKO», Дания). Исследования проводили на депарафинированных тканевых срезах, предварительно обработанных на водяной бане в течение 40 *мин*.

## Результаты и обсуждение

Было проведено иммуногистохимическое исследование архивного материала – парафиновых срезов больных РМЖ. На основании статуса стероидных гормонов все случаи были распределены на 4 группы: I группа – больные с $ЭР^+$ и $ПР^+$ опухолями (9 человек); II – больные с $ЭР^-$ и $ПР^-$ опухолями (9 человек); III – больные с $ЭР^+$ и $ПР^-$ опухолями (6 человек); IV – больные с $ЭР^-$ и $ПР^+$ опухолями (6 человек) (табл. 1–4).

Из 30 исследуемых препаратов экспрессия ЭР наблюдалась в 50% случаев; экспрессия ПР также в 50%; экспрессия Bcl-2 – в 33%, а экпрессия EGFR и HER2 (1+, 2+) – в 43 и 47% случаев соответственно, гиперэкспрессии HER2 (3+) выявлено не было.

Была проанализирована частота экспрессии прогностических тканевых маркеров EGFR, HER2, Bcl-2 в выделенных группах.

*Таблица 1*

*Экспрессия EGFR, HER2, Bcl-2 в группе с $ЭР^+$ и $ПР^+$ опухолями*

| ER | PR | Bcl-2 | EGFR | HER2 |
|---|---|---|---|---|
| + | + | + | - | - |
| + | + | + | - | + |
| + | + | - | - | + |
| + | + | + | - | + |
| + | + | - | - | - |
| + | + | + | + | + |
| + | + | - | - | + |
| + | + | + | + | + |
| + | + | - | - | - |

*Таблица 2*

*Экспрессия EGFR, HER2, Bcl-2 в группе с $ЭР^-$ и $ПР^-$ опухолями*

| ER | PR | Bcl-2 | EGFR | HER2 |
|---|---|---|---|---|
| - | - | - | + | - |
| - | - | - | - | - |
| - | - | - | + | + |
| - | - | - | + | - |
| - | - | - | + | + |
| - | - | - | + | + |
| - | - | + | - | - |
| - | - | - | - | - |
| - | - | - | + | - |

В группе с ЭР$^+$и ПР$^+$ опухолями экспрессия Bcl-2 была выявлена в 56% случаев, EGFR – в 22%, HER2 (2+) выявлена в 56% и (1+) в 11% случаев.

В группе с ЭР$^-$и ПР$^-$ опухолями экспрессия Bcl-2 была выявлена в 11% случаев, EGFR – в 67%, HER2 (2+) выявлена в 11% и (1+) в 22% случаев.

*Таблица 3*

*Экспрессия EGFR, HER2, Bcl-2 в группе с ЭР$^+$ и ПР$^-$ опухолями*

| ER | PR | Bcl-2 | EGFR | HER2 |
|---|---|---|---|---|
| + | - | - | - | - |
| + | - | - | - | - |
| + | - | - | + | + |
| + | - | - | + | - |
| + | - | + | - | + |
| + | - | + | + | - |

В группе с ЭР$^+$и ПР$^-$ опухолями экспрессия Bcl-2 была выявлена в 33% случаев, EGFR – в 50%, HER2 (2+) выявлена в 50%.

*Таблица 4*

*Экспрессия EGFR, HER2, Bcl-2 в группе с ЭР$^-$ и ПР$^+$ опухолями*

| ER | PR | Bcl-2 | EGFR | HER2 |
|---|---|---|---|---|
| - | + | + | - | + |
| - | + | - | - | + |
| - | + | + | - | - |
| - | + | - | + | - |
| - | + | - | + | - |
| - | + | - | - | + |

В группе с ЭР$^-$ и ПР$^+$ опухолями экспрессия Bcl-2 была выявлена в 33% случаев, EGFR – в 33%, HER2 (2+) выявлена в 17% и (1+) в 33% случаев.

Таким образом, самая высокая экспрессия Bcl-2 (56%) выявлена в I группе (табл. 1), самая низкая – во II группе (табл. 2), группы III и IV занимают промежуточное положение (табл. 3, 4).

Далее, экспрессия EGFR была наиболее выраженной во II группе, а наименее выраженной – в I группе (табл. 2 и 1 соответственно).

Сложнее обстоит дело с уровнями экспрессии HER2(2+) и HER2(1+). В целом, в I и III группах отмечается почти одинаковый высокий уровень HER2(2+) (табл.1 и 3). В то же время имеет место обратное соотношение уровней HER2(2+) и HER2(1+), с одной стороны, в I, с другой – во II и IV группах в пользу HER2 (1+) (табл. 1, 2, 4). Что же касается III группы, то в ней не выявлено экспрессии HER2(1+) вообще.

Полученные результаты соответствуют литературным данным, в частности была выявлена корреляция между экспрессией Bcl-2 и положительным статусом стероидных гормонов, и наоборот – экспрессия EGFR была связана с отсутствием в опухоли ЭР и ПР. Экспрессия HER2 (1+ и 2+) в опухолях с положительным статусом стероидных гормонов, вероятнее всего, является следствием уровня специфичности иммуногистохимического анализа. Таким больным рекомендуется проведение оценки амплификации гена erbB2 методом FISH.

Данное исследование является первым шагом в изучении прогностических тканевых маркеров EGFR, HER2, Bcl-2 в Армении, однако уже сейчас можно сказать, что выявление уровня экспрессии и соотношения указанных маркеров позволит клиницистам внести коррективы в прогноз и лечение больных с РМЖ.

*Поступила 10.02.05*

## Կանխորոշիչ հյուսվածքային մարկերների որոշումը կրծքագեղձի քաղցկեղի ժամանակ

Ա.Գ.Մկրտչյան

Ներկայացված են իմունահիստոքիմիական մեթոդով՝ ստերոիդային հորմոնների, ինչպես նաև EGFR, HER2, Bcl-2 հյուսվացքային մարկերների էքսպրեսիայի որոշման արդյունքները կրծքի քաղցկեղով 30 կանանց մոտ, որոնք դիմել են Ազգային ուռուցքաբանության կենտրոն 2003թ: Էսթրոգենների ընկալիչների էքսպրեսիան հայտնաբերվել է 50% դեպքերում, պրոգեսթերոնի ընկալիչներինը ևս 50% դեպքերում, իսկ ահա EGFR ¨ HER2(2+,1+) էքսպրեսիան՝ համապատասխանաբար 43 և 47%:

Ցույց է տրված Bcl-2 էքսպրեսիայի և ստերոիդային հորմոնների դրական կարգավիճակի միջև եղած համապատասխանացումը, ինչպես նաև EGFR էքսպրեսիայի ժամանակ ստերոիդային հորմոնների ընկալիչների բացակայությունը: HER2(2+,1+) էքսպրեսիան ստերոիդային հորմոնների դրական

կարգավիճակի դեպքում բացատրվում է իմունահիստոքիմիական մեթոդի զգայունության աստիճանով:

Ցուցադրված հյուսվածքային մարկերների փոխհամագործակցության և էքսպրեսիայի մակարդակի ուսումնասիրությունը հնարավորություն կտա բժիշկներին որոշակի շտկումներ կատարել բուժման ընթացքում:

## Prognostic tissue markers detection in patients with breast cancer

A.G.Mkrtchyan

The paper presents the results of the immunohistochemical research of estrogen, progesterone receptors and EGFR, HER2, Bcl-2 oncoproteins hyperexpression in paraffin embedded blocks of 30 women diagnosed with breast cancer in the National Center of Oncology of Armenia in 2003. Estrogen receptors expression was observed in 50% of cases; progesterone receptors expression also in 50%; Bcl-2 expression – in 33% and expression of EGFR and HER2(2+,1+) – in 43 and 47% of cases accordingly.

It is shown the correlation between Bcl-2 expression and the positive status of steroid hormones and on the contrary – EGFR expression which has been connected with steroid hormones negative status.HER2 (2+ and 1+) expression in estrogen, progesterone positive cases apparently is consequence of the degree of the immunohistochemical analysis specificity.

Revealing the levels and parities of specified markers will allow to bring in corrective amendments to the forecast and treatment of patients with breast cancer.

### Литература

1. *Геритейн Е.С., Кушлинский Н.Е.* Практическая онкология, 2002, т.3, 1, с. 38.
2. *Семиглазов В.Ф.* Практическая онкология. 2000, 2, с. 26.
3. *Baselga J.* J. Nation. Cancer Insitute, 1993, 85: 1327.
4. *Bridges A.J.* Curr. Med. Chem., 1999, 6: 825.
5. *Ciardiello F. et al.* Clin. Cancer Res., 200, 6:2053.
6. *Cobleigh M.A. Vogel C.L., Tripathy D. et al.* Program and abstracts of the American Society of Clinical Oncology 34th Annual Meeting; May 16-19, 1998; Los Angeles, California, Abstract 376.
7. *Espinoza F., Anguiano A.* J. Clin. Oncol., 1999, v. 17, p. 2293.
8. *Gasparini G., Barbaresch M., Doglioni C. et al.* Clin. Cancer Res.,1995, v. 1, p. 189.
9. *Mass R.D., Sander C., Charlene K., Johnson L., Everett T., Anderson S.* Program and abstracts of the American Society of Clinical Oncology 36th Annual Meeting; May 20-23, 2000; New Orleans, Louisiana, Abstract 291.
10. *Salomon D.S., Brandt R. et al.* Crit. Rev. Oncol. Hematol., 1995, 19:183.
11. *Sirotnak F.M. et al.* Proc. Am. Ass. Cancer Res., 41: 2000.
12. *Todderud G., Carpenter G.* Bio Factors, 1989, 2: 11.
13. *van de Vijver M.J.* Eur. J. Cancer, 2001, v. 37, Suppl 1, p. S11.
14. *Vogel C., Cobleigh M., Tripathy D. et al.* Program and abstracts of the American Society of Clinical Oncology 36th Annual Meeting; May 20-23, 2000; New Orleans, Louisiana, Abstract 275.
15. *Woodburn J.R.* Pharmacol. Ther., 1999, 82: 241.
16. *Yu D., Hung M.C.* Oncogene, 2000, v. 19, p. 6115.

УДК 612.017-092:612.17/12

# Сравнительное исследование чувствительности методов проточной цитофлюорометрии и иммуномагнитной сепарации лимфоцитов в клинической иммунологии

Т.К. Давтян, С.А. Аветисян, Д.А. Погосян

*Клинический центр "Арменикум", кафедра патофизиологии ЕрГМУ им. М. Гераци*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова*: Т-лимфоциты, проточная цитофлюорометрия, иммуномагнитная сепарация

Изучение функциональной активности и абсолютного количества популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток является основным методическим подходом для диагностики, прогнозирования и мониторинга эффективности фармакотерапии при первичных и вторичных иммунодефицитах, аутоиммунных и аллергических заболеваниях, ВИЧ-инфекции и СПИДе [1,7]. Валидным методом исследования иммунокомпетентных клеток по поверхностным маркерным антигенам или кластерным детерминантам (CD) является проточная цитофлюорометрия [4, 5]. Однако этот метод является довольно дорогостоящим, и поэтому в качестве альтернативы был предложен метод иммуномагнитной сепарации клеток в сочетании с иммуноферментным анализом (ИФА), который не требует дорогостоящего оборудования.

Оба метода основаны на использовании меченых моноклональных антител, связывающихся со специфическими для данной популяции или субпопуляции иммунокомпетентных клеток поверхностными рецепторами. При проточной цитофлюорометрии в качестве маркера используются флюорохромы, а в ИФА – фермент пероксидаза. Флюорохромы при возбуждении лазерным лучом с определенной длиной волны испускают характерное световое излучение, а пероксидаза вызывает цветовое окрашивание раствора субстрата. Измерения вышеуказанных показателей дают информацию о количестве соответствующих клеток в крови. При проточной цитофлюорометрии сначала производится подсчет абсолютного количества лейкоцитов и лимфоцитов с помощью автоматического гематологического анализатора и лишь затем – собственно цитофлюорометрия.

По данным авторов метода ИФА, нижний предел чувствительности для $CD4^+$ Т-клеток составляет 14 клеток/*мкл*, а для $CD8^+$ Т-клеток – 15 клеток/*мкл*. При этом наблюдается высокая корреляция ($r^2 = 0,95$ для CD4 и $r^2 = 0,81$ для CD8) между данными этого метода и метода проточной цитофлюорометрии [3], то есть данные этих двух методов сопоставимы. Однако в ходе клинических испытаний препарата Арменикум были выявлены существенные расхождения в данных, полученных с применением этих методов.

Целью настоящей работы явилось сравнительное изучение двух методов, применяющихся для измерения содержания иммунокомпетентных клеток: проточной цитофлюорометрии в сочетании с автоматическим гематологическим анализом крови и иммуномагнитной сепарации клеток с последующим иммуноферментным анализом. Также исследованы некоторые причины расхождения данных, полученных с помощью методов ИФА и проточной цитофлюорометрии.

## Материал и методы

*Пациенты.* В исследование были включены 150 ВИЧ-инфицированных из 13 стран: мужчины – 79%, женщины – 21%. Подавляющее большинство больных (80%) вошли в возрастную группу от 21 до 40 лет. Удельный вес больных в стадии СПИДа составил 27%. Для определения содержания $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов брали венозную кровь в объеме 4 *мл* в пробирки, содержащие К3 ЭДТА (Vacuette, Greiner).

*Гематологические исследования цельной венозной крови.* Абсолютные и относительные гематологические показатели крови определяли автоматически с использованием счетчика клеток Hycel (Celly, Франция). Электронный метод подсчета клеток основан на измерении электропроводимости суспензии клеток крови в буферном растворе. Гематологический анализатор дифференцирует популяции белых клеток крови, согласно их размерам в условиях лизиса. Лимфоциты после лизиса коррелируют с клетками, занимающими на гистограмме WBC регион от 30 до 100 *фл* (фемтолитр – $10^{-15}$ *л*). Клетки среднего размера (моноциты, базофилы, эозинофилы) располагаются на гистограмме в регионе от 100±5 до 155±1 *фл*. Нейтро-

фильные гранулоциты после лизиса коррелируют с клетками, расположенными на гистограмме между 155±10 и > 440 *фл*.

*Проточная цитофлюорометрия клеток.* Измерения проводили на проточном цитофлюорометре FACS Calibur (Becton Dickinson), состоящем из жидкостной системы, оптической части, электронного блока, охлаждаемого воздухом аргонно-ионного лазера, генерирующего синее излучение с длиной волны 488 *нм*, мощностью 15 *Вт* и компьютерного модуля. Оптическая схема прибора представлена на рис.1.

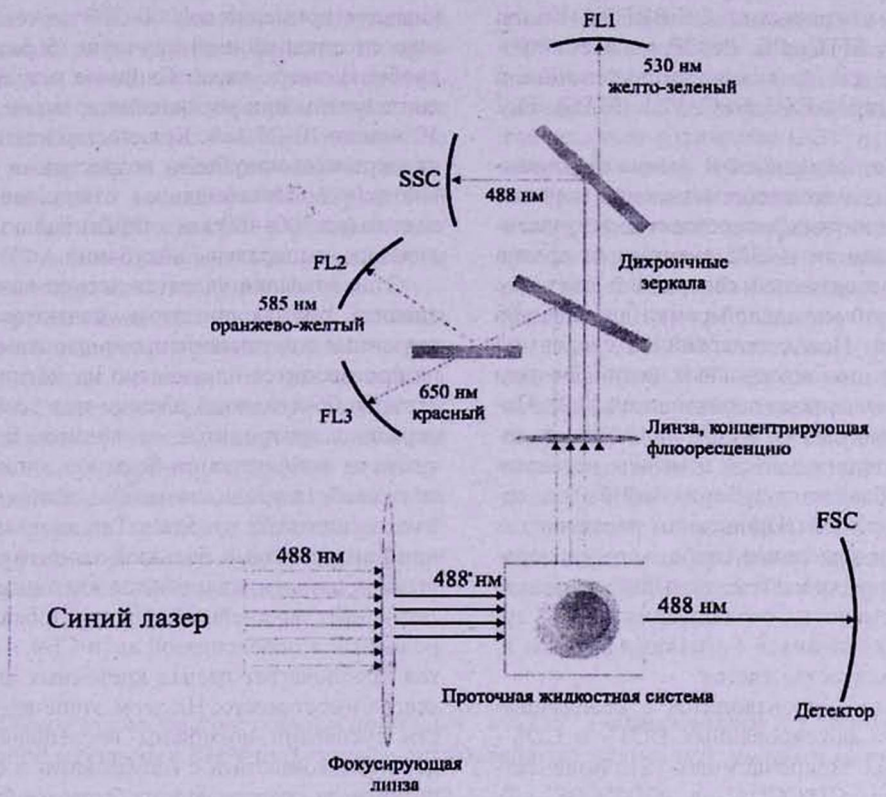



Рис. 1. Оптическая схема проточного цитофлюорометра

Сущность метода заключается в следующем: сначала производится иммунофенотипирование клеток – обработка моноклональными антителами, меченными различными флюоресцентными красителями (флюорохромами). В качестве флюорохромов в настоящее время широко используются флюоресцеинизотиоцианат (FITC), фикоэритрин (PE), хлорофильный белок перидинин (PerCP) и др., которые при возбуждении лазерным лучом с длиной волны 488 *нм* излучают соответственно зеленый, оранжевый и красный свет [6,8]. При обработке клеток смесью моноклональных антител, специфичных к CD4, CD8, CD19 и CD16+56 использовали наборы двухцветового (FITC/PE) и/или трехцветового (FITC/PE/PerCP) окрашивания клеток в соответствии с инструкциями фирмы-производителя (Becton Dickinson). После обработки клеток мечеными антителами производится лизис эритроцитов, а затем – анализ клеток в фокусированном пучке лазерного излучения, где каждый флюорохром испускает характерное световое излучение. Оптические сигналы преобразуются в электрические, передаются в компьютерный модуль, где и производится сбор и обработка информации. Клеточная взвесь при анализе распыляется на микрокапли, содержащие по единичной клетке. Таким образом, каждая клетка анализируется отдельно, что позволяет не только избежать появления артефактов, но и определить уровень экспрессии соответствующего рецептора на поверхности клетки.

Существуют две различные методики обработки клеток цельной крови моноклональными антителами, мечеными различными флюорохромами для их последующего анализа на проточном цитофлюорометре. Первый метод – лизис с отмывкой, предполагает добавление смеси моноклональных антител в цельную кровь, инкубацию, после чего производится лизис эритроцитов и двукратная отмывка буферным раствором. Второй метод – лизис без отмывки исключает стадию отмывки клеток крови и дает возможность проанализировать клетки сразу после лизиса эритро-

цитов. Таким образом, в зависимости от конкретных задач, анализ можно проводить с использованием как цельной периферической крови, так и только мононуклеарной фракции клеток.

Калибровка аппарата производится автоматически, отдельно для каждого из двух типов обработки клеток антителами, с помощью смеси нефлюоресцирующих и флюоресцирующих микрочастиц CaliBRITE (Becton Dickinson), меченых FITC, PE, PerCP и пакета программы FACSComp для детекции, амплификации и компенсации параметров FSC, SSC, FL1 (FITC), FL2 (PE) и FL3 (PerCP).

*Иммуномагнитная сепарация и иммуноферментный анализ.* Сущность метода состоит в смешивании с цельной кровью магнитных микрочастиц, нагруженных моноклональными анти-CD2 антителами против пула Т-клеток с последующей сепарацией клеток с помощью специальной магнитной рамки для стрипов 96-луночной плашки. После сепарации в суспензию клеток добавляются моноклональные анти-CD4 или анти-CD8 антитела, меченные пероксидазой [2,9]. После того, как они свяжутся со своей мишенью на поверхности клетки, производится отмывка несвязавшихся антител и добавляется субстратный буфер, содержащий $H_2O_2$ и хромоген. Происходит расщепление $H_2O_2$ пероксидазой и выделение свободного кислорода, который окисляет хромоген, вызывая цветовую реакцию. По интенсивности окрашивания можно судить о количестве связавшихся с клетками антител и, соответственно, о количестве клеток.

Калибровка системы производится с использованием стандартов – фиксированных $CD4^+$- и $CD8^+$-клеток на магнитных микрочастицах [2]. Количественное определение $CD2^+CD4^+$ и $CD2^+CD8^+$ Т-лимфоцитов проводили в цельной крови (в течение 6 часов после забора) с использованием тест-системы Capcella® CD4/CD8, Whole Blood/Sang total по рекомендации фирмы-производителя Sanofi Pasteur (Франция). Также использовались магнитные шарики Dynabeads® M-450 Pan-T (CD2) производства фирмы Dynal. Диаметр магнитных частиц этих двух наборов составляет 0,5–0,8 и 4,5 *мкм* соответственно.

Количество $CD2^+CD4^+$ и $CD2^+CD8^+$ Т-лимфоцитов определялось по калибровочной кривой, построенной с использованием стандартных, фиксированных на парамагнитных шариках $CD4^+$- и $CD8^+$- клеток.

## Результаты и обсуждение

*Определение абсолютного количества $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток методом иммуноферментного анализа.* Нами проведены исследования для определения количества $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток у 110 больных с ВИЧ-инфекцией в динамике лечения препаратом Арменикум. Результаты проведенных исследований позволили нам выявить некоторые причины получения несопоставимых и невоспроизводимых данных.

Смешивание периферической крови с магнитными частицами и время инкубации являются весьма критическими для воспроизводимости результатов. При инкубации смеси на шейкере (частота колебаний 50–450 *об/мин*) количество $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток увеличивается примерно на 200–300 клеток/*мкл* по сравнению со смешиванием вручную (5 раз переворачивая пробирку вверх-вниз). Сходные результаты нами были получены при увеличении времени инкубации с 5–10 *мин* до 10–25 *мин*. Количество клеток при увеличении времени инкубации возрастало в среднем на 100 клеток/*мкл*. Максимальное отклонение в количестве клеток (на 300–400 клеток/*мкл*) наблюдалось при увеличении температуры инкубации.

Этап отмывки является весьма важным моментом анализа, так как при этом удаляются все клетки, не связанные с парамагнитными шариками. Эта процедура производится однократно на магнитной рамке для стрипов 96-луночной плашки и, в зависимости от содержания эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов, а также от концентрации белков и липидов, реологических свойств крови, возможно возникновение различных технических проблем. Так, при высоком содержании эритроцитов и большой концентрации белков на стенках лунок скапливаются клеточные агрегаты, что затрудняет дальнейший анализ. Добавление конъюгированных с пероксидазой анти-CD4 и анти-CD8 антител предполагает распад клеточных агрегатов, что не всегда имеет место. На этом этапе из-за негомогенности суспензии возможны неспецифические взаимодействия конъюгата с мембранами и белками, остающимися на стенках лунок. Этим и объясняется получение ложно увеличенных данных для $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток, так как процедура отмывки не является эффективной и производится однократно.

Таким образом, результаты проведенных исследований свидетельствуют о том, что на первом же этапе анализа по крайней мере три фактора существенно влияют на конечный результат. Увеличение количества анализируемых клеток под влиянием температуры, времени инкубации и интенсивности перемешивания реагентов, по-видимому, связано с неспецифическим захватом магнитных шариков фагоцитирующими клетками, которые присутствуют в цельной крови (нейтрофилы, моноциты). Для выявления фагоцитоза магнитных частиц клетками в ходе анализа мы проводили эксперимент с использованием анти-CD2 магнитных шариков диаметром 0,5–0,8 и 4,5 *мкм*. При смешивании магнитных шариков с клетками в соотношении 20:1, нами было обнаружено, что более крупные шарики связывали в 2–3 раза меньше клеток, чем мелкие. Естественно предположить, что крупные шарики не могут быть фагоцитированы и, следовательно, будут связываться именно с клетками, реально экс-

прессирующими CD2 антиген, в то время как мелкие частицы вполне могут фагоцитироваться и неспецифическим образом связываться с другими, не экспрессирующими CD2 антиген клетками.

Повышенные данные о содержании $CD4^+$ Т-клеток, полученные методом ИФА, по-видимому, являются следствием неспецифического взаимодействия моноклональных анти-CD4 антител с популяцией $CD4^+$ моноцитов/макрофагов и/или фагоцитоза парамагнитных шариков этими клетками, а также присутствия адгезирующих пластин моноцитов вследствие неполноценной отмывки лунок. Различия количества $CD8^+$ Т-клеток между двумя методами анализа также, по-видимому, связаны с неспецифической реакцией моноклональных анти-CD8 антител с дендритными клетками при ИФА и вариабельностью исходного и остаточного количества клеток в лунках плашки.

Еще одной причиной ненадежности ИФА является различный уровень экспрессии рецепторов на поверхности клеток у разных доноров. Так как конечный эффект при ИФА (цветовое окрашивание) зависит от количества связавшихся с клетками моноклональных антител, то есть от суммарного количества рецепторов, с которыми они связываются, то при одинаковом количестве исследуемых клеток те образцы, в которых экспрессия рецептора выше, будут давать более интенсивное окрашивание. В то же время этот фактор не имеет значения при проточной цитофлюорометрии, так как там каждая клетка анализируется отдельно. Возможно, что именно этим объясняется тот факт, что добавление в кровь различных фармакологических препаратов в терапевтических концентрациях также сильно влияет на количество $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток при ИФА. Так, в присутствии Арменикума наблюдается подавление взаимодействия конъюгатов с $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клетками, а в присутствии доксорубицина, наоборот, – усиление. Следовательно, в присутствии определенных концентраций лекарственных препаратов реальное количество $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток определить по методу ИФА невозможно.

Сравнительный анализ данных, полученных с помощью проточной цитофлюорометрии и ИФА, позволил выявить тот диапазон содержания клеток, в котором результаты обоих методов достаточно близки. Данные в основном совпадают при содержании $CD4^+$ Т-клеток 350–550 клеток/*мкл* ($r^2$=0.8), тогда как при содержании $CD4^+$ Т-клеток меньше 220 и больше 600 наблюдаются существенные различия. Данные о количестве $CD8^+$ Т-клеток существенно различаются во всем диапазоне содержания клеток у исследованных доноров. При этом количество $CD4^+$ клеток при использовании метода ИФА было повышено по сравнению с данными проточной цитофлюорометрии, а количество $CD8^+$ клеток – в основном понижено (табл.).

*Таблица*

*Сравнительное исследование содержания $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов в 1 мкл крови здоровых доноров и больных ВИЧ-инфекцией, определенного тремя различными методами*

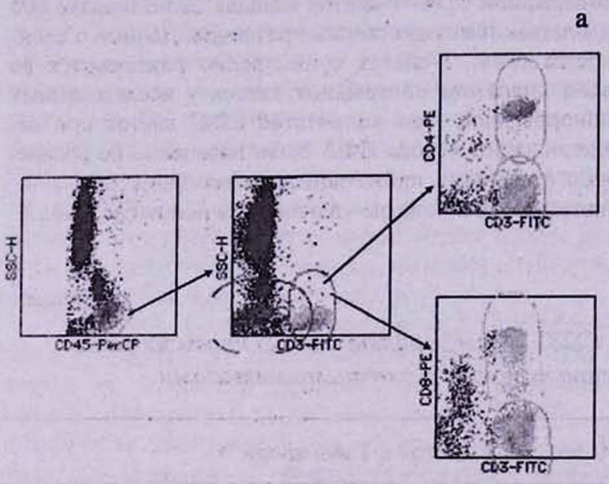
| Группы исследования | | Абсолютное содержание $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-клеток в 1 *мкл* крови | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | ИФА | | Двухцветная цитофлюорометрия | | Трехцветная цитофлюорометрия | |
| | | CD4 | CD8 | CD4 | CD8 | CD4 | CD8 |
| Здоровые доноры | | 961±27.6<br>n=18<br>$r_1^2$=0.71 | 871±192<br>n=18<br>$r_1^2$=0.32 | 895±67<br>n=18<br>$r_2^2$=0.96 | 634±49<br>n=18<br>$r_2^2$=0.96 | 829±59<br>n=18 | 627±34<br>n=18 |
| Больные ВИЧ-инфекцией | Стадия А | 599±44<br>n=34<br>$r_1^2$=0.76 | 619±47<br>n=34<br>$r_1^2$=0.4 | 559±83<br>n=32<br>$r_2^2$=0.96 | 562±80<br>n=32<br>$r_2^2$=0.91 | 528±89<br>n=34 | 535±76<br>n=34 |
| | Стадия В | 536±32<br>n=89<br>$r_1^2$=0.36 | 617±59<br>n=89<br>$r_1^2$=0.29 | 438±34<br>n=75<br>$r_2^2$=0.97 | 1103±86<br>n=75<br>$r_2^2$=0.98 | 412±27<br>n=80 | 1090±100<br>n=80 |
| | Стадия С | 367±59<br>n=25<br>$r_1^2$=0.33 | 488±62<br>n=25<br>$r_1^2$=0.53 | 190±82<br>n=22<br>$r_2^2$=0.94 | 588±101<br>n=22<br>$r_2^2$=0.93 | 174±72<br>n=21 | 567±97<br>n=21 |

$r_1^2$ – корреляция между ИФА и двухцветной проточной цитофлюорометрией,
$r_2^2$ – корреляция между двух- и трехцветной проточной цитофлюорометрией

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать заключение о том, что определение абсолютного количества $CD4^+$ и $CD8^+$ Т-лимфоцитов методами иммуномагнитной сепарации в сочетании с ИФА является невалидным, невоспроизводимым методом, весьма чувствительным к техническим условиям проведения анализа, гематологическим показателям крови и присутствию фармакологических препаратов.

*Проточная цитофлюорометрия популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток.* Для цитофлюорометрического определения абсолютного и относительного содержания популяций и субпопуляций иммунокомпетентных клеток необходимым условием является комбинированное использование двух независимых приборов: гематологического анализатора и проточного цитофлюорометра. При этом абсолютное количество лимфоцитов и/или их процентное содержание вместе с количеством лейкоцитов, полученное с помощью гематологического анализатора, вводится в соответствующую программу проточного цитофлюорометра для автоматического подсчета абсолютного и относительного количества популяций иммуноцитов.

В проточной цитофлюорометрии весьма существенную роль играет обработка клеток мечеными моноклональными антителами. В принципе количество отдельных популяций можно проанализировать с помощью монофлюорохромного окрашивания клеток (например, FL1-FITC), а потом по гистограммам «количество клеток/интенсивность флюоресценции» и/или по дот-плотам «FL1-FITC/FSC» или «SSC/FL1-FITC», определить количество клеток. Однако в данном случае точность, воспроизводимость и чувствительность анализа будут приближаться к таковым при использовании метода иммуномагнитной сепарации клеток в сочетании с ИФА.



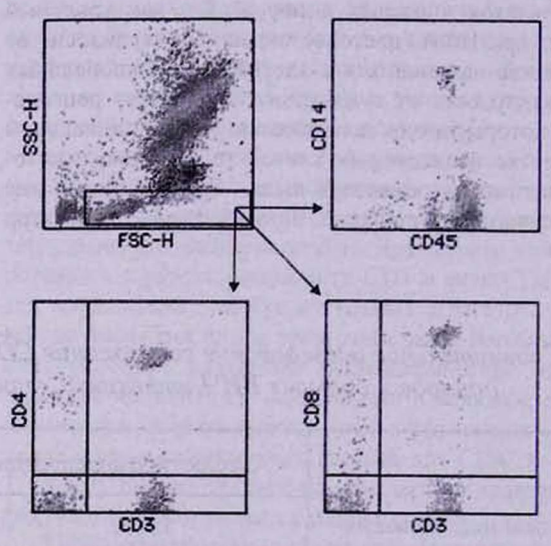




Рис.2. а – проточная цитофлюорометрия с дифлюорохромным окрашиванием клеток. В первом дот-плоте «FSC-H/SSC-H» выбирается регион, содержащий мононуклеарные клетки, а для исключения популяции моноцитов производится автоматическая корректировка по дот-плоту «CD45/CD14». Выбранный участок анализируется с использованием флюорохромных пар CD3/CD4 и CD3/CD8 для определения количества клеток в различных субпопуляциях Т-лимфоцитов;

б – проточная цитофлюорометрия с трифлюорохромным окрашиванием клеток. В дот-плоте «CD45-PerCP/SSC-H» выбирается регион, содержащий мононуклеарные клетки. Затем производится анализ выборки в дот-плоте «CD3-FITC/SSC-H» для определения популяции Т-клеток. После этого данный участок анализируется в дот-плотах «CD3-FITC/CD4-PE» или «CD3-FITC/CD8-PE», с помощью которых определяются субпопуляции Т-клеток

Второй метод – дифлюорохромная обработка клеток – предполагает использование двух каналов флюоресцентных сигналов: FL1-FITC и FL2-PE в сочетании с FSC и SSC (рис.2а). Этим методом нами проанализированы 20 ВИЧ-инфицированных и 10 здоровых людей. При использовании данного метода популяции и субпопуляции оцениваются по зоне, выбранной размерами клеток (FSC), и с исключением из зоны моноцитов ($CD14^+$) определяется количество дубль-позитивных и FITC- или PE-позитивных клеток. При этом чувствительность метода резко увеличивается, так как: 1) из зоны анализа удаляются моноциты; 2) производится группировка клеток по двум поверхностным антигенам и 3) можно проконтролировать все этапы анализа с помощью сопоставления инвариантной антигенной детерминанты доминирующей популяции (например, CD3 антиген для Т-лимфоцитов). В результате такого анализа количество дубль-

позитивных клеток, например, $CD3^+CD4^+$ и $CD3^+CD8^+$ субпопуляции Т-лимфоцитов, располагаются в соответствующих дот-плотах в противоположной ориентации по отношению друг к другу и, таким образом, можно определить их абсолютное и относительное количество достаточно точно.

В современном иммуноанализе революционным методом иммунофенотипирования клеток является трифлюорохромное окрашивание клеток в сочетании с методом обработки «лизис без отмывки» и компьютерной программы кластерного анализа антигенных детерминант (рис. 2б). В настоящее время трехканальное иммунофенотипирование является наиболее точным, воспроизводимым и чувствительным методом при клинических испытаниях анти-ВИЧ и иммуномодулирующих препаратов. Нами в лаборатории клинического центра "Арменикум" методом трехцветного иммунофенотипирования проанализированы 98 ВИЧ-инфицированных и 32 здоровых человека. Данный формат анализа предполагает использование трех флюоресцентных каналов анализа по FL1-FITC, FL2-PE и FL3-PerCP в сочетании с FSC и SSC. При этом анализируемый регион определяется по наибольшей популяции клеток крови – лейкоцитов, экспрессирующих CD45 антиген, и по гранулярности клеток (CD45PerCP/SSC) с последующей субрегионной сегрегацией Т-лимфоцитов – CD3FITC/SSC. Популяции и субпопуляции иммунофенотипируются по этим регионам как $CD45^+CD3^+CD4^+$ Т-хелперы, $CD45^+CD3^+$ $CD8^+$ – цитотоксические/супрессорные Т-лимфоциты, $CD45^+CD3^-$ $CD19^+$ В-клетки и $CD45^+CD3^-$CD16+56 NK-лимфоциты (рис. 2б). С помощью компьютерной программы MultiSET со встроенным аттрактором кластерного анализа антигенных детерминант автоматически определяется абсолютное и относительное количество всех основных популяций и субпопуляций иммуноцитов.

Таким образом, использование метода проточной цитофлюорометрии клеток в сочетании с двух- или трехцветным иммунофенотипированием и кластерным компьютерным анализом данных является наиболее чувствительным, точным и воспроизводимым методом современного иммунологического анализа в клинической практике.

*Поступила 11.01.05*

## Կլինիկական իմունաբանության մեջ լիմֆոցիտների իմունամագնիսական սեպարացիայի եւ հոսքային ցիտոֆլյուրոմետրիայի մեթոդների զգայունության համեմատական ուսումնասիրությունը

Տ.Կ. Դավթյան, Ս.Ա. Ավետիսյան, Դ.Ա. Պողոսյան

Աշխատանքի նպատակն է իմունակոմպետենտ բջիջների պարունակությունը որոշող մեթոդների՝ հոսքային ցիտոֆլյուորոմետրիա արյան ավտոմատ հեմատոլոգիական քննությամբ զուգորդված և բջիջների իմունամագնիսական սեպարացիա, որին հաջորդում է իմունաֆերմենտային քննություն, համեմատական հետազոտությունը: Հոդվածում ներկայացվում են այդ մեթոդները և նրանց միջոցով մարդու ծայրամասային արյան իմունակոմպետենտ բջիջների ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$) պարունակության տվյալների համեմատությունը: Ուսումնասիրությունները պարզեցին, որ այդ երկու մեթոդներով ստացված տվյալների միջև կան լուրջ տարբերություններ: Լիմֆոցիտների $CD4^+$, $CD8^+$ բացարձակ քանակությունների որոշումը իմունաֆերմենտային քննության միջոցով վերարտադրելի չէ, խիստ զգայուն է քննության տեխնիկական պայմանների, հեմատոլոգիական ցուցանիշների և ֆարմակոլոգիական պատրաստուկների ներկայության նկատմամբ: Նույն խնդրի լուծման համար բջիջների հոսքային ցիտոֆլյուրոմետրիկ մեթոդի զուգակցումը երկ- կամ եռգույն իմունաֆենոտիպավորմամբ և տվյալների կլաստերային համակարգչային քննությամբ հանդիսանում է առավել զգայուն, ճշգրիտ և իրագործելի:

## Comparative study of the sensitivity of the methods of flow cytofluorometry and immunomagnetic separation of lymphocytes in clinical immunology

T. K. Davtyan, S. A. Avetisyan, D. A. Poghosyan

The aim of the work was the comparative study of two methods applied for the determination of the quantity of immunocompetent cells: flow cytofluorimetry in combination with automatic hematological analysis of blood, as well as immunomagnetic separation of cells with consequent immunoenzyme analysis. The basics of these meth-

ods are described in the article and a comparison of the results obtained is carried out using them in a study of the quantity of immunocompetent cells ($CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$) in whole human blood. Our studies show that there are serious discrepancies between the data obtained upon the application of flow cytofluorometry and the results of the immunoenzyme analysis. The determination of the absolute quantities of $CD4^+$ and $CD8^+$ T-lymphocytes using immunoenzyme analysis is irreproducible, the method is quite sensitive to the technical conditions in which the analysis is carried out, to the hematological indices of blood and to the presence of pharmacological drugs. Flow cytofluorometry of cells, in combination with bi- or trichromatic immunophenotyping and cluster computer analysis of the data is the most sensitive, accurate and reproducible method for determination of the absolute quantities of $CD4^+$ and $CD8^+$.

## Литература


1. *Boffil M., Janossy G., Lee C.A. et al.* Clin. Exp. Immunol., 1992, 88, p.243.
2. *Carriere D., Fontaine C., Berthier A.M. et al.* Clin. Chem., 1994, 40, p.30.
3. *Carriere D., Vendrell J.P., Fontaine C., Jansen A., Reynes J., Pages I., Holzmann C., Laprade M., Pau B.* Clin. Chem., 1999, 45, p.92.
4. Guidelines for the Performance of CD4+ T-Cell Determinations in Persons with Human Immunodeficiency Virus Infection. CDC, 1992, 41, No RR-S.
5. Revised Guidelines for Performing CD4+ T-Cell Determinations in Persons Infected with Human Immunodeficiency Virus. CDC, 1997, 461-29.
6. *Reimann K.A., O'Gorman M.R.G., Spritzler J., Wilkening C.L. et al.* Clin. Diag. Lab. Immunol., 2000, 7, p.344.
7. *Reimann K.A., Chernoff M., Wilkening C.L., Nickerson C.E., Landay A.L.* Clin. Diag. Lab. Immunol., 2000, 7, p.352.
8. *Schnizlein-Bick C.T., Spritzler J., Wilkening C.L., Nicholson J.K.A., O'Gorman M.R.G.,* Clin. Diag. Lab. Immunol., 2000, 7, p.336.
9. WHO workshop on flow cytometry and alternative methodologies for CD4 lymphocyte determinations: applications for developing countries. AIDS, 1994, 8, WHO1-WHO4.

УДК 615.2 + 616-056.9:616-092

# Фармакологическая модуляция спонтанного и индуцированного дыхательного взрыва гранулоцитов и моноцитов при семейной средиземноморской лихорадке

С.А. Аветисян

*Кафедра патофизиологии ЕрГМУ им. М. Гераци*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова*: семейная средиземноморская лихорадка, спонтанный и индуцированный дыхательный взрыв, нейтрофилы, моноциты, колхицин, йод-литий-α-декстрин (Арменикум), глюкокортикоиды

Семейная средиземноморская лихорадка (ССЛ), или периодическая болезнь, является классическим аутовоспалительным заболеванием, молекулярные механизмы патогенеза которого заключаются в нарушении регуляции активации и апоптоза эффекторных клеток воспаления и естественного иммунитета [10]. При ССЛ обнаружено усиление хемотаксиса [4], хемилюминесценции [3], продукции лизоцима и супероксид аниона нейтрофилами [5]. Также наблюдается выраженный дисбаланс между про- и антиоксидантными системами [1, 9]. Известно, что при ССЛ отмечается высокая чувствительность к колхициновой и весьма низкая – к глюкокортикоидной терапии [7, 10]. Литературные данные указывают на усиление спонтанного дыхательного взрыва нейтрофилов и моноцитов в межприступном периоде ССЛ [1, 9]. Поэтому важное значение приобретает изучение фармакологической регуляции активности спонтанного и индуцированного дыхательного взрыва нейтрофилов и моноцитов периферической крови больных ССЛ именно в этом периоде. В связи с этим нами проведено сравнительное изучение влияния препаратов различных фармакологических групп на спонтанный и индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов периферической крови только больных ССЛ в межприступном периоде, не получавших колхициновую терапию. Нами было исследовано сравнительное влияние колхицина, дексаметазона, преднизолона, йод-литий-α-декстрина (Арменикум) и рекомбинантного фактора некроза опухолей-α (ФНО-α) на спонтанный и хемотаксис-, протеинкиназа С-, фагоцитоз-индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов периферической крови больных in vitro.

## Материал и методы

*Периферическая кровь.* Была исследована периферическая кровь 12 больных ССЛ в межприступном периоде возрастной группы 18–27 лет. Больные не получали колхицин и не имели амилоидоза. Забор крови проводили в пробирки, содержащие литий-гепарин (Vacuet, Greiner). Гематологические показатели определяли с помощью автоматического клеточного анализатора Celly v2.20 (Hycel Diagnostics).

*Количественное определение дыхательного взрыва гранулоцитов и моноцитов.* Метод определения дыхательного взрыва основан на измерении флюоресценции единичных клеток при их инкубации с высокочувствительным флюоресцентным зондом – дигидродамином 123 (DHR123), вступающим в реакцию с кислородсодержащими свободными радикалами (КСР – супероксид-анион, перекись водорода и гипохлорная кислота). Цитофлюорометрическое определение дыхательного взрыва моноцитов и нейтрофилов проводили при помощи тест-системы Bursttest (Orpegen Pharma). Для этого к 100 *мкл* цельной крови добавляли 20 *нг/мл* форбол-12-миристил-13 ацетата (PMA), или 100 *нг/мл* синтетического пептида N-формилметионин-лейцин-фенилаланин (fMLP), или $2\times10^7$ опсонизированных и фиксированных формалином *E. coli*, или 20 *мкл* забуференного физиологического раствора и пробы инкубировали 10 *мин* при 37°C. После инкубации в пробы добавляли DHR123 и продолжали инкубировать при той же температуре в течение 10 *мин*. ДНК клеток окрашивали витальной краской – пропидий йодидом. Активность (% клеток, подвергающихся дыхательному взрыву) и интенсивность дыхательного взрыва (относительная способность единичной клетки продуцировать КСР, что представлено как геометрический средний номер канала флюоресценции – СНК)

в отсутствие (спонтанный дыхательный взрыв) или в присутствии индукторов (индуцированный дыхательный взрыв) определяли на цитофлюорометре FACSCalibur™ с пакетом программ CellQuest (Becton Dickinson) отдельно для каждой популяции клеток.

*Влияние фармакологических препаратов на фагоцитарную активность.* Нами были использованы колхицин (Sigma), дексаметазон (KRKA), рекомбинантный ФНО-α (R&D systems), а также йод-литий-α-декстрин "Арменикум"™ (Арм) (производство ЗАО "Арменикум", Ереван, Армения). Аликвоты образцов цельной крови по 1 *мл* инкубировали в присутствии различных концентраций препаратов в течение 3 *ч* при 37°С. Контролем служила необработанная периферическая кровь больных ССЛ в межприступном периоде. После завершения инкубации и гематологического анализа крови проводили проточную цитофлюорометрию по описанной выше методике.

*Статистическая обработка данных.* При статистическом анализе контрольной и опытной групп проводилась проверка вариационных рядов на нормальность распределения и однородность дисперсий (критерий Колмогорова-Смирнова, W- и F-критерий). В случаях, когда гипотеза нормальности отвергалась, использовались непараметрические критерии Уилкоксона-Манна-Уитни ($P_y$). В остальных случаях расчет проводился с помощью критерия Стьюдента ($P_t$) и парного Т-критерия ($P_p$).

## Результаты и обсуждение

В таблице представлены результаты исследования влияния препаратов на спонтанный и хемотаксис- (fMLP), протеинкиназа С- (PMA), фагоцитоз- (*E. coli*) зависимый дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов больных in vitro.

Колхицин стимулирует активность и интенсивность спонтанного дыхательного взрыва нейтрофилов и значительно подавляет fMLP-, PMA- и фагоцитоз-индуцированную продукцию КСР в обеих популяциях клеток больных ССЛ. Арм в разведении 1:400 подавляет активность и интенсивность хемотаксис-зависимого дыхательного взрыва моноцитов и нейтрофилов. Подобно колхицину дексаметазон, преднизолон и рекомбинантный ФНО-α стимулируют активность и интенсивность спонтанного дыхательного взрыва нейтрофилов, но, в отличие от колхицина, стимулиру-

*Таблица*

*Влияние различных фармакологических препаратов на спонтанный и индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов больных ССЛ*

| Фарм. препарат | Активность дыхательного взрыва (%) | | | | Интенсивность дыхательного взрыва (СНК) | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | спонтанный | fMLP | PMA | E. coli | спонтанный | fMLP | PMA | E. coli |
| Нейтрофилы Контроль | 11.2±2.5 | 57.1±13.9 | 98±0.8 | 99.6±0.1 | 108±9.7 | 343.5±93.2 | 1037±293 | 1536±380 |
| Колхицин (10 *мкг/мл*) | 42.5±12.7• | 49.1±17.4 | 54.7±13.5° | 55.1±12.4° | 180.5±16.7• | 215.6±75.8° | 218.7±56.4• | 223.4±67.4•• |
| Арм (1:400) | 11.6±0.9 | 41±9.5° | 97.4±2 | 96.5±3.2 | 108.7±12.3 | 302.7±67.6 | 961.9±305.2 | 1734±446 |
| Дексаметазон (50 *мкг/мл*) | 28.3±6.7° | 79.3±11.5• | 98.1±1.1 | 98.2±0.6 | 148.5±10.8° | 431.6±64.9° | 1221±329 | 1891±515 |
| Преднизолон (25 *мкг/мл*) | 86.6±22.7• | 81.8±14.9• | 97.9±0.8 | 98.1±0.6 | 160.4±34.4° | 473.4±59.8° | 899.6±294 | 1785±465 |
| ФНО-α (5 *нг/мл*) | 41.5±9.7• | 86.5±12.5• | 98.1±0.9 | 98.2±0.4 | 173.9±21.9° | 425±62.9° | 1426±319 | 1981±625 |
| Моноциты Контроль | 19.4±4.5 | 35.5±10.8 | 64.7±13.8 | 73.5±18.2 | 117.8±12.4 | 209.6±67 | 345.1±92 | 464.2±117.3 |
| Колхицин (10 *мкг/мл*) | 28.5±10.3° | 30.6±12.6 | 33.5±7.9• | 27.8±10.4• | 92.6±19.5° | 102.7±21.5° | 106.7±15.1• | 90.6±18.3• |
| Арм (1:400) | 14.3±3.1 | 23.1±7.1° | 71.7±17.4 | 76.4±18 | 128.4±18.2 | 154.4±49.9 | 323.7±113.4 | 430.3±142.2 |
| Дексаметазон (50 *мкг/мл*) | 21.5±6.7° | 70.6±12.5• | 95.5±19.9° | 881±5.9• | 103.3±22.1 | 315.6±52.8° | 342.6±114 | 479.4±92.9 |
| Преднизолон (25 *мкг/мл*) | 30.8±9.8° | 82.1±16.7• | 89.3±7.8° | 85.6±9.3° | 121±22.5 | 397±61.2° | 336±95 | 525±125.5 |
| ФНО-α (5 *нг/мл*) | 63.5±14.4° | 77.6±20.2• | 97±0.9• | 98±0.8• | 118±12.2 | 298±52.2° | 390±84.6 | 450±92.8 |

*Примечание.* • $p_t<0.05$; •• $p_t<0.001$; °$p_p\leq0.05$ по сравнению с необработанной кровью

моноцитов и нейтрофилов больных ССЛ (табл.).

Дексаметазон, преднизолон и рекомбинантный ФНО-α, в отличие от колхицина, стимулируют активность и интенсивность фагоцитоз-индуцированной продукции КСР моноцитов, но не имеют существенного влияния в популяции нейтрофилов больных. Как следует из представленных данных, Арм по степени подавляющего эффекта на хемотаксис-зависимый дыхательный взрыв моноцитов и нейтрофилов отличается как от колхицина, так и от глюкокортикоидов. В то же время колхицин является наиболее эффективным ингибитором протеинкиназа С- и фагоцитоз-индуцированной продукции КСР нейтрофилами и моноцитами больных (табл.).

Таким образом, сравнительное изучение действия фармакологических препаратов различных групп показало, что наиболее эффективными ингибиторами хемотаксис-, протеинкиназа С- и фагоцитоз-зависимого дыхательного взрыва нейтрофилов и моноцитов больных ССЛ являются колхицин и Арм, в то время как синтетические глюкокортикоиды проявляют противоположную активность или не оказывают существенного воздействия.

Из вышеприведенных данных видно, что Арм, в отличие от колхицина и глюкокортикоидов, является наиболее эффективным ингибитором хемотаксис-зависимого дыхательного взрыва моноцитов и нейтрофилов. В связи с этим представилось интересным изучение совместного действия Арм с вышеуказанными фармакологическими препаратами.

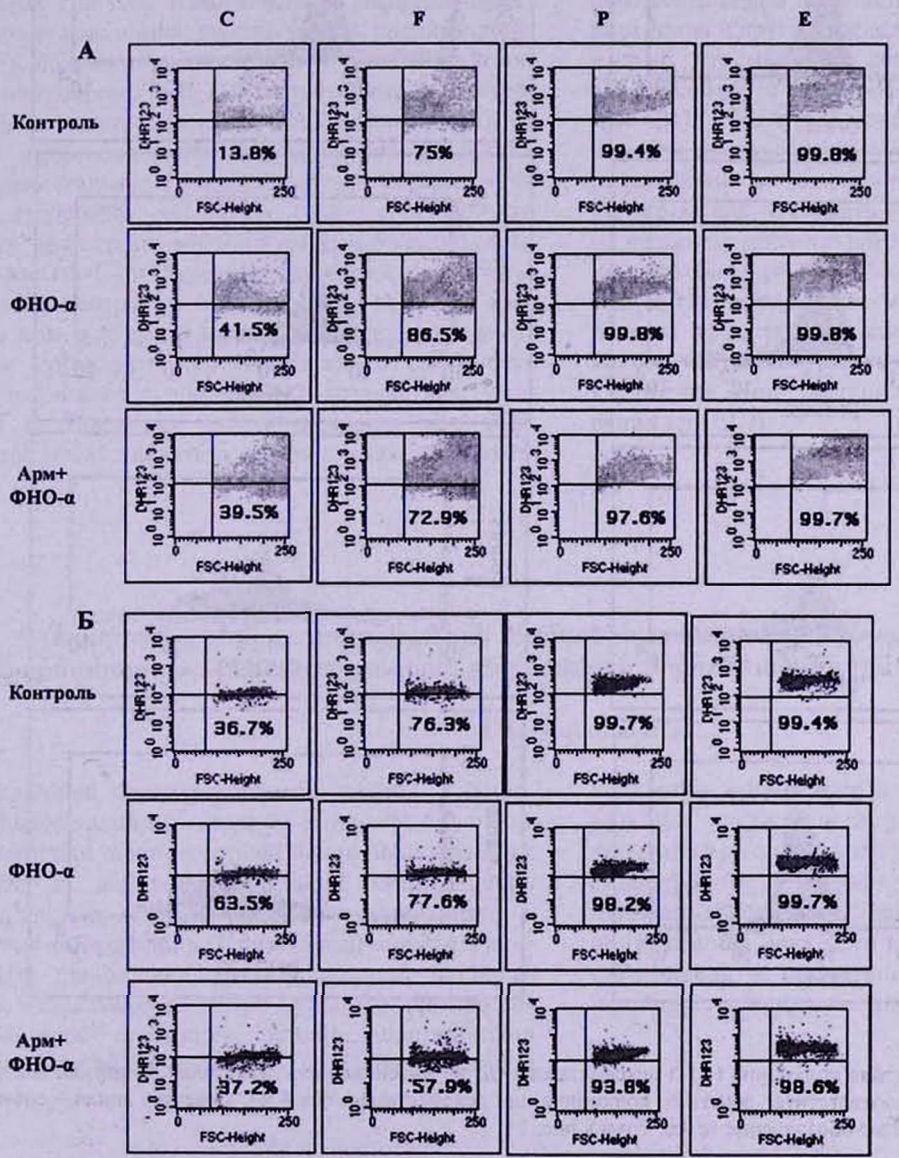



Рис.1.Совместное действие Арм и ФНО-α на активность дыхательного взрыва нейтрофилов (А) и моноцитов (Б) больных ССЛ: С – спонтанный, F – fMLP-, P – PMA-, E – *E. coli*-индуцированный дыхательный взрыв

Как представлено на рис. 1, Арм подавляет стимулирующий эффект дексаметазона на спонтанный и хемотаксис-, протеинкиназа С-, фагоцитоз-индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов больных in vitro. Кроме того, Арм также обладает способностью нейтрализовать активирующий эффект ФНО-α на спонтанный и индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов (рис. 1). В присутствии колхицина потенцируется ингибирующий эффект Арм на PMA- и *E. coli*-зависимую продукцию КСР. В то же время ингибирующее влияние Арм на хемотаксис-зависимый дыхательный взрыв моноцитов и нейтрофилов в присутствии колхицина значительно подавляется, что показано на рис. 2.

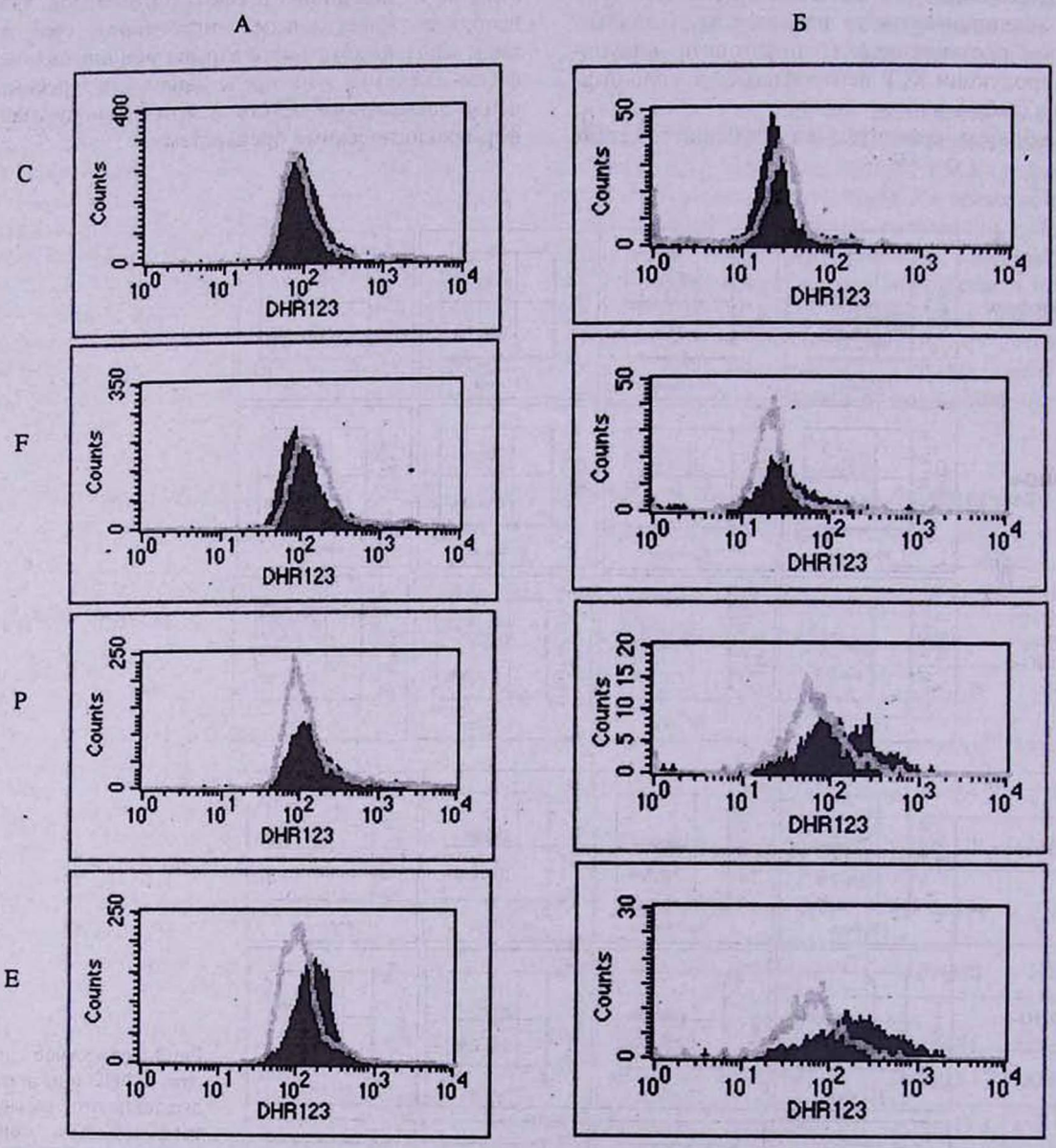



Рис. 2. Модуляция Арм действия колхицина (А) и дексаметазона (Б) на интенсивность дыхательного взрыва нейтрофилов больных ССЛ: темный фон соответствует действию колхицина или дексаметазона без Арм, а светлая линия – совместному действию препаратов; остальные обозначение те же, что и к рис. 1

Таким образом, Арм проявляет весьма выраженное модулирующее воздействие на спонтанный и хемотаксис-, протеинкиназа С-, фагоцитоз-индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов больных in vitro, усиливает ингибирующий эффект колхицина на протеинкиназа С- и фагоцитоз-индуцированную продукцию КСР и ингибирует стимулирующие эффекты ФНО-α и глюкокортикоидов на спонтанный и индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов больных ССЛ.

В данном исследовании мы разработали условия для изучения влияния фармакологических препаратов разных групп на спонтанный и хемотаксис-, протеинкиназа С-, фагоцитоз-индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов больных ССЛ в межприступном периоде в условиях, максимально приближенных к in vivo. Нами показано дифференциальное влияние колхицина, дексаметазона, преднизолона, ФНО-α и йод-литий-α-декстрина in vitro на спонтанный и индуцированный дыхательный взрыв нейтрофилов и моноцитов больных ССЛ в зависимости от силы и механизма действия индукторов продукции КСР. Сравнительное изучение действия фармакологических препаратов различных групп показало, что наиболее эффективными ингибиторами хемотаксис-, протеинкиназа С- и фагоцитоз-зависимого дыхательного взрыва нейтрофилов и моноцитов являются колхицин и Арм, в то время как синтетические глюкокортикоиды проявляют противоположную активность или не оказывают существенного воздействия. Уникальная колхициновая чувствительность при ССЛ может свидетельствовать о наличии колхицин-чувствительного воспалительного пути, особенностью которого является ингибирование колхицином стадии инициации или амплификации воспаления, нежели функции эффекторных клеток в очагах воспаления [7]. Однако механизм действия колхицина при ССЛ неясен. Известно, что колхицин блокирует полимеризацию микротрубочек и обмен тубулина, миграцию лейкоцитов, экспрессию адгезивных рецепторов, дегрануляцию [6,8], то есть блокирует процессы, которые ассоциированы с регуляцией цитоскелета клеток. Колхицин эффективно подавляет индуцированный дыхательный взрыв моноцитов и нейтрофилов, чем и можно объснить высокую колхициновую чувствительность больных ССЛ.

Весьма интересными представляются данные, полученные при изучении влияния Арм, механизм которого совершенно отличается от механизмов действия колхицина и других исследованных препаратов. Несомненно, что механизм действия Арм заключается в его способности блокировать полисахарид-связывающие CD14-рецепторы моноцитов [2]. Известно также, что Арм взаимодействует с другими поверхностными рецепторами клеток, например с CD11a/CD18 (LFA-1), что может объяснить его модулирующее влияние на процессы дыхательного взрыва нейтрофилов и моноцитов больных ССЛ. Наиболее интересным представляется выраженное модулирующее воздействие Арм на эффекты колхицина, ФНО-α и глюкокортикоидов, что может открыть новые возможности для улучшения существующих курсов лекарственной терапии при ССЛ.

*Поступила 11.01.05*

## Գրանուլոցիտների եւ մոնոցիտների ինքնածին ու մակածված շնչական պայթյունի ֆարմակոլոգիական մոդուլյացիան ընտանեկան միջերկրածովային տենդի ժամանակ

Ս.Ա. Ավետիսյան

Ընտանեկան միջերկրածովային տենդով հիվանդների ծայրամասային արյան նեյտրոֆիլներում և մոնոցիտներում in vitro պայմաններում հետազոտվել է ինքնածին ու մակածված շնչական պայթյունների վրա կոլխիցինի, դեքսամետազոնի, պրեդնիզոլոնի և յոդ-լիթիում-α-¹եքստրինի (Արմենիկում) ազդեցությունները: Այդ դեղամիջոցների ազդեցության համեմատական ուսումնասիրությունից պարզվեց, որ մակածված շնչական պայթյունի առավել արդյունավետ ինհիբիտորներ են կոլխիցինը և Արմենիկումը, մինչդեռ սինթետիկ գլյուկոկորտիկոիդները զգալի ազդեցություն չեն թողնում կամ ցուցաբերում են հակառակ ակտիվություն: Արմենիկումն ուժեղացնում է կոլխիցինի ճնշող ազդեցությունն ազատ ռադիկալների· պրոտեինկինազ C- և ֆագոցիտոզ մակածված արտադրությունը, իսկ մյուս կողմից՝ ճնշում է գլյուկոկորտիկոիդների և ուռուցքային նեկրոզի գործոն α-ի խթանող ազդեցությունները:

## Pharmacological modulation of the spontaneous and induced respiratory burst of granulocytes and monocytes at Familial Mediterranean Fever

S. A. Avetisyan

The effects of colchicine, dexamethasone, prednisolone and iodine-lithium-α-dextrin (Armenicum) on the spontaneous and chemotaxis-, proteinkinase C- and phagocytosis-induced respiratory burst of neutrophils and monocytes of the peripheral blood in patients with Familial Mediterranean Fever (FMF) were studied. A relative study of the action of pharmacological drugs of different groups showed that the most effective inhibitors of the chemotaxis-, proteinkinase C- and phagocytosis-dependent respiratory burst of neutrophils and monocytes of FMF patients are colchicine and Armenicum, while synthetic glucocorticoids manifested the opposite activity or did not have any significant effect. Armenicum increases the inhibiting effect of colchicine on the proteinkinase C- and phagocytosis-induced production of free radicals and inhibits the stimulating effects of glucocorticoids and TNF-α.

### Литература

1. *Арутюнян В.М., Акопян Г.С.* Периодическая болезнь, МИА, М., 2000.
2. *Давтян Т.К., Акопян И.С., Мхитарян Л.М., Габриелян Э.С.* Аллергология и иммунология, 2004, 5, с. 121.
3. *Anton P.A., Targan S.R., Vigna S.R. et al.* J. Clin. Immunol., 1988, 8, p. 148.
4. *Bar-Eli M., Ehrenfeld M., Levy M. et al.* Am. J. Med. Sci., 1981, 281, p. 15.
5. *Bar-Eli M., Terrino M.C., Peters R.S., Schwabe A.A.* Am. J. Hematol., 1981, 11, p.387.
6. *Blocker A., Griffith G., Olivo J.C. et al.* J. Cell Sci., 1998, 3, p. 303.
7. *Centola M., Wood G., Frucht D.M. et al.* Blood, 2000, 95, p. 3223
8. *Mansfield E., Chae J.J., Komarov H.D. et al.* Blood, 2001, 98, p. 851.
9. *Sarkisian T., Emerit I., Arutyunyan R.. et al.* Human Genet., 1997, 101, p. 238.
10. *Stehlik Ch., Reed J.C.* J. Exp. Med., 2004, 200, p. 551.

УДК 617.553-002.3-073.756.8

# Диагностика и лечение абсцессов брюшной полости методом чрескожного дренирования под контролем компьютерной томографии

А.А.Барсегян, А.Л.Франгулян, А.М.Арутюнян, А.М.Варжапетян, М.Г.Шмавонян, Г.В.Манукян

*ЕрГМУ им. М.Гераци, кафедра хирургических болезней N3*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова*: абсцесс брюшной полости, компьютерная томография, пункционное дренирование, рентгенконтрастный маркер, КТ-срез, стилет-дренаж, пролонгированная аспирация, санация

В последние годы отмечается неуклонная тенденция роста заболеваемости абсцессами брюшной полости. Вместе с этим, по данным различных авторов, уровень летальности при этой патологии остается высоким и колеблется в пределах 20,7 – 58,2% [1,4,5]. Высокий риск развития тяжелых осложнений при абсцессах брюшной полости, угрожающих жизни больного (сепсис, перитонит, кровотечение), делает весьма актуальной разработку более эффективных методов диагностики и лечения этих больных [2,6,7].

В настоящее время основными визуализирующими методами, применяемыми для диагностики абсцессов брюшной полости, являются ультразвуковое сканирование (УЗИ), компьютерная томография (КТ) и магнитно-резонансная томография (МРТ). Широкое внедрение в клиническую практику трехмерной ультразвуковой сонографии и КТ дало реальную возможность определения точной локализации абсцессов и контролируемого их чрескожного дренирования [3,8]. Показаниями к чрескожному дренированию под лучевым наведением и контролем являются внутрибрюшные абсцессы и жидкостные ограниченные образования. Противопоказаниями к выполнению чрескожного дренирования абсцесса могут явиться неуправляемая коагулопатия или невозможность безопасно провести дренажную трубку [4,5]. В таких случаях пациентам показано хирургическое вмешательство.

За последние годы в хирургическом отделении МЦ "Малатия" 43 больным было произведено пункционное дренирование абсцессов брюшной полости под контролем УЗИ. Из них у 32 пациентов результаты лечения были удовлетворительными. У 11 больных пункция гнойников брюшной полости была нерезультативной из-за диагностических погрешностей УЗИ, а также негативной вариации между анатомическим проецированием гнойника на мониторе и визуально-техническим фактором. В последующем с целью исключения вышеуказанных отрицательных результатов для диагностики и дренирования абсцессов брюшной полости (несмотря на относительно высокую стоимость производимого исследования) была использована КТ, которая обладает большей разрешающей способностью в определении локализации и объема патологического процесса, а также более виртуальна в визуальном и анатомо-проекционном аспекте, что намного упрощает технические манипуляции. Кроме того, КТ позволяет с высокой точностью определять анатомическое соотношение органов, в частности методом контрастирования, четко визуализировать петли кишечника и выбирать оптимальный малотравматичный путь проведения дренажа без повреждения близлежащих органов.

## Материал и методы

В хирургическом отделении МЦ "Малатия" с 2001 до 2004 годы методом чрескожного дренирования под контролем КТ получили лечение 16 больных с абсцессами брюшной полости различной локализа-

*Таблица*

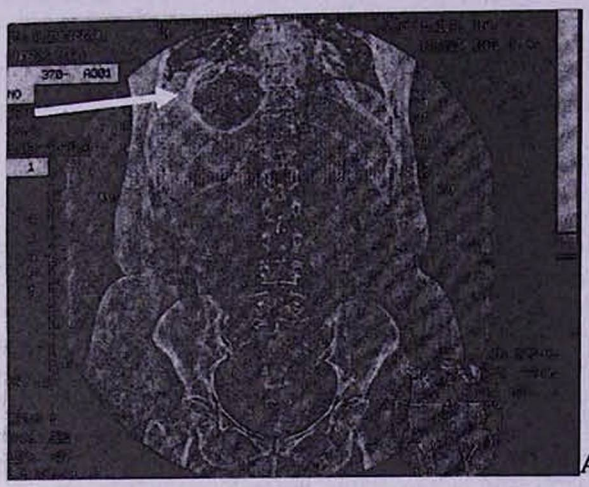
*Количество больных с абсцессами брюшной полости, получивших лечение методом чрескожного дренирования под контролем КТ*

| Локализация абсцессов | Пол | | Количество больных |
|---|---|---|---|
| | мужской | женский | |
| Подпеченочная | 3 | 4 | 7 |
| Надпеченочная | 2 | 2 | 4 |
| Правой доли печени | 2 | 2 | 4 |
| Левой доли печени | – | 1 | 1 |
| Всего | 7 | 9 | 16 |

ции, среди которых 7 мужчин и 9 женщин. Возраст больных – от 32 до 61 года. При исследовании у 5 больных были выявлены абсцессы печени, из них у 4 – в правой доле печени (VI, VII, VIII сегменты) и у 1 – в левой (II сегмент). У 2 больных диагностированы множественные абсцессы печени, которые локализовались в ее правой доле. У 7 больных выявлены подпеченочные и у 4 – надпеченочные абсцессы (таблица).

Диаметр гнойников варьировал от 3,5 до 12 *см*. Лечебно-диагностические вмешательства производились под внутривенной анестезией при помощи компьютерного томографа Picker-1200 SX.

Методика выполнения вмешательства многоэтапна. Непосредственно после КТ исследования выбирали один из наиболее оптимальных КТ-срезов для выполнения прицельного пунктирования (рис.1). При этом старались исключить травмирование внутренних органов и выбирали участок, где очаговое образование печени наиболее близко расположено к поверхности тела.


А

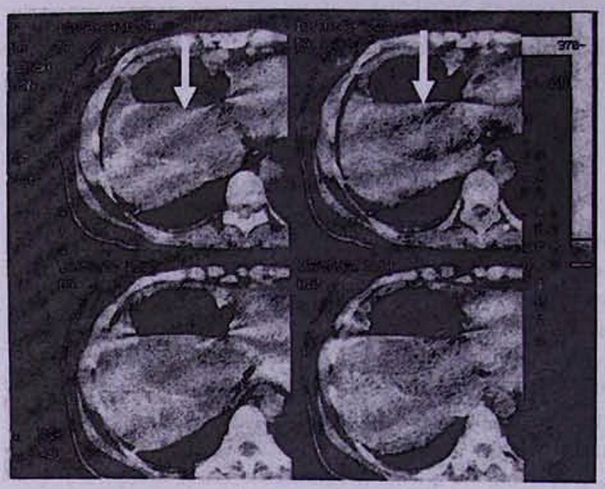

Б

Рис.1. А – фронтальный срез абсцесса печени, Б – определение наиболее оптимальных горизонтальных КТ-срезов

С помощью светового луча определяли на поверхности тела локализацию соответствующего этой томограмме сечения. Перпендикулярно световому лучу на коже устанавливали рентгенконтрастный маркер (рис. 2). Повторной томографией данного сечения с помощью маркера уточняли наиболее удобное место для пункции. На экране дисплея рассчитывали угол и глубину введения иглы, что позволяло производить пункцию перпендикулярно поверхности кожи. После предварительной пункции в области маркера при помощи стилет-дренажа диаметром до 4 *мм* для выявления отклонений за пределы исследуемого сечения производили дополнительную (прямую или боковую) томограмму и, ориентируясь на нее, – контрольную томограмму на уровне кончика иглы для уточнения его положения и правильного выбора пунктируемого участка (рис. 3).

После окончательной пункции и дренирования полости абсцесса по Сельдингеру производили последнюю томограмму для документирования положения дренажа и дальнейшего динамического наблюдения. Манипуляция завершалась с фиксированием дренажа к коже и подсоединением его к вакуум-отсосу с целью проведения последующей пролонгированной аспирации и санации полости гнойника.

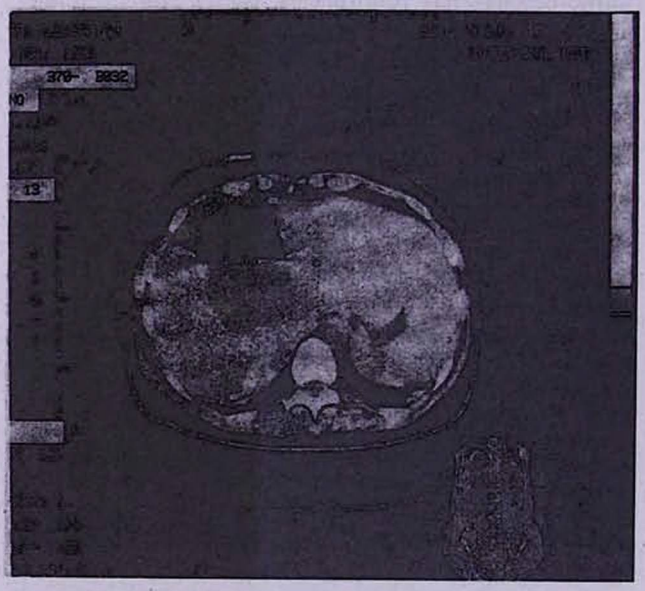


Рис. 2. На КТ-срезе с рентгенконтрастным маркером определено расстояние от кожи до горизонтального уровня жидкости

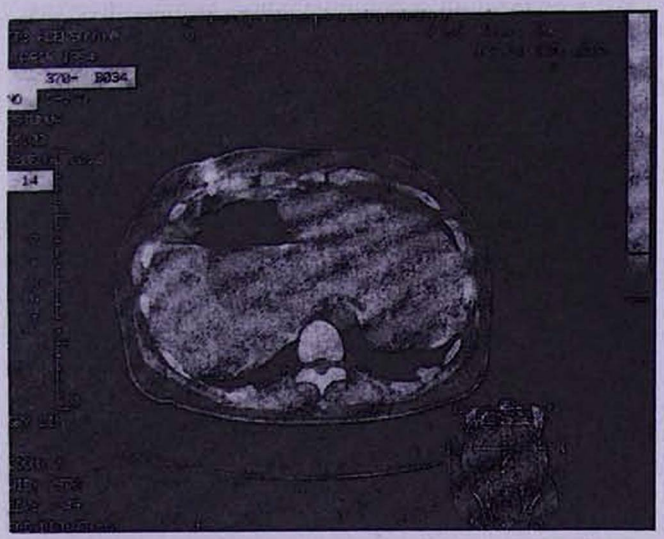


Рис.3. КТ-срез с введенным в полость абсцесса стилет-дренажем

После дренирования полости абсцесса больным назначалось инфузионно-дезинтоксикационное лечение, определялась чувствительность к антибиотикам и, основываясь на результатах, проводилась массивная антибиотикотерапия соответствующими препаратами. Дважды в сутки проводилось промывание полости абсцесса с применением антисептического раствора, протеолитических ферментов и антибиотиков широкого спектра действия. Контрольное микробиологическое исследование отделяемого проводилось на 3-й день лечения. Динамическое наблюдение за больными осуществлялось с помощью ультрасонографии, фистулографии и КТ. Дренажная трубка удалялась после полного купирования воспалительного процесса, подтверждения факта опорожнения и спадания стенок полости абсцесса. Средние сроки госпитализации больных составили 4–6 дней.

Приводим клинический случай успешного лечения больной с множественными бактериальными абсцессами печени методом чрескожного чреспеченочного дренирования под контролем КТ.

Больная, 1954г. рождения, поступила в хирургическую клинику МЦ "Малатия" 24.06.2004г. с жалобами на тупые боли, чувство тяжести в правом подреберье, поднятие температуры тела, общую слабость. Считает себя больной около месяца, когда была оперирована по поводу эхинококкоза печени. Через 7 дней после выписки больную стали беспокоить тупые боли в правом подреберье, которые сопровождались поднятием температуры тела до 38.5°С и ознобами, по поводу чего больная обратилась за стационарным лечением.

При осмотре: состояние средней тяжести, желтухи нет, живот мягкий, незначительно болезненный в правом подреберье, нижний край печени находится на 2 *см* ниже реберной дуги, температура тела 37,8°С.

В общем анализе крови: Hb – 90,0 *г/л*; эр. – $2{,}8 \times 10^{12}$/*л*; цв.п. – 0,9; СОЭ – 62 *мм/ч*; лейк. – $9{,}9 \times 10^{9}$/*л*; с. – 69%; з. – 6%; л. – 10%; м. – 6%.

Биохимические показатели крови: билирубин – 8,6 (8,6–0) *мкмоль/л*; ПТИ – 82%; фибриноген – 12,2 *мкмоль/л*; общий белок – 68 *г/л*; глюкоза – 5,2 *ммоль/л*; мочевина – 8,8 *ммоль/л*; креатинин – 91 *мкмоль/л*. Сонографически: два объемных гипоэхогенных образования в печени, в восьмом сегменте 8,5x7,8 *см* и в шестом сегменте диаметром около 5,5 *см*. Поставлен диагноз: "Состояние после эхинококкэктомии, нагноение остаточных эхинококковых полостей". 25.06.2004г. произведено чрескожное чреспеченочное дренирование абсцессов печени под контролем КТ, в полости абсцессов поочередно введены полихлорвиниловые дренажи. Получено около 200 *мл* густого гноя из одной и около 50 *мл* из другой полости. При бактериологическом исследовании гноя выявлена синегнойная палочка. Больной была назначена парентеральная комплексная антибиотикотерапия, витаминотерапия и детоксикационная терапия, проводились ежедневные санации полостей абсцессов 0,1% раствором йодопирона. Сразу после дренирования абсцессов температура тела снизилась до субфебрильной, а на четвертый день – нормализовалась. 29.06.2004г. проведена фистулография – размеры первого абсцесса 4x3 *см*, второго – 1x1,5 *см*, контрастное вещество в свободную брюшную полость не затекает. На седьмые сутки от начала лечения, после контрольного УЗИ, больная в удовлетворительном состоянии выписана под амбулаторное наблюдение. Через 14 дней после проведения дренирования дренажи удалены.

## Результаты и обсуждение

Ни в одном из случаев чрескожного дренирования гнойников не выявлено кровотечений, кишечных свищей, прорывов абсцессов в брюшную полость или других осложнений, отягощающих течение послеоперационного периода. У одного больного с подпеченочным абсцессом после удаления дренажной трубки сформировался наружный свищ, который закрылся после двухнедельного наблюдения. Летальных исходов не было. В результате лечения бактериальных абсцессов брюшной полости методом чрескожного дренирования под контролем КТ выздоровели все 16 больных. Ранняя активизация пациентов после чрескожного дренирования способствовала сокращению сроков пребывания больных в стационаре, которое составляло 4–7 дней.

С целью оценки эффективности метода чрескожного дренирования послеоперационных абсцессов брюшной полости под контролем КТ был проведен сравнительный анализ с данными результатов лечения 22 больных, страдающих абсцессами брюшной полости и прооперированных традиционными открытыми методами. Из них 7 – с абсцессом печени, 9 – с подпеченочным абсцессом и 6 – с надпеченочным абсцес-

сом. Этим больным была проведена лапаротомия с санацией и наружным дренированием гнойника. Анализ результатов лечения показал, что у всех больных в раннем послеоперационном периоде отмечались выраженный болевой синдром и ограничение физической активности, связанные с операционной травмой, вследствие чего у 5 больных преклонного возраста развились различные осложнения сердечно-сосудистой и дыхательной систем, потребовавшие дополнительного лечения. У 6 больных наблюдалось нагноение послеоперационной раны, что в свою очередь привело к увеличению расхода перевязочного материала, лекарственных средств, а также к заметному удлинению сроков пребывания больных в стационаре. Средний срок госпитализации составлял 12 дней.

Анализ результатов лечения больных 2 сравниваемых групп показывает, что чрескожное дренирование абсцессов брюшной полости под контролем КТ – малотравматичное и эффективное оперативное вмешательство, позволяющее избежать развития различных послеоперационных осложнений и снижающее сроки пребывания в клинике на 6–7 дней (50%).

Таким образом, методику чрескожного дренирования абсцессов брюшной полости под контролем КТ в сочетании с рациональной антибиотикотерапией можно считать методом выбора хирургического лечения внутрибрюшных абсцессов различной локализации. Лечение абсцессов печени нетравматического генеза можно начинать с чрескожного дренирования гнойников под контролем КТ. При отсутствии эффекта от такого лечения показано вскрытие и дренирование гнойников. Использование рентгенконтрастного маркера в сочетании с поэтапным и контролирующим КТ наведением позволяет проводить высокоточную прицельную пункцию гнойника, что в значительной мере позволяет сократить продолжительность манипуляции и избежать нежелательных осложнений. Чрескожное дренирование абсцессов брюшной полости под контролем КТ позволяет вдвое сократить сроки пребывания больных в стационаре по сравнению с традиционными методами хирургических вмешательств. Относительная простота и доступность в группе отягощенных больных дает возможность считать чрескожное дренирование абсцессов брюшной полости под контролем КТ высокоэффективным малоинвазивным методом лечения внутрибрюшных гнойников и рекомендовать ее к внедрению в хирургическую практику.

*Поступила 25.10.04*

## Համակարգչային տոմոգրաֆիայի տակ միջմաշկային դրենավորման մեթոդով որովայնի խոռոչի թարախակույտերի ախտորոշումը եւ բուժումը

Վ.Ա.Քարսեղյան, Վ.Լ.Ֆրանգուլյան, Ա.Մ.Հարությունյան, Ա.Մ.Վարժապետյան, Մ.Գ.Շմավոնյան, Վ.Վ.Մանուկյան

Վիրաբուժական կլինիկայում ներդրվել է համակարգչային տոմոգրաֆիայի հսկողության տակ թարախակույտերի միջմաշկային դրենավորման մեթոդը՝ որովայնի խոռոչի տարբեր տեղակայման թարախակույտերով հիվանդների բուժման արդյունավետությունը բարձրացնելու նպատակով: 2001-ից 2004թթ. համակարգչային տոմոգրաֆիայի հսկողության տակ միջմաշկային դրենավորման մեթոդով բուժվել են որովայնի խոռոչի տարբեր տեղակայման թարախակույտերով 16 հիվանդներ: Կատարվել է ռենտգենկոնտրաստային մարկերի օգտագործմամբ ստիլետ-դրենաժով թարախակույտերի պունկցիոն դրենավորում՝ համակարգչային տոմոգրաֆիայի հսկողության տակ: Միջամտությունը ավարտվել է դրենաժի ֆիքսումով և նրա միացումով վակուում-արտածծիչին՝ թարախակույտի խոռոչի հետագա ասպիրացիայի և սանացիայի կատարման նպատակով: Դրենավորումից հետո, հիվանդներին նշանակվել է ինֆուզիոն-դեզինտոքսիկացիոն բուժում, որոշվել է զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ և կատարվել է հակաբիոտիկաթերապիա համապատասխան դեղամիջոցներով՝ հիմնվելով ստացված արդյունքների վրա:

Դինամիկ հսկողությունը իրականացվել է ուլտրասոնոգրաֆիայի, ֆլուորոգրաֆիայի և համակարգչային տոմոգրաֆիայի օգնությամբ: Միջմաշկային դրենավորման ժամանակ արյունահոսություն, աղիքային խուղակներ, թարախակույտերի պարունակության արտահոսք որովայնի խոռոչ և հետվիրահատական ընթացքը ծանրացնող այլ բարդություններ չեն նկատվել, մահվան դեպքեր չեն եղել:

Հիվանդների բուժման արդյունքների վերլուծությունը հնարավորություն է տալիս համակարգչային տոմոգրաֆիայի հսկողության տակ որովայնի խոռոչի թարախակույտերի միջմաշկային դրենավորումը համարել ներորովայնային թարախակույտերի բուժման արդյունավետ նվազ ինվազիվ մեթոդ և երաշխավորել նրա լայն կիրառումը վիրաբուժության մեջ:

## Diagnostics and treatment of abdominal abscesses by method of percutaneous drainage under computerized tomography control

H.A.Barseghyan, H.L.Frangulyan, A.M.Harutyunyan, A.M.Varzhapetyan, M.G.Shmavonyan, H.V.Manukyan

With the purpose of the treatment efficiency improvement of patients with abscesses of abdominal cavity of various localizations in surgical clinic the method of percutaneous drainage of abscesses under CT control was introduced. In the period from 2001 to 2004 percutaneous drainage under CT control was conducted on patients with abscesses of the abdominal cavity of various localizations, among which 7 – with inferior subphrenic, 4 – superior subphrenic and 5 – with liver abscesses. Draining of abscesses under CT control with a stillette-catheter, with use of a roentgencontrast marker was performed. The manipulation was followed by fixation of a catheter to a skin and its connection to a sucker. After drainage of the abscess cavity, the patients received disintoxication treatment, sensitivity to antibiotics was determined and based on the results was carried out a massive antibiotic therapy with the appropriate preparations. Dynamic supervision over the patients was carried out using ultrasonography, fistulography and CT. At percutaneous drainage there were not revealed bleedings, intestinal fistulas, breaks of abscesses or any other complications, aggravating the course of the postoperative period. Lethal outcomes were not registercd. The analysis of the results enable suggesting percutaneous drainage of abscesses of the abdominal cavity under CT control as a highly effective method for treatment of abdominal abscesses and recommend it for wide application in surgical practice.

### Литература

1. *Акилов Х.А., Ваккасов М.Х., Икрамов А.И. и др.* Анналы хирургической гепатологии. 2000, т.7, 1. с. 236.
2. *Ившин В.Г., Семин В.Е., Старченко Г.А. и др.* Хирургия, 1998, 7, с.58.
3. *Малиновский Н.Н., Мовчун А.А., Абдулов А.Г. и др.* Хирургия . 1997, 2, с. 21.
4. *Пархисенко Ю.А., Глухов АА., Новомлинский В.В., Мошуров И.П.* Хирургия, 2000, 8, с.35.
5. *Розанов В.Е., Лапа Л.А., Бондаренко Л.П.* Воен.-мед. журн., 1998, т. 319, 12, с.18.
6. *Стойко Ю.М., Гулуа Ф.И., Сергин А.Е. и др.* Вестник хирургии им. И.И. Трекова, 1999, т. 158, 6, с. 86.
7. *Хоружик С.А., Шапаров И.Н.,Овчинников В.А., Довнар О.С.* Новости лучевой диагностики, 2000, 2, прил., с. 43.
8. *Yeo C.I.,Bastidas J.A., Lynch-Nyhan et al.* Surg. Gynecol. Obstet., 1990, 170:411.

УДК 617-089:611018-002

# Некротизирующий фасцит
## (к вопросу диагностики и лечения)

Г.В. Ягджян [1], А.М. Даниелян [1], О.В. Шамахян [2], Д.А. Саркисян [3], Г.В. Чалтыкян [3], А.А. Мурадян [3], Г.З. Калентерян [4]

*[1] Центр пластической реконструктивной хирургии и микрохирургии, Университетская больница № 1, ЕрГМУ им. М. Гераци,*
*[2]Центр травматологии, ортопедии, ожогов и радиологии МЗ РА, Сектор радиационной медицины и ожогов,*
*[3]Республиканский медицинский центр «Армения»,*
*[4]Университетская детская больница № 1*

*375025, Ереван, ул. Абовяна, 58*

*Ключевые слова:* фасцит некротизирующий, Streptococcus pyogenes, аутодермопластика, некрэктомия, пластика собственными тканями, антибиотикотерапия

Некротизирующий фасцит (НФ) – особое патологическое состояние, связанное с развитием редкой угрожающей жизни инфекции мягких тканей, сопровождающейся быстрым прогрессированием гангрены подкожных тканей и фасций с последующим некрозом кожи [13,17]. В качестве возбудителей описаны гемолитические стрептококки группы А (*Streptococcus pyogenes*), а также смешанные инфекции анаэробов и факультативных анаэробных бактерий [9,14]. У пациентов, имеющих угрозу для жизни, зачастую развивается интенсивная септическая клиническая картина [1]. Смертность, по сборной статистике McHenry [20], составляет 33%. Исторически клиническая картина известна с 1871 г. как госпитальная гангрена [14]. Доказать, что причиной является гемолитический стрептококк, удалось Meleney в 1924 г., который обозначил заболевание как гемолитическую стрептококковую гангрену [по 14]. Окончательным было определение Wilson «некротизирующий фасцит» на том основании, что фасциальный некроз – главный патогномоничный признак НФ. С целью дифференциации его от других некротизирующих заболеваний в 1979 г. Fisher [11] определил следующие диагностические критерии:

- Экстенсивный некроз поверхностной фасции с распространением на смежную кожу;
- Средняя (до тяжелой) системная интоксикация с нарушением сознания;
- Отсутствие первичного вовлечения в процесс мышц;
- Отсутствие клостридий в мазке из раны;
- Отсутствие сосудистой окклюзии как причины некроза;
- Гистологически: лейкоцитарная инфильтрация, очаговый некроз фасции и окружающих тканей, микрососудистые тромбозы.

Эти критерии, в отличие от клостридиальной газовой инфекции, содержат наряду с обязательным некрозом фасции некроз жировой клетчатки и кожи. В центре внимания заболевание снова оказалось в 1994 г., когда в Англии 18 из 25 пациентов умерли от молниеносной формы НФ [21]. На основании участившихся случаев в дилетантской прессе циркулировали названия «убивающие паразиты» (*killerbugs*) и «бактерии, пожирающие мясо» (*fleischfressende Bakterien*) [24]. Возбудитель был из подгруппы *Streptococcus pyogenes*, который вследствие выделения экзотоксина приводил к развитию драматически развивающегося шокового состояния с полиорганной недостаточностью типа "toxic shock-like syndrome" [1,4,18]. Диагностические критерии этой молниеносно протекающей формы НФ были обозначены как "Streptococcal toxic shock syndrome" [24].

***Определение стрептококкового токсического шокового синдрома:***

*I. Выделение стрептококков группы А (Streptococcus pyogenes)*

А – из стерильных жидкостей и полостей организма (кровь, ликвор, плевральный и перитонеальный секрет, тканевая биопсия, хирургическая рана);

Б – из нестерильных жидкостей и полостей организма (зев, мокрота, влагалище, поверхностные повреждения кожи).

*II. Клинические признаки*

А – гипотензия: систолическое давление <90*мм*

*рт. ст.* (у взрослых), < 5‰ (у детей);

Б – более двух из следующих клинических признаков:

- Почечная недостаточность. Креатинин >177*μмоль/л*. При предшествующей почечной недостаточности – удвоение этого показателя;
- Нарушение коагуляции. Тромбоциты <100.000$\mu l^{-1}$ или диссеминированная внутрисосудистая коагуляция
- Функция печени. Удвоение показателей АСТ, АЛТ и/или билирубина по сравнению с нормой или удвоение индивидуальных показателей (при предшествующей печеночной патологии).
- Развившийся респираторный дистресс-синдром
- Генерализованные эритематозные высыпания, возможно, с образованием пузырей
- Мягкотканные некрозы (некротизирующий фасцит или миозит, гангрена)

*Диагноз считается установленным при наличии критериев IA и II (А и Б), вероятным – при наличии критериев IБ и II (А и Б) при исключении других причин заболевания.*

Плохой прогноз, как и необходимость немедленного радикального хирургического лечения, считаются в литературе бесспорными [1,4,9]. Впоследствии после многократных и агрессивных некрэктомий часто требуются пластические реконструкции.

Для иллюстрации клинической картины болезни приводятся выписки из истории болезней 2 больных.

*Больной Х.А. 1984 г.р. был переведен из Центра пластической уро-гинеко-проктологии II Медобъединения в отделение реанимации РМЦ «Армения» 11.07.04 с диагнозом: Состояние после операции по поводу варикоцеле слева, острая почечная недостаточность (ОПН), гангрена Фурнье(?). При поступлении состояние крайне тяжелое. Сознание сохранено, больной заторможен, на вопросы отвечает с трудом, адекватен. АД 90/50мм рт. ст., пульс 150уд/мин., температура 37,3°С, ЧДД 21–23мин$^{-1}$. По эпикризу: 08.07.04 оперирован по поводу варикоцеле слева, произведено микрохирургическое пересечение вен семенного канатика. 10.07.04 утром у больного развилась клиническая картина ОПН. В связи с подозрением на лекарственный интерстициальный нефрит начата инфузионная детоксикационная терапия. К вечеру 10.07.04 появился отек и гиперемия мошонки, произведено вскрытие мошонки, отделяемого не получено. К утру 11.07.04 гиперемия и отек распространились на обе паховые области, появилась мацерация гиперемированных участков кожи мошонки на фоне резкого ухудшения общего состояния и нарастающей ОПН. Состояние расценено как развивающаяся гангрена Фурнье, и больной переведен в отделение реанимации РМЦ «Армения». Начата инфузионная, детоксикационная, комбинированная антибактериальная (роцефин, метронидазол) терапия, инфузии допамина в почечных дозах, коррекция КЩС, электролитов, антикоагулянты, сеансы ГБО. 11.07.04 в 20ч. 30мин. больному по жизненным показаниям под эндотрахеальным наркозом произведено вскрытие, некрэктомия, санация и дренирование анаэробной флегмоны передней брюшной стенки и левой половины мошонки (посев на анаэробы в РА не производится), после чего больной на ИВЛ в крайне тяжелом состоянии переведен в отделение реанимации. В отделении реанимации с 11.07.04 по 22.07.04 больной находился на ИВЛ, ежедневно дважды производилась ревизия раневой поверхности с этапными некрэктомиями. 16.07.04 после совместного консилиума с урологами произведена левосторонняя орхэктомия ввиду некроза оболочек и геморрагического воспаления стромы левого яичка и иссечение некротизированных тканей левой половины мошонки. 17.07.04 состояние раны стабилизировалось: некротическое расплавление тканей остановилось, рана очистилась, появились грануляции. 22.07.04 после стабилизации общесоматического состояния больной экстубирован. Раневая поверхность очистилась, заполнилась грануляциями. Больной подготовлен к пластической операции закрытия дефектов кожи. Заключительный диагноз: состояние после операции по поводу варикоцеле слева (08.07.04), некротизирующий фасцит мягких тканей передней брюшной стенки и левой половины мошонки, сепсис, эндогенная интоксикация, эндотоксический шок II степени, ОПН. Состояние после вскрытия, некрэктомии, санации и дренирования анаэробной флегмоны передней брюшной стенки и левой половины мошонки (11.07.04). Состояние после левосторонней орхэктомии, иссечения некротизированных тканей левой половины мошонки (16.07.04). Состояние после продленной ИВЛ, правосторонняя пневмония.*

*По взаимной договоренности с пластическими хирургами и комбустиологами больной переведен в ожоговое отделение Центра травматологии, ортопедии, ожогов и радиологии МЗ РА для проведения реконструктивно-заместительной пластики. При поступлении: обширные грануляционные раны передней брюшной стенки, левой половины груди (по аксилярной линии), лобковой области и мошонки слева. Основание полового члена приподнято над раневой поверхностью и находится в свободном состоянии, отклоненном вправо. Общая площадь раневого дефекта составляет около 10% поверхности тела. Лабораторные показатели (от 13.08.04): общий белок – 67.4г/л, общий билирубин – 12.4μмоль/л, глюкоза – 4.8ммоль/л, креатинин – 64.1μмоль/л, мочевина – 3.6ммоль/л, протромбиновый индекс – 81, фибриноген А – 400, Hb 120г/л, эритроциты – 3.9, лейкоциты – 7.0, СОЭ – 20, время свертываемости – 5мин.; посев крови – стерильна, посев мочи – бактериурии не выяв-*

*лено, посев из отделяемого раны – Staph. epidermidis $1x10^4$, баканализ стула – умеренный дисбактериоз.*

*Проведенное лечение: 02.09.04 произведена комбинированная аутодермопластика и реконструкция передней брюшной стенки, левой половины груди (по аксилярной линии), лобковой области, основания полового члена и мошонки слева. Пересажено 1200см$^2$ кожи. Наложенные лоскуты полностью прижились, небольшие межлоскутные промежутки эпителизировались спонтанно (рис. 1). Выписан из стационара на 14-е сутки. Эстетически приемлемый результат, больной удовлетворен.*

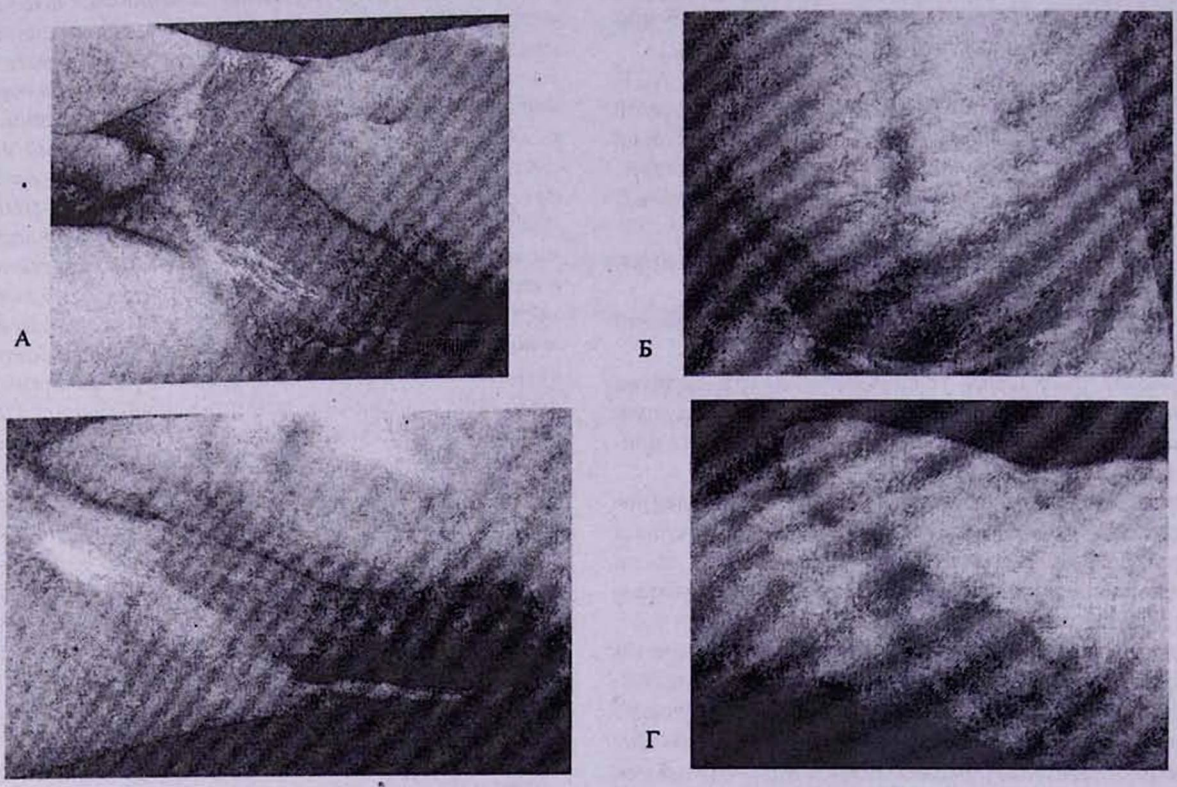



Рис. 1. Некротизирующий фасцит у больного 20 лет. А-Б. после некрэктомии; В-Г. после аутодермопластики

*Ребенок (мальчик) Б.Н. 11 мес. поступил в хирургическое отделение Варденисской ЦРБ по поводу правосторонней паховой ущемленной грыжи, был прооперирован под местным обезболиванием и через сутки выписан домой. Спустя 2 дня родители заметили синюшность в области операционной раны, которая прогрессивно увеличивалась в последующие дни. Лечения не получал. Через 4 дня направлен врачом ЦРБ в институт гематологии с подозрением на системное заболевание крови (?). В дальнейшем поступил в реанимационное отделение Университетской детской больницы № 1 с диагнозом «Септический шок. Некротическая флегмона передней брюшной стенки, ягодиц и бедер». Состояние при поступлении крайне тяжелое. Ребенок вялый, адинамичный, сознание ясное. Кожные покровы с выраженным мраморным рисунком. Конечности холодные, правая нижняя конечность отечная с усиленным мраморным рисунком. Дыхание учащенное, поверхностное с втяжением подреберий. Тоны сердца учащены, приглушены. Пульс 190уд/мин., на периферии не прощупывается. АД 60/20мм рт. ст. Парез кишечника II степени. Высокая лихорадка. В области передней брюшной стенки, промежности, ягодицы и правого бедра наблюдаются обширные участки некрозов. Раневая поверхность отечная, синюшно-фиолетового оттенка (рис. 2). Лабораторные данные: общий белок – 54.6г/л, общий билирубин – 9.1μмоль/л (своб. – 3.65/связ. – 5.45), глюкоза – 6.2ммоль/л, креатинин – 98.2μмоль/л, мочевина – 9.5ммоль/л, Hb – 88.3г/л, эритроциты – 2.6, лейкоциты – 31.0, СОЭ – 25, время свертываемости – 3мин.; посев из отделяемого раны – Staph. aureus $1x10^3$.*

*На 6-е сутки после стабилизации общего состояния больного произведено иссечение некротических тканей передней брюшной стенки, правой паховой области и обоих бедер с одномоментной частичной реконструкцией правой паховой и надлобковой областей собственными тканями. Выписан из стационара*

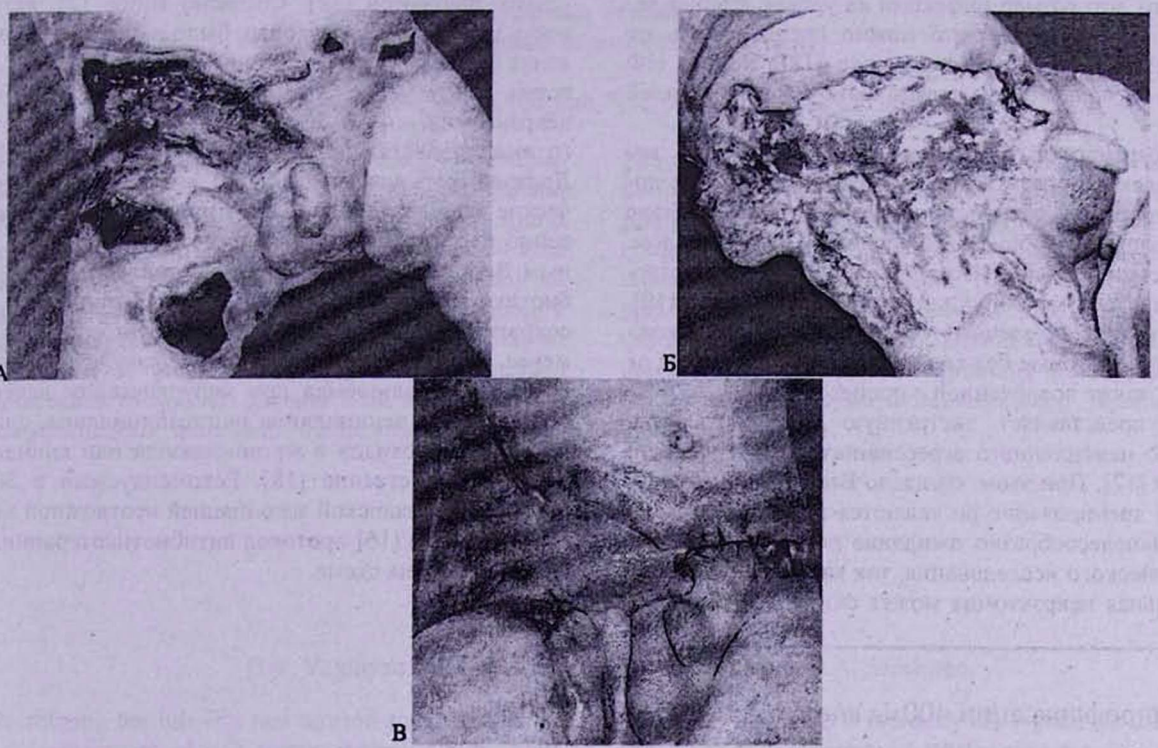



Рис. 2. Некротизирующий фасцит у 11 мес. ребенка. А – при поступлении; Б – после некрэктомии; В – после аутодермопластики

*на 49 сутки с первичным заживлением ран.*

***Обсуждение.***

Некротизирующий фасцит – редкое, быстро прогрессирующее гангренозное воспаление подкожной ткани и фасции с достаточно высокой летальностью. Имеются указания на частоту встречаемости – 0.4 на 100.000 населения [17]. В мировой литературе описано немногим более 300 случаев НФ. Подавляющее большинство авторов располагает единичными наблюдениями и лишь в отдельных сообщениях приводится опыт лечения от 2 до 21 больного. Заболевание развивается после хирургических вмешательств, мелких травм или при хронических ранах (трофических язвах) [21,25]. НФ могут быть подвергнуты как молодые, неотягощенные сопутствующей патологией, так и старые, страдающие хронической патологией [8]. Входные ворота инфекции могут локализоваться на любой части тела, поэтому пациенты могут обращаться к хирургам, гинекологам, урологам, ортопедам и врачам общей практики [14].

Этиологически НФ может быть вызван различными возбудителями [9]. В фундаментальных работах Guiliano [13] различают 2 формы НФ. С одной стороны, это инфекции с наличием гемолизирующих стрептококков группы А (*Streptococcus pyogenes* – 46%), стафилококков (*Staphylococcus aureus* – 35%), с другой, – смешанные инфекции анаэробов и факультативных анаэробных бактерий (*Enterococcus spp.* – 33%, *Escherischia coli – 31%, Clostridium spp.* – 24%, *Proteus mirabilis* – 21%, *Citrobakter freundii, Klebsiella pneumoniae, Enterobakter cloacae, Serratia marcescens* и т.д.) [5,8,13,16]. При этом гемолитические стрептококки представлены штаммами, встречающимися повсеместно и вызывающими такие заболевания как фарингит, пиодермия и скарлатина [10]. Тем не менее, случаи НФ сопровождаются часто бактериемией, шоком, полиорганной недостаточностью и, как следствие, высокой летальностью [3]. По аналогии с токсическим шоком, вызываемым стафилококками, такие формы НФ называются «streptococcal toxic shock syndrome» [1,3,4,10]. Несмотря на молниеносную форму течения, нет никаких клинических различий в течении НФ, вызванного смешанными инфекциями [13]. Быстро распространяющаяся гангрена ограничена подкожными тканями и фасцией, что отличает ее от газовой инфекции, захватывающей и мышечный слой [18].

Клинически НФ проявляется прежде всего нерезко ограниченным покраснением, массивным отеком и образованием пузырей [23]. Дальнейшее развитие гангрены подкожных тканей и микрососудистых тромбозов приводит к некрозу кожи [8,12,14]. Типичным яв-

ляется то, что размер инфекции на уровне фасции является бóльшим, чем это можно предположить по распространению некроза на коже [18]. Начало НФ связано с появлением чрезвычайно сильных болей [19,21].

Подозрение на НФ должно появляться, когда, вопреки адекватной антибиотикотерапии в высоких дозах, происходит распространение инфекции на фоне ухудшающегося общего состояния [9,23]. В целом, клиническая картина настолько типична, что позволяет ставить показания к хирургической ревизии [19]. Патогномоничны отечные сероватого цвета подкожные ткани, которые без сопротивления отделяются от фасции, также вовлеченной в процесс [6].

НФ представляет экстренную патологию, требующую немедленного агрессивного хирургического лечения [17]. При этом, согласно Broll [4], просто инцизия и дренирование не являются адекватным лечением. Нецелесообразно ожидание результатов бактериологического исследования, так как только быстрая радикальная некрэктомия может снизить летальность у этих пациентов [12]. Согласно Bilton [2], летальность у пациентов, у которых было допущено промедление с хирургическим лечением, составила 38%, в то время как у пациентов, подвергшихся немедленной некрэктомии, – 4,2%. В случаях НФ без хирургического вмешательства летальность составила 100% [17]. Должны быть удалены все без исключения некротические ткани с тем, чтобы антибиотики беспрепятственно поступали в пораженные области [9]. По данным Burge [6], нет никаких доказательств, что антибиотики могут остановить прогрессирование НФ или сократить объем необходимой некрэктомии. Тем не менее, как правило, находит поддержку тройная комбинация, используемая при хирургическом лечении, состоящая из пенициллина или ампициллина, одного из аминогликозидов и метронидазола или клиндамицина, соответственно [18]. Рекомендуемый в 2004–2005гг. Американской ассоциацией неотложной медицины (EMRA) [16] протокол антибиотикотерапии при НФ приведен на схеме.

Ципрофлоксацин 400*мг* в/в × 2/день
или
Цефтриаксон 2*г* в/в × 2/день

Оксацилин 2*г* в/в × 6/день
или
Ванкомицин 1*г* в/в × 4/день

*плюс*

Клиндамицин 900*мг* в/в × 1/день
или
Метронидазол 500*мг* в/в × 4/день

Использование при НФ ГБО в литературе отрицается [7,18]. Ее польза не доказана, более того, использование ГБО у таких тяжелых больных часто создает неразрешимые материально-технические проблемы [7]. Несмотря ни на что летальность остается на уровне 30% [5,12]. Пациенты, как правило, погибают от септических осложнений полиорганной недостаточности [19]. Поэтому после ранней постановки диагноза наряду с хирургическим лечением требуется проведение интенсивной терапии. Существенное влияние на прогноз при НФ оказывает время до постановки диагноза и начала хирургического лечения.

В заключение можно сказать, что кардинальным симптомом НФ является сильная боль, неадекватная видимым воспалительным изменениям. Патогномонична гангрена подкожной жировой клетчатки и фасции с последующим некрозом прилежащей кожи. Принципы лечения: радикальная некрэктомия, антибиотикотерапия широкого спектра, агрессивное (адекватное) возмещение жидкостей и борьба с сепсисом.

*Поступила 25.01.05.*

# Մեռուկացնող փակեղաբորբ
## (ախտորոշման եւ բուժման հարցերը)

Գ.Վ. Ցաղջյան, Ա.Մ. Դանիելյան, Հ.Վ. Շամախյան, Դ.Ա. Սարգսյան,

Մեռուկացնող փակեղաբորբը հատուկ ախտաբանական վիճակ է, որը կապված է կյանքին վտանգ սպառնացող փափուկ հյուսվածքների հազվագյուտ հանդիպող տարածուն ինֆեկցիայի զարգացման հետ եւ ուղեկցվում է ենթամաշկային հյուսվածքների ու փակեղների գանգրենայի արագ առաջխաղացմամբ և մաշկի հետագա մեռուկացումով: Հարուցիչ կարող են հանդիսանալ A խմբի հեմոլիտիկ ստրեպտոկոկները (*Streptococcus pyogenes*), ինչպես նաև անաերոբների ու պայմանական անաերոբ մանրէների խառն ինֆեկցիաները: Քնորոշ են ոչ ադեկվատ սաստիկ ցավերը և 30-50% կազմող մահացությունը: Ներկայացված է նեկրոտիզացնող ֆասցիտի 2 կլինիկական դեպք: Բուժման հիմնական սկզբունքներն են՝ արմատական նեկրէկտոմիա, լայն սպեկտրի հակաբիոտիկներ, հեղուկների ակտիվ փոխհատուցում և փափուկ-հյուսվածքային արատների ժամանակին փակում մաշկալաթերով՝ պլաստիկ-վերականգնողական վիրաբուժության ժամանակակից եղանակների կիրառմամբ:

# Necrotizing fasciitis
## (on diagnosis and treatment)

G.V. Yaghjyan, A.M. Danielyan, H.V. Shamakhyan, D.A. Sarkisyan,

Necrotizing fasciitis is a rare morbid condition related to the development of soft tissue generalized infection, rapid progress of gangrene of subcutaneous tissues and fasciae and subsequent skin necrosis. The etiologic agents may be the group A haemolytic streptococci (*Streptococcus pyogenes*) as well as mixed infection with anaerobes and facultative anaerobe bacteria. Non-adequate severe pain and 30-50% mortality are typical for this disorder. Two case reports with necrotizing fasciitis are presented. The main principles of treatment are: radical necrectomy, broad spectrum antibiotics, active compensation of fluids and appropriate defect substitution using the contemporary methods of plastic-reconstructive surgery.

## Литература

1. *Billing A., Arendt R., Arnold H., Schildberg F.* Arch. Chir. Suppl. Kongress, 1997, 114: 508.
2. *Bilton B., Zibari G., McMillan R. et al.* Am. Surg., 1998, 64: 397.
3. *Bisno A., Stevens D.* N. Engl. J. Med., 1996, 344: 240.
4. *Broll R., Eckmann C., Kujath P.* Chirurg., 1998, 69: 806.
5. *Brook I., Frazier E.* J. Clin. Microbiol., 1995, 33: 2382.
6. *Burge T., Watson J.* BMJ, 1994, 308: 1453.
7. *Burge T.* BMJ, 1993, 307: 936.
8. *Donaldson P., Naylor B., Lowe J.* J. Clin. Pathol., 1994, 46: 617.
9. *Feingold D.S.* J. Am. Acad. Dermatol., 1982, 6: 289.
10. *File T.* Clev. Clin. J. Med., 1998, 65: 241.
11. *Fisher J., Convay M., Takeshita R., Sandoval M.* JAMA, 1979, 241: 803.
12. *Freischlag J., Ajalat G.* Am. J. Surg., 1985, 14: 751.
13. *Giuliano A., Lewis F., Hadley K.* Am. J. Surg., 1979, 134: 53.
14. *Heitmann C., Pelzer M., Bickert B., Menke H., Germann G.* Chirurg., 2001, 72: 168.
15. *Kaul R., McGeer A., Low D., Green K.* Am. J. Med., 1997, 103: 18.
16. *Korvek S.J., Villarin L.A.* 2005 EMRA Antibiotic Guide. 2004, Emergency Medicine Physicians, Ltd. Canton.
17. *Kossmann T., Gattiker A., Trentz O.* Unfallchirurg., 1998, 101: 74.
18. *Kujath P., Eckmann C., Benecke P.* Zentralbl. Chir., 1996, 121: 35.
19. *Loudon L.* Lancet, 1994, 344: 1416.
20. *McHenry C., Piotrowski J., Petrinick D., Malangoni M.* Ann. Surg., 1995, 221: 558.
21. *Rieger H., Baranowski D., Mertes N. et al.* Chirurg., 1992, 63: 82.
22. *Schumpelick V., Bertram P.* Langenbeck's Arch. Chir. Suppl. Kongress, 1997, 114: 483.
23. *Stevens D.* J. Infect. Dis., 1999, 179: 366.
24. The working group on severe Streptococcal infections. JAMA, 1993, 269: 390.
25. *Ward R., Walsh M.* Br. J. Surg., 1991, 78: 488.

УДК 616.441(47C)

# Screening investigation of thyroid status in population of the republic of Armenia under conditions of relative iodine deficiency

D.H. Doumanyan, H.Kh. Avagyan, S.A. Nersesyan

*National Institute of Health, Ministry of Health RA*

*375051, Yervan, 49/4 Komitas ave.*

*Keywords:* goiter, euthyreosis, carriage of antibodies to thyroid peroxidase and thyroglobulin, thyrotoxicosis, hypothyrosis, diseases of iodine deficiency

Iodine is the integral part of the hormones of thyroid gland. For their formation in required amounts the sufficient receipt of iodine into the organism is extremely important. The daily requirement in iodine depends on the age and physiological status of the individual, which during his life consumes only 3–5 *g* of iodine that makes about one teaspoon of this halogen [1, 2]. The diseases of iodine deficiency develop in result of iodine insufficient consumption. They are one of the most widespread not infectious diseases. For more than 1.5 billion inhabitants of the Earth there is an increased risk of insufficient consumption of iodine: in 655 million persons the enlarged thyroid gland (endemic goiter) is present, and in 43 million iodine deficiencies result in expressed mental retardation [8–10].

The researches performed in different countries during the last years have shown that the average parameters of intellectual development /General Intelligence Quotient Score (IQ Score)/ in regions with expressed iodine deficiency is 15–20 % lower than that in the regions without iodine deficiency [6,8].

The most obvious display of iodine deficiency is endemic goiter, which is the contributing risk factor for many diseases of thyroid gland, including nodular neoplasms and cancer [7]. The iodine deficiency increases the frequency of inherent hypothyrosis; it brings to irreversible infringements of brain in a fetus and newborn, resulting in intellectual retardation (cretinism, oligophrenia) [1, 9].

The sociomedical significance of iodine deficiency diseases (IDD) for Armenia is conditioned by the fact that more or less expressed iodine deficiency is observed actually all over its territory. In this connection the sociomedical and economic importance of the problem of iodine deficiency in Armenia cannot be overestimated as it may result in significant loss of intellectual and professional potential of the nation.

The above mentioned has induced us to carry out screening research of the thyroid status in the population of Armenia.

The aim of the research was to study the prevalence of endemic goiter, carriage of antibodies to thyroid peroxidase, antibodies to thyroglobulin, thyrotoxicosis, and hypothyrosis in the inhabitants of Armenia.

## Materials and Methods

Inhabitants from different regions of Armenia (999–786 women and 213 men) at the age from 16 to 67 years were examined. The survey did not include the persons receiving within the last year anti-thyroid and thyroid preparations, sulfanilamides, thiocianates, oral contraceptives, as well as Nitroprussid-Na and ethionamide.

The thyroid gland was estimated by palpation according to WHO classification [9]: "0 degree – no goiter, I degree – the sizes of a lobe are bigger than the distal phalanx of the thumb, the goiter is palpated, but not visible; II degree – the goiter is palpated and visible.

To determine the contents of free $T_4$, TSH, free $T_3$, $T_3$, $T_4$, calcitonin and titers of antibodies to thyroid peroxidase and antibodies to thyroglobulin in blood serum the immune enzyme method was applied. The kits of "DRG International, Inc." (USA) and "Syntron Bioresearch, Inc." (USA) were used. Ultrasonographic examination of thyroid gland was also performed. The calculation of the gland volume was done according to the formula.

Volume = [(WR x LR x TR)] + [(WL x LL x TL)] x 0.479, where

WR – width of the right lobe;
LR – right thyroid lobe length;
TR – right lobe thickness
WL – width of the left lobe;
LL – left thyroid lobe length;
TL – left thyroid lobe thickness
0.479 – coefficient of correction for ellipsoidy.

All persons were examined by the endocrinologist, then the final diagnosis was given.

## Results and Discussion

In 358 patients (291 women and 67 men), i.e. in 35,8% of cases, the increase of thyroid gland was determined first by palpation then confirmed by objective registration of gland volume by the data of ultrasonography. In 11,7 % (117 patients) nodular forms of goiter were revealed. On determining the markers of autoimmune process in thyroid gland, the carriage of antibodies to thyroid peroxidase and antibodies to thyroglobulin was revealed in 384 persons (38,4 %). With the increased frequency, in the ratio 4,33: 1, in female patients it was met more often, than in males (312 and 72, accordingly). In 148 (14,8 %) inhabitants of Armenia (105 women and 43 men; a ratio of 2,44: 1) thyrotoxicosis of different degree of severity was diagnosed. In 99 (9,9 %) persons (91 – woman, 8 men; a ratio of 11,4: 1) hypothyrosis of different degree of severity was assessed.

At the moment of checking 752 (75,3 %) of the examined persons were in the state of euthyreosis, while in 247 (24,7 %) there was a disorder of functional status of thyroid gland (in 148 thyrotoxicosis was diagnosed and in 99 – hypothyrosis).

Finally, during the medical examination, in a number of cases an association was observed, on one hand between the carriage of antibodies to thyroid peroxidase and antibodies to thyroglobulin and, on the other hand, diabetes of I and II type, breast cancer, cancer of stomach, as well as rheumatism and other autoimmune diseases. These data are not published in the present work because of incompleteness of the research.

Iodine deficiency diseases present a serious problem of public health. None of the endocrine pathologies is connected so closely to the environment like the diseases of the thyroid gland, as its structure and function depend on the external receipt of iodine, radionuclides, microelements, xenobiotics, etc. During the last years the increase in the thyroid diseases incidence has been stated, including tumors, not only in adults, but also in children [2,4, 9].

According to the results obtained, diffuse increase of thyroid gland was revealed in 35.9 % of the examined: 26.7 % of patients had type I goiter, in 9.2 % goiter of the II degree was revealed. Endemic goiter is a compensatory reaction of the organism in response to iodine deficiency, preventing in these conditions the development of hypothyrosis – decrease in the level of thyroid hormones. The moderate iodine deficiency seldom results in this functional state. In case of hard iodine deficiency (less than 25 mcg of iodine intake) hypothyrosis develops [3, 5].

During the last years the influence of iodine deficiency on prevalence of autoimmune diseases of thyroid gland, thyrotoxicosis and/or its nodular forms has been actively studied. So, Bulow I. et al. [3], came to the conclusion that in regions with heavy iodine deficiency (the degree of expressiveness was estimated by the medians of iodine urination) the spread of thyrotoxicosis is much higher as compared with the regions without iodine deficiency. In addition, in two geographical areas these authors revealed high carriage of antibodies to thyroid peroxidase and antibodies to thyroglobulin with slight and moderate iodine deficiency.

Our data completely coincide with the above-mentioned results: 38,4 % of the population of various regions of Armenia had carriage of auto-antibodies to thyroid peroxidase and antibodies to thyroglobulin. Besides, in 14.8% of the patients thyrotoxicosis was diagnosed of a various degree of severity, while hypothyrosis was registered only in 9.9 % of the surveyed persons. That is, it was demonstrated anew that the basic problem of slight and moderate iodine deficiency is the higher prevalence of thyrotoxicosis, developing as a result of formation of a functional autonomy thyroid gland. It arises at the long existing endemic goiter, especially if it proceeds with nodule formation. As a result some cells of the of thyroid gland, thyrocytes, are left from under the regulating control of TSH and begin to develop hormones in arbitrary quantity. Thus, the functional autonomy thyroid gland develops resulting in its decompensation which leads to thyrotoxicosis [5, 7].

In the context of our own data presented, we consider it extremely urgent and important to stop on a research carried out by Aghini-Lombardi F., Antonangeli L., Martino E. et al., 1999. The authors came to the conclusion that in iodine-deficient region the increase in frequency of goiter (especially nodular forms) and functional autonomy of thyroid gland is observed. Thyrotoxicosis was met approximately twice frequently in comparison with regions of sufficient iodine contents and was caused, basically, by nodular toxic goiter. Despite rather high frequency of revealing of the elevated titer of antibodies to thyroid gland, the occurrence of hypothyrosis did not differ from that observable in regions with the sufficient iodine contents.

In fact, according to our results, thyrotoxicosis was revealed 1.5 times more frequently in comparison with hypothyrosis (148:99); besides, in 11.7 % of the surveyed persons nodular forms of goiter were diagnosed.

The data obtained predetermine the necessity of our further researches; especially taking into account that already in 1990 WHO ratified as one of the basic tasks liquidation of iodine deficiency diseases by 2000 all over the world, and the task was not executed. It seems that for achievement of the goal it is necessary to have the complete information on their prevalence in each country, and on this basis to develop regional programs on their prevention and control.

*The study and the medical examinations were performed at the Clinical Diagnostics Department, National Institute of Health, in the frames of ANSEF Grant No. NS68-01 "Monitoring and possible mechanisms of iodine deficiency diseases in the Republic of Armenia".*

*Поступила 15.06.04*

## Հայաստանի Հանրապետության բնակչության վահանագեղձի վիճակի սկրինինգային հետազոտումը յոդի հարաբերական պակասության պայմաններում

Դ.Հ. Դումանյան, Հ.Խ. Ավագյան, Ս.Ա. Ներսեսյան

Հայաստանի Հանրապետության բնակիչների հետազոտման ժամանակ 75,3%-ը (999 -ից) գտնվում էին էութիրեոզի վիճակում, այն ժամանակ, երբ 24,7%-ի մոտ վահանագեղձի ֆունկցիոնալ վիճակը խանգարված էր (թիրեոտոքսիկոզ՝ 14,8%-ի մոտ, հիպոթիրեոզ՝ 9,9%-ի մոտ): 38,4% հիվանդների մոտ հայտնաբերված են ՏՊ-ի և ՏԳ-ի հակամարմիններ: 35,9% հետազոտվածների մոտ հայտնաբերված է վահանագեղձի մեծացում, որոնցից 26,7%-ի մոտ հայտնաբերված է I կարգի և, 9,2%-ի մոտ՝ II կարգի խպիպ:

## Скрининговое исследование тиреоидного статуса у населения Республики Армения в условиях относительного йодного дефицита

Д.Г. Думанян, А.Х. Авакян, С.А. Нерсесян

На момент обследования 75,3% (из 999) жителей Армении были в состоянии эутиреоза, в то время как у 24,7% функциональное состояние щитовидной железы было нарушено ( у 14,8% - тиреотоксикоз, у 9,9 % – гипотиреоз). У 38,4% пациентов выявлено носительство АТ к ТП и АТ к ТГ. У 35,9% обследованных лиц диагносцировано увеличение щитовидной железы, из них у 26,7% установлен зоб I степени, у 9,2% – зоб II степени.

## References

1. Diseases of organs of endocrine system. Ed. by academician Dedov I.I.. Moscow, "Medicina" (Medicine Publishers), 2000.
2. *Dedov I.I., Dedov V.I.* Chernobyl: radioactive iodine – thyroid gland. Moscow, 1996.
3. *Knudsen N., Bulow I., Jorgensen T. et al.* Eur. J. Endocrinol., 2000, v. 143, p. 485.
4. *Knudsen N., Bulow I., Jorgensen T., et al.* Clin. Endocrinol., 2000, v. 53, p. 479.
5. *Laurberg P., Bulow I., Pedersen K.M. et al.* Thyroid, 1999, v. 9, p. 33.
6. *Nauman J., Glinoer D., Braverman L.E., Hostalek U.* The thyroid and iodine. Warsaw, 1996.
7. *Reudl J., Borner W.* Der. Nuklearmediziner, 1993, Bd. 16, N. 3, S. 209.
8. *Stanbury J.B.* The iodine deficiency disorders: introduction and general aspects. /The prevention and control of iodine deficiency disorders. /Eds. B.S. Hetzel, J.T., Dunn, J.B., Stanbury – Amsterdam: Elsevier, 1987.
9. World Health Organization. Indicators for assessing Iodine. Deficiency disorders and their control through salt iodization. Geneva, 1994.

УДК 616.441-008.6+576.8+577.4

# Метаболические и гормонально-иммунологические особенности у больных гипотиреозом в экологически неблагоприятных регионах

Л.А. Мамиконян

*Республиканский медицинский центр "Армения"*

*375073, Ереван, ул. Маргаряна 6*

*Ключевые слова*: гипотиреоз, йододефицит, перекисное окисление липидов

Экологические факторы являются комплексом техногенных, природно-климатических и медико-социальных условий, характер и длительность которых обуславливают особенности здоровья человека.

За последние годы частота гипотиреоза в общей популяции тиреоидной патологии во многих странах возрастает, причиной чего является не только сохраняющийся относительный и абсолютный дефицит йода в окружающей среде, но и наличие других факторов, имеющих пермиссивное значение [1–9]. К этим факторам как в Армении, так и в других бывших республиках СССР следует отнести условия жизни населения, культурный и социальный уровень, прекращение профилактических мероприятий, ухудшение экологической ситуации (воздействие экопатогенов), употребление большого количества гойтрогенов. Совокупность вышеперечисленных факторов может способствовать особенностям клинического течения гипотиреоза и физиологических процессов в организме больных.

Исходя из этого, нами проведены исследования состояния метаболических и гормонально-иммунологических показателей у больных гипотиреозом, проживающих как в йододефицитных регионах, так и в регионах без йододефицита.

## Материал и методы

За период с 1999 по 2003 г. в эндокринологической клинике РМЦ "Армения" проконсультированы и получили лечение 138 больных гипотиреозом. Из них 106 больных проживали в йододефицитных регионах (Сюник, Вайк, Лори, Тавуш, Гегаркуник, Ашоцк), а 32 больных постоянно проживали в относительно благоприятныхм условях (Ереван). У указанного контингента больных была выявлена йодная недостаточность (медиана экскреции йода с мочой составляла 80,7 *мкг/л* у 94 больных и 62,4 *мкг/л* у 44), что соответствовало легкой и средней степени йододефицита. Пальпаторно определялась верифицированная данными УЗИ диффузная гиперплазия щитовидной железы II° у 161 обследованного и II–III° у 37. У 32 человек отмечались клинические проявления манифестированного гипотиреоза, а у остальных (106) неспецифические, слабо выраженные клинические симптомы, характерные для недостаточности функции щитовидной железы (снижение работоспособности, умеренная сухость кожи, склонность к запорам). Содержание тиреотропного гормона (ТТГ) у 91 обследованного было повышенным до 7,97 *мкЕд/мл* (у здоровых этот показатель составляет 4 *мкЕд/мл*), а у 47 – более 10 *мкЕд/мл*.

Комплексное исследование параметров метаболизма, гормональной и иммунной систем было проведено лишь у 56 больных в связи с техническими и экономическими затруднениями. У этих больных были исследованы: концетрация малонового диальдегида (МДА) по G.Limber и альфа-токоферола спектрофотометрическим и спектрофлуорометрическим методами по G. Storer; показатели липидного спектра (содержание общего холестерина – ОХ и ХС липопротеидов) в сыворотке крови – энзиматическим калориметрическим методом; уровень пролактина (ПРЛ), адренокортикотропного гормона (АКТГ) и кортизола (К) – иммуноферментным, а паратиреоидного гормона (ПТГ) и кальцитонина (КТ) – радиоиммунологическим методом. У 24 больных со стертой картиной гипотиреоза была исследована функциональная активность щитовидной железы с помощью тиреолиберионовой пробы (ТРП). Исследование параметров иммунной системы проводилось под руководством проф. С.С. Гамбарова.

Достоверность анализа пролученных результатов определялась с использованием t-критерия Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Перекисное окисление липидов (ПОЛ) и антиоксидантная защита организма (АЗО) были исследованы у 24 больных гипотиреозом, из которых 16 проживали в йододефицитных регионах, а 8 – в г.Ереване. Резуль-

таты данного исследования приведены в табл. 1.

Из данных табл. 1 следует, что повышение ПОЛ и снижение АЗО у больных гипотиреозом, проживающих в йододефицитных регионах, более выражено по сравнению с больными аналогичной патологией, проживающими в местностях без йододефицита.

*Таблица 1*

*Параметры перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма у больных гипотиреозом (M±m)*

| Группа обследованных | ПОЛ | |
|---|---|---|
| | МДА, *нмоль/л* | АЗО, *мкмоль/л* |
| Здоровые – волонтеры (n=12) | 3280±100 | 21,3±0,5 |
| Больные гипотиреозом из регионов без йододефицита (n=8) | 5105±210 | 18,8±1,6 |
| Больные гипотиреозом из регионов с йододефицитом (n=16) | 5230±300 | 16,4±1,2 |

*Примечание.* P<0,05

Показатели спектра липидных фракций у больных гипотиреозом, проживающих в йододефицитных регионах, значительно превышали аналогичные показатели больных, проживающих в г. Ереване.

В настоящее время установлено, что синдром гипотиреоза не имеет четкой, узнаваемой картины и часто протекает под клиническими "масками" различных заболеваний. Поэтому с целью выявления "стертых" форм гипотиреоза у 18 больных проведено исследование взаимосвязи системы гипоталамус-гипофиз-щитовидная железа с помощью ТРФ. После этой пробы у всех обследованных через 30 *мин* после внутривенного введения ТРФ уровень ТТГ повысился в 2,6 раза по сравнению с исходным. Динамика изменения ТТГ у больных, проживающих в йододефицитных регионах, в течение всего исследования (1–2 часа) статистически достоверно (p<0,05) отличалась от аналогичных показателей здоровых лиц и больных из регионов без йододефицита.

Особое внимание обращает на себя достоверно (p<0,05) низкая концентрация трийодтиронина (Т3) – на 24,8% ниже уровня того же показателя у здоровых лиц. Такой уровень Т3 характерен для синдрома эутиреоидной слабости и вызван не патологическим состоянием щитовидной железы, а периферическими изменениями метаболизма и транспорта тиреоидных гормонов, что, вероятно, обуславливается нарушением микроэлементного гомеостаза в связи с йододефицитом.

Концентрация АКТГ у больных гипотиреозом (24), проживающих в регионах с йододефицитом, так же как и К, была незначительно пониженной (296,0±16,6 и 8,2±0,8 при 317,8±18,9 и 9,04±0,78 *нмоль/л* у здоровых). У больных, проживающих в регионах без йододефицита, показатели АКТГ и К были в пределах нормы.

У 21 больного гипотиреозом из йододефицитных регионов отмечена гиперпролактинемия (7,2±0,6 *нг/мл* у 7 мужчин и 10,2±1,2 *нг/мл* у 14 женщин при норме 5,2±1,5 *нг/мл*). У больных гипотиреозом, проживающих в регионах без дефицита йода, отклонения от нормативов содержания ПРЛ не отмечалось.

Было также исследовано функциональное состояние паращитовидных желез у 30 больных гипотиреозом. Результаты исследования представлены в табл.2.

*Таблица 2*

*Функциональное состояние паращитовидных желез у больных гипотиреозом*

| Группа обследованных | Кальций, *ммоль/л* | ПТГ, *пг/мл* | КТ, *пг/мл* |
|---|---|---|---|
| Здоровые – волонтеры (n=16) | 2,51±0,5 | 46,6±1,8 | 6,4±0,4 |
| Больные гипотиреозом из регионов без йододефицита (n=14) | 2,48±0,03 | 44,2±1,3 | 7,8±0,6 |
| Больные гипотиреозом из регионов с йододефицитом (n=16) | 1,88±0,02 | 39,0±1,1 | 8,2±0,6 |

*Примечание.* P<0,05

Из данных, приведенных в таблице, следует, что у больных гипотиреозом из йододефицитных регионов отмечается гипокальциемия, что связано с недостаточным поступлением в организм этого микроэлемента.

Параметры иммунной системы были исследованы у 32 больных. Результаты представлены в табл. 3.

*Таблица 3*

*Параметры иммунной системы у больных гипотиреозом*

| Группа обследованных | Т-лимф., *тыс/мкл* | В-лимф., *тыс./мкл* | Иммуноглобулины, *г/л* | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | | IgA | IgJ | IG |
| Здоровые– волонтеры (n=16) | 1,22±0,1 | 0,36±0,05 | 1,62±0,15 | 12,82±0,98 | 1,50±0,12 |
| Больные гипотиреозом из регионов без йододефицита (n=14) | 0,92±0,08 | 0,31±0,03 | 1,24±0,09 | 10,63±0,96 | 1,35±0,12 |
| Больные гипотиреозом из регионов с йододефицитом (n=18) | 0,88±0,08 | 0,26±0,03 | 0,35±0,11 | 10,8±1,08 | 1,32±0,14 |

*Примечание.* P<0,05

Исходя из данных табл. 3, можно сказать, что показатели, характеризующие состояние иммунной системы у больных гипотиреозом, проживающих в йододефицитных регионах, были заметно снижены по сравнению с аналогичными показателями больных гипотиреозом, проживающих в регионах без дефицита йода. Понижение этих показателей у больных гипотиреозом из йододефицитных регионов клинически проявлялось снижением сопротивляемости организма к банальным недомоганиям (простуда, рино-фарингит).

Таким образом, результаты проведенных исследований констатировали значительные патологические сдвиги в метаболизме и гормонально-иммунных параметрах у больных гипотиреозом, проживающих в йододефицитных регионах, по сравнению с больными аналогичной патологией, проживающих в регионах без йододефицита. Следует отметить, что эти изменения были выявлены у больных как с легкой, так и средней степенью йододефицита. Указанное позволяет полагать, что, помимо природных струмогенов, тиреоидную недостаточность усугубляют и другие факторы, в частности экологическое загрязнение. Известно, что экопатогены вызывают блокирование ферментов, участвующих в синтезе тиреоидных гормонов, способствующих дисгормоногенезу и изменению микроэлементного состава окружающей среды. Высокий уровень экопатогенов при дефиците йода способствует тиреоидной гиперплазии, компенсаторному увеличению тиреоидной ткани с последующим снижением функциональной активности щитовидной железы и формированию зоба.

Проведенные исследования дают возможность выработать оптимальную тактику комплексного лечения не только тиреоидной недостаточности, но и коррекции осложнений метаболических процессов, а также эндокринной и иммунной систем.

*Поступила 31.05.04*

## Էկոլոգիապես անբարենպաստ շրջաններում հիպոթիրեոզով հիվանդների մետաբոլիկ եւ հորմոնալ-իմունաբանական առանձնահատկությունները

Լ.Ա. Մամիկոնյան

Հայաստանի Հանրապետությունում և Ռուսաստանի Դաշնությունում անբարենպաստ պայմաններում բնակվող 138 հիպոթիրեոզով հիվանդների մոտ կատարվել են հետազոտություններ՝ նպատակ ունենալով հայտնաբերել մետաբոլիկ և հորմոնալ-իմունաբանական ցուցանիշների առանձնահատկությունները:

Հայտնաբերվել են որոշակի փոփոխություններ լիպիդային ֆրակցիայի մակարդակի մեջ, կալցիումի և պարատհորմոնի քանակի իջեցում, կալցիտոնինի մակարդակի բարձրացում էկոլոգիապես անբարենպաստ շրջաններում բնակվող հիվանդների մոտ:

Տվյալ հիվանդների մոտ նկատվել է նույնպես T- և B-լիմֆոցիտների և իմունոգլոբուլինների հիմնական դասերի քանակի նվազում:

Ստացված արդյունքները թույլ են տալիս մշակել ոչ միայն թիրեոիդ անբավարարության կոմպլեքսային բուժման օպտիմալ տակտիկա, այլ նույնպես շտկել մետաբոլիկ պրոցեսների, էնդոկրինային և իմունային համակարգերի խանգարումները:

## Metabolic and hormonal-immunological peculiarities in patients with hypothyreosis in ecologically unfavourable regions

L.A. Mamikonyan

138 patients with hypothyreosis living in ecologically unfavourable regions of Republic of Armenia and Russian Federation have been studied with aim to show the peculiarities in metabolic and hormonal-immunological indexes.

In patients with hypothyreosis living in ecologicalli unfavourable regions we indicate increases of lipid peroxidation by malat-dialdehid level and the removal of antioxidative protection of organism by serum alfa-tocopherol level, comparing with analogical indexes in patients with hypothyreosis not living in ecologically unfavourable regions.

We found changes of lipid fraction level, decreases of calcium level, parat-hormone level, increases of calcitonin in patients in ecologically unfavourable regions. There were not determined such changes in control-group. In patients of our study we found the discredit of immune system, expressing decrease of T- and B-lymphocytes and basic classes of immunoglobulin.

The results of researches show that metabolic and hormonal-immunological peculiarities in patients with hypothyreosis, such as significant depression of lipid peroxidation and antioxidative protection, indexes of immunity, existence of hypocalciemia, have not been found in control-group patients.

## Литература

1. *Баранов А.А.* III конгресс педиаторов России. М., 1998, с.8.
2. *Балаболкин М.И., Клебанова Е.М., Креминская В.М.* Дифференциальная диагностика и лечение эндокринных заболеваний.М., 2002.
3. *Герасимов Г.А.* Пробл. эндокринологии, 2001, 1, с. 3.
4. *Дедов И.И., Свириденко Н.Ю., Герасимов Г.А. и др.* Пробл. эндокринологии, 2000, 6, с. 3.
5. *Зефирова Г.С.* Заболевания щитовидной железы. М., 1999.
6. *Терещенко И.В.* Клиническая медицина, 2000, 9, с.8.
7. *Фадеев В.В., Мельниченко Г.А.* Гипотиреоз. М., 2002.
8. *Semiz S., Senol U., Bircan O. et al.* J. Pediatr. Endocrinol. Metab., 2001, vol.14, p.171.
9. *Stauburg J., Ermans A., Bourdoux P. et al.* Преодоление последствий дефицита йода: зарубежный опыт. / Сб. статей. М., 1999, с.43.

УДК 616.8-009.614

# Изменения длительности интервала QT ЭКГ во время индукции в анестезию

А.А. Казарян, Г.Г. Мхоян, А.С. Казарян

*Кафедра анестезиологии и реаниматологии ЕрГМУ им. М. Гераци, РМЦ «Армения»*

*375025, Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова*: QT интервал, анестезия, внезапная кардиальная смерть

Синдром удлинения QT интервала, названный F.Dessertene в 1966г. «пируэтом» (torsades de pointes), представляет собой сочетание собственно удлинения QT ЭКГ с угрожающей жизни полиморфной желудочковой тахикардией, переходящей в фибрилляцию желудочков и являющейся непосредственной причиной внезапной кардиальной смерти [1]. В США ежедневно диагностируют около 1000 внезапных кардиальных смертей (ВКС) в результате остановки сердца. ВКС подразумевает наличие 3 обязательных условий: остановка сердечной деятельности без кардиального анамнеза, отсутствие клинических предвестников, быстрое развитие катастрофы [3,5,6,9]. 30–40% больных, своевременно реанимированных от ВКС, имели приступы желудочковой тахикардии, в том числе и на фоне удлинения QT интервала. Интервал QT, являясь одним из наиболее значимых параметров ЭКГ, отражает начало процесса деполяризации (зубец Q) и завершается процессом реполяризации миокарда желудочков (конец волны Т). Предположение о перспективности изучения вариабельности интервала QT связано с поиском новых надежных предикторов возможного возникновения злокачественных желудочковых аритмий и нашло убедительное подтверждение в многочисленных публикациях [2,5]. Синдром удлинения QT интервала может встречаться как в виде идиопатической формы, так и вторичных (приобретенных) форм, вызванных различными причинами: прием медикаментов, метаболические нарушения, поражение центральной и вегетативной нервной системы, операции на шее, патология коронарных сосудов и др. Имеет значение физический и эмоциональный стресс. Изменения зубца Т на ЭКГ, свидетельствующие об электрической нестабильности миокарда, также предрасполагают к возникновению злокачественной аритмии. При этом любой генез удлинения этого интервала (врожденный или приобретенный) является одинаково опасным. Длительность QT интервала зависит от частоты сердечных сокращений (ЧСС) и от пола. Поэтому используют не абсолютное значение этого показателя, а корригированную величину, вычисляемую обычно по формуле, предложенной в 1920г. H.Bazetti:

$$QTcp = QT\sqrt{RR}$$

При данном расчете в норме он не должен превышать 440 *мс*.

В последние годы появились сообщения о том, что запускающим механизмом удлинения QT интервала может стать общая анестезия и проведение оперативного вмешательства [7]. По данным ряда авторов, некоторые из летучих анестетиков, а также тиопентал натрия, дроперидол и др. в сочетании с сукцинилхолином пролонгируют QT интервал. В отличие от них пропофол, мидазолам в сочетании с релаксантами векуронием и павулоном, по некоторым наблюдениям, такого эффекта не вызывают [4]. В то же время следует отметить, что многие аспекты, связанные с альтерацией интервалов QT в условиях анестезии, в настоящее время остаются еще недостаточно изученными [8]. В частности, в литературе мы не нашли каких-либо сообщений о влиянии анестетиков пропофола и тиопентала натрия в сочетании с релаксантом ардуаном на поведение QT интервала при индукции в наркоз.

Целью данного исследования было изучение возможных изменений длительности QT интервала и некоторых интраоперационных показателей гемодинамики в условиях индукции в наркоз тиопенталом натрия и пропофолом с последующей интубацией трахеи после введения ардуана.

## Материал и методы

Обследование проводилось на стадии вводного наркоза у 20 пациентов мужского и женского пола в возрасте от 18 до 50 лет с массой тела 54–82 *кг* без сопутствующих сердечно-сосудистой и обструктивной легочной патологий, относящихся по классификации ASA к 1-й и 2-й категориям. Электролитных и метаболических нарушений до операции не выявлено. В анамнезе кардиальных и неврологических эпизодов не отмечено. Пациенты были разделены на 2 группы: I

группа – индукция проводилась тиопенталом натрия дозой *5мг/кг* и II группа – использовалась внутривенная анестезия пропофолом в дозе 2.5 *мг/кг*. Вводный наркоз проводился медленным введением анестетиков на фоне ингаляции кислорода до исчезновения ресничных рефлексов. Интубация проводилась после введения ардуана в дозе 0.07–0.08 *мг/кг* массы тела. Средняя продолжительность индукции в I группе составляла около 6 *мин*, во II группе – 4 *мин*. Все больные получали за 40 *мин* до операции диазепам в дозе 0.3 *мг/кг*. По ходу индукции в наркоз с помощью кардиомонитора «Bioview 1000X Series» определяли следующие гемодинамические показатели: систолическое, диастолическое, среднее артериальное давление (САД, ДАД, СрАД) и уровень сатурации крови. За один день до операции, а также по ходу индукции и после интубации трахеи с помощью кардиомонитора «NEC KARTIZER- 3300» в 12 отведениях записывались ЭКГ, а также информация о ЧСС, нарушениях ритма, длительности RR, PR, QRS, QT, QTcp и некоторые другие показатели. Дальнейшая обработка полученных данных велась «слепым методом» (исследователь не знал о методе индукции).

*Таблица*

*Изменения показателей гемодинамики при индукции в наркоз тиопенталом натрия и пропофолом в сочетании с ардуаном*

| Анестетик | Доза | За 1 день до операции | | | Этап введения анестетика | | | Этап интубации трахеи | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | САД | ЧСС | ДАД | САД | ЧСС | ДАД | САД | ЧСС | ДАД |
| Тиопентал натрия | 5 *мг/кг* | 125±4,3 | 90±2.4 | 75±3.5 | 82,5±3.3 | 86±1,5 | 69±2.6 | 118±3.2 | 108±2,5 | 90±1,5 |
| Пропофол | 2.5 *мг/кг* | 130±2.2 | 92±3.1 | 80±1.4 | 81±4.2 | 68±2.1 | 56±2.2 | 101±2.3 | 90±1,5 | 72±4.3 |

*Примечание.* В таблице даны средние значения показателей и их стандартные ошибки (M±m). Доза ардуана в обеих группах составляла 0.07–0.08 *мг/кг* массы; обозначения см. в тексте.

## Результаты и обсуждение

Как видно из представленных в таблице данных, ЧСС на этапе анестезии при индукции в наркоз в I группе урежалась в среднем на 4%, а во II – около 25% . В этих же группах САД снижалось до 15 и 20% соответственно. Изменения ДАД были больше выражены во II группе (до 25%), тогда как в I группе сдвиги ДАД не превышали 6%. По ходу индукции увеличивался также QT интервал, причем в большей степени это наблюдалось в I группе (0.37–0.45 *мс* у 7 пациентов), чем во II (0.38–0.43 *мс* у 3 пациентов).

Интубация трахеи спровоцировала кардиоваскулярные эффекты: на 2–3-й *мин* после интубации ЧСС, САД, ДАД были несколько увеличены, причем более значимые изменения происходили в I группе оперированных. Одновременно при регистрации на ЭКГ-мониторе на 3-й *мин* после интубации существенных изменений QT интервала не произошло: в среднем в I группе – 0.45*мс* (6 пациентов), во II – 0.43*мс* (4 пациента). В I группе у двух пациентов по ходу индукции возникли желудочковые экстрасистолы типа бигеминии, которые в дальнейшем купировались введением лидокаина.

Таким образом, мы пришли к заключению, что в условиях вводного наркоза, индуцированного анестетиками тиопенталом натрия и пропофолом в сочетании с миорелаксантом ардуаном происходят определенные сдвиги в гемодинамических показателях. Выявлено, что пропофол в сочетании с ардуаном по сравнению с тиопентал-ардуановой группой в меньшей степени влияет на длительность QT интервала ЭКГ.

*Поступила 24.09.04*

## Է Ս Գ-ի QT ինտերվալի տեւողության փոփոխությունները անեսթեզիայի ինդուկցիայի ժամանակ

Ա.Ա. Ղազարյան, Գ.Գ. Մխոյան, Ա.Ս. Ղազարյան

Կատարվել է հիվանդների 2 խմբերում ԷՍԳ-ի QT ինտերվալի տևողության և հեմոդինամիկայի ցուցանիշերի փոփոխությունների ուսումնասիրություն անեսթեզիայի ինդուկցիայի և ինտուբացիայի ժամանակ: Հետազոտվել են ASA I-II խմբերի 20 հիվանդներ, որոնք բաժանվել են 2 խմբի՝ I խմբում

ինդուկցիան կատարվել է թիոպենտալ նատրիումով, II խմբում՝ պրոպոֆոլով, ինտուբացիան՝ արդուանով: Ներածական նարկոզի պայմաններում, երբ ինդուկցիան կատարվում է թիոպենտալ նատրիումով և պրոպաֆոլով՝ զուգակցված արդուան միոռելաքսանտի հետ, տեղի են ունենում որոշակի տեղաշարժեր հեմոդինամիկական տվյալներում:

Պարզվել է, որ պրոպոֆոլի զուգակցումը արդուանի հետ ավելի քիչ է ազդում ԷՍԳ-ի QT ինտերվալի տևողության վրա, քան թիոպենտալ նատրիում-արդուան խումբը:

## Changes of QT-interval length during anesthesia induction

A.A. Ghazaryan, G.G. Mkhoyan, A.S. Ghazaryan

We have compared changes of QT-interval length and hemodynamics during anesthesia induction and intubation in 2 groups. Twenty patients of ASA I-II category were inrolled in the study and divided into 2 groups. In the first group anesthesia induction was performed with thiopental, in the second group – with propofol. Intubation was conducted under arduan in both groups. We have found out that anesthesia with propofol and arduan has little effect on QT-interval length and the hemodynamics compared to thiopental-arduan group.

## Литература

1. *Остроумова О.Д.* Рус.мед.жур. 2001, т. 9, 18.
2. *Шилов А.М., Мельник М.В.* РМЖ, 2002, т. 10, 2.
3. *Goldberg R.J., Bengson J., Chen Z.Y., Anderson K.M., Locati E., Levy D.* Am.J. Cardiol., 1991, 67:55.
4. *Lindgren L., Yli-Hankala A., Randell T., Krivela M., Scheinin M., P.J. Neuvonen.* British Jornal of Anaesthesia, v. 70, 3,1993, p. 306.
5. *Lopera G., Huikuri H.V., Makikallio T.H.* Rev. Esp. Cardiol., 2000 Apr;53(4):568.
6. *Lown B.* Cardiovascular collaps and sudden death. Heart Disease, 1984.
7. *McConachie J.P., Keaveni T.E., Healy S. et al.* British Jornal of Anaesthesia, 1989, v. 63, 5, p. 558.
8. *Michaaloudis D.G., Kanakoudis F.S., Petrou A.M., Konstantidiou A.S., Pollard B.J.* Eur.J. Anaesthesiol.,1996 Jul;13[4]:364.
9. *Okin P.M., Devereux R.B., Howard B.V. et al.* Circulation, 2000 Jan 4–11;101(1):61.

УДК 616-004.1+616.005.4:616.2

# Комбинированное влияние лозартана и эналаприла на функции левого желудочка при артериальной гипертензии

Р.К. Дилбарян

*Спитакская центральная больница*

Основой лечебного действия ингибиторов АПФ (ангиотензинпревращающего фермента) является предупреждение и замедление процесса ремоделирования миокарда за счет способности блокировать чрезмерную активацию РАС (ренин-ангиотензивная система) и влиять на калликреин-кининовую систему [1, 2]. Внедрение в клиническую практику антагонистов-рецепторов ангиотензина-II (АТ-II), обладающих сходными с ингибиторами АПФ механизмами действия, предполагает целесообразность их совместного применения при лечении больных артериальной гипертензией (АГ). В доступной нам литературе нет сведений о комбинированном применении лозартана и эналаприла, об угнетении патологического ремоделирования миокарда через дополнительную стимуляцию АТ Iрецепторов при применении антагонистов рецепторов АТ-II, хотя актуальность этого обусловлена всем ходом развития антигипертензивной терапии. Изложенное побудило нас провести соответствующее исследование.

## Материал и методы

Нами проведено обследование 48 больных ГБ с гипертрофией миокарда, поступивших в отделение терапии Спитакской центральной больницы в 1998–2002 гг. Диагноз устанавливался на основании критериев, рекомендованных ВОЗ. Критериями исключения были сопутствующие злокачественные новообразования, заболевания легких, почек, а также отказ пациента от обследования, невозможность проведения эхоКГ-исследования из-за конституциональных особенностей либо прекращения приема препаратов. Методом пакета больные разделены на 3 группы. Все группы больных были достоверно сопоставимы по основным клиническим характеристикам, но различались по введению в их базисную терапию в 1-й группе – лозартана, 2-й – комбинированно эналаприла и лозартана, 3-й – лизиноприла и лозартана (табл.1).

*Таблица 1*

*Клиническая характеристика больных*

| Показатели | Лозартан (n=10) | Эналаприл +лозартан (n=26) | Лизиноприл + лозартан (n=12) |
|---|---|---|---|
| Возраст | до 50 лет – 10%<br>старше 50 л.– 90% | до 50 лет – 23,08%<br>старше 50 л.–76,92% | до 50 л.– 16,6%<br>старше 50 л.– 83,4% |
| Пол | муж.-7, ж.- 3 | муж. -17, ж. - 9. | муж. - 7, ж. - 5. |
| Артериальная гипертензия II ст. | 70% | 69,23% | 75,5% |
| Артериальная гипертензия III ст.. | 40% | 30,77% | 25% |

В первой группе с целью определения оптимальной для каждого больного дозы лозартана проводилось титрование дозы препарата по следующей методике: после стабилизации гемодинамики назначали 12,5 *мг* 1 раз в сутки ( доза 1-го уровня); 25 *мг* 1 раз в сутки (доза 2-го уровня) и 50 *мг* 1 раз в сутки (доза 3-го уровня) соответственно с интервалом в 7 дней, учитывая переносимость препарата. Вторая группа наряду с лозартаном получала эналаприл в начальной дозе 2,5 *мг* в сутки 2 дня с последующим увеличением дозы до 5–10 *мг* в сутки при хорошей переносимости препарата. Третья группа получала наряду с лозартаном лизиноприл в начальной дозе 5*мг* 1 раз в сутки, затем дозу увеличивали до 10–20 *мг/сут*. эхоКГ проводилась всем больным: при поступлении, через 15 дней после начала лечения, при выписке и через 6 месяцев после начала лечения с целью оценки состояния миокарда и результатов лечения. ЭхоКГ и допплерэхокардиографическое исследование проводилось на аппарате ТМ – 400 (США, датчик 3,25 *мГц*) по стан-

дартной методике с использованием рекомендаций Американского эхокардиографического общества. Измерялись и рассчитывались следующие стандартные показатели: толщина межжелудочковой перегородки (ТМЖП), толщина задней стенки ЛЖ (ТЗС ЛЖ), конечный диастолический размер (КДР) ЛЖ, конечный систолический размер (КСР) ЛЖ, конечный диастолический объем (КДО) ЛЖ, конечный систолический объем (КСО) ЛЖ. Масса миокарда (ММ) ЛЖ вычислялась по формуле [4]: ММЛЖ + 1,04 [(ТМЖП + ТЗСЛЖ + КДР) – КДР] – 13,6 (*г*). При дальнейшем анализе использовались индексированные к площади поверхности тела (ППТ) показатели КДО ЛЖ, КСО ЛЖ, ММ ЛЖ. Они рассчитывались по следующим формулам: КДОИ=КДО / ППТ; КСОИ = КСО / ППТ; ИММ = ММ / ППТ. Одним из наиболее перспективных неинвазивных методов изучения диастолической функции сердца в настоящее время является допплер-эхокардиография.

*Таблица 2*

*Динамика эхоКГ-параметров у больных исследуемых групп*

| Показатели | I группа | | | II группа | | | III группа | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 15 сут. | 6 мес. | p | 15 сут. | 6 мес. | p | 15 сут. | 6 мес. | p |
| ТМЖП, *см* | 1,12±0,04 | 1,01±0,03 | <0,05 | 1,12±0,05 | 0,95±0,03 | <0,05 | 1,13±0,05 | 1,01±0,03 | <0,05 |
| ТЗС, *см* | 1,00±0,02 | 0,96±0,04 | <0,05 | 1,01±0,07 | 0,93±0,04 | <0,05 | 0,98±0,04 | 0,93±0,06 | >0,05 |
| ИММ, *г/см²* | 150,3±7,9 | 135,4±+6,8 | >0,05 | 149,4±7,4 | 124,2±5,4 | <0,05 | 147,5±8,0 | 128,2±6,8 | <0,05 |
| КДОИ, *мл/м²* | 83,11±3,1 | 75,1±4,3 | <0,01 | 83,5±3,9 | 70,1±2,9 | <0,05 | 82,6±3,8 | 68,2±2,9 | <0,05 |
| КСОИ, мл/ м² | 38,7±3,6 | 33,6±12,7 | <0,05 | 38,1±2,9 | 31,0±3,5 | <0,05 | 38,4±3,1 | 30,9±3,2 | >0,05 |
| Пик Е, *см/сек* | 0.49±0,03 | 0,57±0,03 | <0,01 | 0,45±0,03 | 0,58±0,04 | <0,01 | 0,45±0,02 | 0,53±0,02 | <0,01 |
| Пик А, *см/сек* | 0,57±0,04 | 0,56±0,03 | <0,05 | 0,60±0,02 | 0,58±0,03 | <0,05 | 0,56±0,01 | 0,54±0,01 | 0,05 |
| Е/А, *см/сек* | 0,86±0,06 | 1,01±0,05 | <0,01 | 0,75±0,02 | 1,04±0,04 | <0,01 | 0,80±0,04 | 0,98±0,06 | <0,01 |

Для характеристики диастолической функции оценивались следующие показатели: максимальная скорость кровотока в фазу быстрого наполнения (пик Е, *см/сек*), максимальная скорость кровотока в систолу предсердия (пик А, *см/сек*), их отношение (Е/А). Признаком нарушения диастолической функции считалось уменьшение отношения Е/А менее 1,0.

## Результаты и обсуждение

Всего за время наблюдения в I и III группах больных было зарегистрировано по одной повторной госпитализации. При анализе полугодовых исходов статистически достоверных отличий между показателями состояния больных II и III групп не выявлено, в то время как между показателями исследуемых функций у больных I и III, особенно у больных I и II групп, отличия носили статистически достоверный характер. Полученные результаты исследований монотерапевтического действия лозартана не отличаются также от данных литературы, посвященных сопоставлению клинической эффективности различных блокаторов рецепторов АТ-II [3, 5]. Схожесть же клинических результатов во II и III группах может быть связана со способностью ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента (ИАПФ) и БАР влиять на определяющий фактор исходов – ремоделирование миокарда. Динамика эхоКГ-параметров у больных исследуемых групп показана в табл. 2.

Анализ динамики показателей ТМЖП ЛЖ и ТЗС ЛЖ и ИММ выявил более выраженные статистически достоверные изменения через 6 месяцев у больных исследуемой II группы, что свидетельствует об активном корригирующем влиянии комбинированной терапии эналаприлом с лозартаном на толщину стенок ЛЖ. Исследуемые сдвиги данных показателей у больных трех групп выразились соответственно в процентах так: уменьшение ТМЖП ЛЖ — на 9,1, 15,2, 10,7%; уменьшение ТЗС ЛЖ — на 4, 8, 5,21%; снижение ИММ ЛЖ— на 10, 16,9, 13,1%.

В условиях монотерапевтического применения лозартана оказалось, что данный препарат также вызывает истончение стенок ЛЖ, но в сравнительно меньшей степени, чем в случае его совместного действия с одним из исследуемых ИАПФ. При изучении динамики объемов ЛЖ установлено также достоверное уменьшение КДОИ и КСОИ у больных в группах, получавших в комбинации лозартан и ИАПФ. Так, показатель КДОИ ЛЖ через 6 месяцев достоверно уменьшился у больных II и III групп соответственно на 16,1 и 17,5%, а показатель КСОИ – на 18,4 и 19,6%. В то же время в группе, получавшей лозартан, показатели КДОИ, КСОИ ЛЖ через 6 месяцев достоверно изменялись с гораздо меньшей амплитудой (9,7 и 13,2%). Таким образом, оказалось достоверным более

активное воздействие комбинированного применения ИАПФ и БАР, чем их монотерапевтическое влияние, на динамику показателей КДОИ, КСОИ ЛЖ. Известно, что ранние изменения объемов ЛЖ имеют важное прогностическое значение для пациентов с обсуждаемой патологией. Дилатация полости ЛЖ является адаптивной реакцией желудочков на повреждающее воздействие гипертензии и направлена на сохранение нормального ударного объема за счет увеличения КДО расширенного желудочка. Есть сообщения, что даже относительно небольшое увеличение, в частности КСО и КДО ЛЖ, увеличивает риск смерти, особенно у больных после инфаркта миокарда. В проведенных нами исследованиях получены различающиеся данные о влиянии ингибиторов АПФ и антагонистов ангиотензивных рецепторов на размеры объема ЛЖ. Обширных исследований по влиянию антагонистов рецепторов АТ-II на объем ЛЖ нет. Но в известных нам небольших исследованиях показано положительное влияние лозартана на объем ЛЖ у больных ГБ [1, 2, 9]. Полученные нами данные свидетельствуют о более благоприятном влиянии комбинированного применения лозартана с эналаприлом или с лизиноприлом на показатели объема ЛЖ в сравнении с монотерапевтическим влиянием лозартана на эти показатели, что может быть обусловлено более активной блокадой РАС [10]. Следовательно, комбинированное применение ИАПФ и БАР уменьшает гипертрофию ЛЖ, оказывает корригирующее действие на толщину стенок ЛЖ в зависимости от их исходного состояния, улучшает сократительную функцию ЛЖ в исследуемых группах уже через 6 месяцев после начала лечения. Вместе с тем все большее число исследователей указывают на то, что длительное присутствие высокого миокардиального стресса в неинфарцированном миокарде способствует переходу от гипертрофии сердечной мышцы к ее дисфункции [4, 5], снижению сократимости миокарда, расстройствам расслабления и уменьшению диастолической растяжимости ЛЖ. При сопоставлении результатов осуществленного нами исследования с ранее полученными данными других авторов [3, 6] выясняется, что индекс относительной толщины стенок в соотношении к объему полости ЛЖ в группе больных, получавших лозартан с эналаприлом, через 6 месяцев после начала лечения достоверно уменьшился. В то же время в группе, получавшей только лозартан, данный показатель почти не изменился. Недостоверны положительные сдвиги по этому показателю через 6 месяцев и у больных III группы.

В настоящее время появляется все больше информации о том, что важная роль в определении как клинического статуса, так и тенденций развития ГБ принадлежит механизмам, определяющим диастолическую дисфункцию [6, 8, 9]. Одним из важнейших патогенетических механизмов диастолической дисфункции миокарда является нарушение его расслабления. Показатели, отражающие диастолическую функцию ЛЖ, такие как максимальная скорость потока крови в фазу быстрого наполнения (пик Е, *см/сек*), максимальная скорость потока в систолу предсердия (пик А, *см/сек*), отношение Е/А, у больных в исследуемых группах достоверно увеличились в основном за счет увеличения показателя пика Е соответственно на 16,3 и 28,8, 17,7%. Показатели пика А изменились через 6 месяцев после начала лечения на 1,8, 3,4, 3,6% (во всех случаях $P>0,05$). Отношение Е/А достоверно ($P<0,05$) увеличилось соответственно на 17,44, 33,3, 22,5%. Как видно из полученных данных, у больных, получавших комбинированно эналаприл и лозартан, показатели диастолической функции ЛЖ претерпели наибольшие позитивные сдвиги. Таким образом, в нашем исследовании на фоне лечения лозартаном с эналаприлом процесс ремоделирования претерпел некоторый адаптивный уклон. Это проявилось уменьшением объемов ЛЖ, поддержанием позитивных тенденций в изменениях исследуемых показателей и уменьшением миокардиального стресса ЛЖ. Превалирующее влияние лозартана в комбинации с эналаприлом на ремоделирование миокарда, повидимому, связано со способностью воздействовать на тканевую РАС.

В данном исследовании выявлено выраженное благоприятное влияние комбинированной терапии лозартаном с эналаприлом на систолическую и диастолическую функции сердца, на процессы ремоделирования ЛЖ, что свидетельствует о целесообразности сочетанного воздействия ИАПФ и БАР на РАС по сравнению с эффектом их монотерапевтического воздействия.

*Поступила 30.06.03*

## Լոզարտանի եւ Էնալապրիլի համակցված ազդեցությունը ձախ փորոքի ֆունկցիայի վրա զարկերակային հիպերտենզիայի ժամանակ

Լ.Կ. Դիլբարյան

Աշխատանքում հետազոտվել է լոզարտանի և էնալապրիլի համակցված ազդեցությունը զարկերակային հիպերտենզիայի ժամանակ ձախ փորոքի ռեմոդելացման պրոցեսների վրա: Հետազոտված 48

հիվանդների մոտ հաստատվել է համալիր բուժման հավաստի դրական ազդեցությունը սրտի սիստոլիկ ֆունկցիայի և ձախ փորոքի ռեմոդելացման վրա:

## The combined effect of losartan and enalapril on the left ventricular function at arterial hypertension

R.K. Dilbaryan

In 48 patients with arterial hypertension the combined influence of losartan and enalapril on the processes of remodeling of the left ventricle was studied. A reliable favourable effect of the combined therapy on the cardiac systolic function and the processes of remodeling of the left ventrile was revealed.

## Литература

1. *Визир В.А., Березин А.Е.* Клиническая медицина, 2000, 2, с. 36.
2. *Сидоренко Б.А., Преображенский Д.В., Сополева Ю.В.и др.* Кардиология, 1998, 10, с. 11.
3. *Dickstein K., Chang P. et al.* J. Am. Coil. Cardiol., 1995, v. 26, p. 438.
4. *Devereux R.B., Alonso D.R., Lutas E.M. et al.* Am. J. Cardiol., 1986, v. 57, p. 450.
5. *Foy S.G., Crosier I.G., Turmer J.G., Riachards A.M. et al.* Am. J. Cardiol., v. 73, p. 1180.
6. *Greenberg B., Quinones M.A., Koilpillai C., Limacher M., Shindler D., Benedict C., Shelton B.* II Circulation. 1995, v. 91, p. 2573.
7. *Konstam M.A., Rousseau M.F., Kronenberg M.B. et al.* Circulation, 1992, v. 80, p. 431.
8. *Pfeffer M.A., Braunwald E.* Circulation, 1990, v. 8.
9. *Pitt B., Segal R., Martinez P. et al.* Lancet, 1997, v. 349, p. 747.
10. *Sigurdsson A., Held P., Swedberg K., Wall B.* Eur. Heart J., 1993, v. 14, p. 1110.

УДК 611+ (37+47)

# Հայ ուսանողների մոտ անթրոպոմետրիկ ցուցանիշների ձևափոխման արդի միտումների համեմատական վերլուծությունը

Վ.Մ. Վարդազարյան

*Մ. Հերացու անվ. ԵրՊԲՀ, նորմալ անատոմիայի ամբիոն*

*375025, Երևան, Կորյունի 2*

*Բանալի բառեր.* ֆիզիկական զարգացում, աճ, ուսանող, առողջական վիճակ, անթրոպոմետրիա

Տարիքային վերակառուցման առանձնահատկությունների ուսումնասիրությունը մարդու պոստնատալ օնտոգենեզում հետապնդում է այսօր նաև այդ պրոցեսի վրա գենոտիպի և միջավայրի ազդեցության աստիճանը պարզելու հարցը: Այսինքն, ժամանակն է վերհանել և նշել այն կոնկրետ կենսաբանական գործոնները և մեխանիզմները, որոնք առավելագույնս կանխորոշում են աճի և զարգացման տարիքային վերափոխումները՝ ինչպես առանձին անհատի մոտ, այնպես էլ առանձին պոպուլյացիայում [5, 9, 11]: Այդ առումով հետազոտողների համար մեծ հետաքրքրություն է ներկայացնում օնտոգենեզի «պրոգրեսիվ» պերիպուբերտատ փուլը, որը բնութագրվում է մի շարք կարևորագույն հատկանիշներով. փոփոխությունների փուլայնությամբ (դիսկրետություն), աճի (չափերի մեծացում) և զարգացման (ձևագոյացում) պրոցեսների միասնականությամբ, մորֆոլոգիական կազմակերպման դիֆերենցմամբ, սեռական դիմորֆիզմով ու հասունացմամբ [2, 3, 11]: Պերիպուբերտատ փուլը բաժանում են 3 տարիքային շրջանի՝ պրեպուբերտատ, պուբերտատ, պոստպուբերտատ: Տղաների մոտ պուբերտատ փուլը (15-17տ) բնորոշվում է աճի պրոցեսների կայունացմամբ և երկրորդային սեռական հատկանիշների հիմնական մասի գործնականորեն լրիվ ի հայտ գալով, իսկ աղջիկների մոտ (14-17տ)՝ սեռական համակարգի զարգացման լրիվ ավարտմամբ [1, 4, 6]:

Հայտնի է, որ ֆիզիկական զարգացումը անհատի առողջությունը բնութագրող կարևոր ցուցանիշներից մեկն է: Միջավայրի ակտիվ և պասիվ գործոնները՝ աշխատանքի և ուսման պայմանները, կենցաղը, սննդի բնույթը, շարժական ակտիվությունը և այլն, էական ազդեցություն են գործում ֆիզիկական զարգացման մակարդակի վրա [2, 5, 6, 8, 11]: Ուսանողությունը կոնկրետ էթնիկական պոպուլյացիայի ներկայացուցիչ՝ «պրոգրեսիվ» տարիքային խմբում տարբերվում է անհամեմատ բարձր մտային բեռնվածությամբ, կյանքի տեմպերի առավելագույն արագացումով, տեղեկատվական լայն դաշտի առկայությամբ [9, 10]: Այդ ամենը, մեր կարծիքով, դարձնում է 16-17 տարեկան ուսանող տղաներին և աղջիկներին պոստնատալ օնտոգենեզում կատարվող տարիքային փոփոխությունները թելադրող ֆենոտիպիկ գործոնների, ինչպես նաև ֆիզիկական զարգացման մակարդակի ուսումնասիրման օպտիմալ խումբ: Բացի այդ, բնակչության այս խմբի առողջությանը տրվում է բժշկասոցիալական մեծ նշանակություն, քանի որ նրանք են որոշում յուրաքանչյուր երկրի ապագա ներուժը, պետության տնտեսական զարգացման տեմպերը և պաշտպանունակությունը [2, 4]:

## Նյութը և մեթոդները

Մեր կողմից 2002-2003թթ ուսումնասիրվել են Երևանի պետական բժշկական համալսարանի առաջին կուրսի 16 և 17 տարեկան ուսանողների (276 աղջիկներ և 232 տղաներ) ֆիզիկական զարգացման առանձնահատկությունները: Աշխատանքում օգտագործվել են ֆիզիկական զարգացման ուսումնասիրման համընդհանուր ճանաչում գտած մեթոդներ [1, 3, 5–7]: Հետազոտությունը անցկացնելու նպատակով մշակվել է ուսանողների ֆիզիկական զարգացման ուսումնասիրման քարտ, որը իր մեջ ներառել է հետազոտության օբյեկտը բնութագրող հետևյալ հատկանիշները. սոմատոմետրիկ ցուցանիշներ, ֆիզիոմետրիկ ցուցանիշներ և սոցիալական պայմաններ:

Մեր կողմից կատարված մորֆոլոգիական հետազոտության անթրոպոմետրիկ ցուցանիշների ընտրությունը բացատրվում է մի շարք օբյեկտիվ նկատառումներով, առ այն, որ դրանք.

- արտացոլում են ոչ միայն աճի պրոցեսը և ընդհանուր չափերի մեծացումը, այլ նաև միևնույն ժամանակ ընթացող դիֆերենցիացիայի պրոցեսները՝ օնտոգենետիկ փոփոխությունները առավել ընդհանուր արտահայտվում են մարդու մարմնի ընդհանուր չափերի տրանսֆորմացիայով [1, 10];
- համապատասխանում են կենսաբանական տարիքի չափորոշիչներին ներկայացվող մի

շարք խիստ պայմաններին՝ ունեն չափելիություն և բարձր վերարտադրողականություն, ինչը ապահովում է ցուցանիշների կայունությունը և դրանով պայմանավորված տարբեր հետազոտությունների արդյունքների համեմատության հնարավորությունը [4];

- հարմար են զանգվածային (պոպուլյացիոն) հետազոտություններում լայնածավալ օգտագործման համար [2, 5]:

Ստացված տվյալները ենթարկվել են վիճակագրական վերլուծության: Արդյունքների համեմատական վերլուծության համար ստուգիչ խումբ է հանդիսացել Լ. Եպիսկոպոսյանի կողմից 1980թ. կատարված նմանատիպ հետազոտության տվյալները [1]:

## Արդյունքները և դրանց քննարկումը

Կատարված հետազոտության ընթացքում ստացված արդյունքների համեմատական վերլուծությունը թույլ է տալիս արձանագրել հետևյալ առանձնահատկությունները. ի համեմատ 1980թ հետազոտված 16 և 17 տարեկան երիտասարդների, ներկայիս 16 և 17 տարեկան թե աղջիկները և թե տղաները ունեն հասակի ավելի բարձր ցուցանիշներ, սակայն միայն 16 և 17 տարեկան տղաների մոտ են հայտնաբերվել վիճակագրորեն հավաստի ցուցանիշներ:

Բազկի երկարության ուսումնասիրման ժամանակ բացահայտվել է նույն օրինաչափությունը, այսինքն ներկայիս երիտասարդների բազկի երկարությունը ավելի մեծ է, սակայն այդ տարբերությունը հավաստի է միայն տղաների մոտ, աղջիկների երկու տարիքային խմբերում տարբերությունները հավաստի չեն: Այլ է պատկերը նախաբազկի երկարության դեպքում, որտեղ ներկայիս ինչպես տղաները, այնպես էլ աղջիկները նախաբազկի երկարությամբ վիճակագրորեն հավաստի գերազանցում են իրենց 20 տարի առաջ հետազոտված հասակակիցներին:

Ազդրի երկարությամբ ներկայիս 16 և 17 տարեկան տղաները ստացված ցուցանիշներով հավաստիորեն առաջ են անցել 20 տարի առաջ հետազոտված իրենց հասակակիցներից: Աղջիկների 16 և 17 տարեկան խմբերում նույնպես գրանցվել է նույն օրինաչափությունը, սակայն ցուցանիշների տարբերությունը չնչին է և վիճակագրորեն ոչ հավաստի: Սրունքի երկարությունը ներկայիս 16 և 17 տարեկան տղաների մոտ հավաստի ետ է մնում ստուգիչ խմբից, մինչդեռ 16 և 17 տարեկան աղջիկների խմբերում գրանցված տարբերությունները չնչին են և վիճակագրորեն ոչ հավաստի:

Այսպիսով, մեր կողմից ստացված ներկայիս 16 և 17 տարեկան տղաների և աղջիկների խմբերում հասակի (ամբողջ մարմնի երկարության), ինչպես նաև վերջույթների մասերի երկարության փաստացի տվյալները, ինչպես նաև ներկա ու ստուգիչ խմբերի ցուցանիշների համեմատական վերլուծության արդյունքները, հաստատում են մեզ մատչելի գրականության աղբյուրներում բերված այն փաստը, որ մարդու մարմնի երկարության աճը կոորդինացնող գեների ազդեցությունը կարող է փոփոխվել արտաքին գործոնների ազդեցության ներքո [7, 8, 11]: Մեր տվյալները համահունչ են նաև գիտնականների այն թեզին, որ թե ժառանգական և թե արտաքին միջավայրի գործոնների ազդեցությունը չափազանց տարբեր է ոչ միայն օնտոգենեզի տարբեր փուլերում, այլ նույնիսկ նույն փուլի տարբեր հատվածներում [3, 9]. Չափազանց հետաքրքիր է, որ մեր տվյալներով սոմատոմետրիկ ցուցանիշների վիճակագրորեն հավաստի տարբերություններ ստացվել են հիմնականում տղաների 16 և 17 տարեկան խմբերում, ինչը լիովին համահունչ է ավելի վաղ աշխատանքներում ապացուցված տղաների մոտ աճի և զարգացման պրոցեսների առավել բարձր միջավայրից կախվածության - «էկոկախվածության» թեզին [5, 10]:

Բազկի, նախաբազկի, ազդրի և սրունքի հեռակա ծայրերի տրամագծերի համեմատության ժամանակ ներկայիս հետազոտված 16 և 17 տարեկան ինչպես տղաների, այնպես էլ աղջիկների խմբերում հայտնաբերվել են ավելի ցածր ցուցանիշներ, սակայն ստուգիչ խմբի համեմատ վիճակագրորեն հավաստի տարբերություններ չեն հայտնաբերվել, հետևապես գրանցված երևույթը չի կարելի օրինաչափ համարել:

Ուսերի լայնության ցուցանիշների համեմատության ժամանակ հայտնաբերվել է, որ ներկայիս 16 և 17 տարեկան տղաները՝ ստացված վիճակագրորեն հավաստի ցուցանիշներով, առաջ են անցել ստուգիչ խմբից, աղջիկների խմբերում նույնպես ստացվել են տարբերություններ ի օգուտ ներկայիս ուսանողների, սակայն դրանք ոչ հավաստի են:

Կրծքավանդակի շրջագծի տվյալների համեմատությունը ցույց տվեց, որ եթե 16 և 17 տարեկան տղաները ցուցանիշներով հավաստի առաջ են անցել ստուգիչ խմբից, ապա 16 և 17 տարեկան աղջիկները հավաստի հետ են մնում 20 տարի առաջ հետազոտված իրենց հասակակիցներից: Նույն պատկերն է նկատվել նաև կոնքի շրջագծի տվյալների վերլուծության ժամանակ: Պարզվել է, որ 16 և 17 տարեկան տղաները գերազանցել են ստուգիչ խմբին, սակայն տարբերությունը վիճակագրորեն հավաստի չէ: Աղջիկների երկու տարիքային խմբերում ներկայիս տվյալները հավաստիորեն զիջում են ստուգիչ խմբերի տվյալներին:

Բազկի և սրունքի շրջագծերի դեպքում պարզվել է, որ ներկայիս 16 և 17 տարի տղաների մոտ ցուցանիշները բարձր են ստուգիչ խմբի իրենց հասակակիցներից, սակայն վիճակագրորեն ոչ հավաստի, իսկ աղջիկների մոտ այդ տարբերությունները ոչ էական են և ոչ հավաստի (Աղյուսակ):

*Աղյուսակ*

*2001 և 1980թթ 16 և 17 տարեկան տղաների և աղջիկների անթրոպոմետրիկ ցուցանիշների տարբերությունը ($x_1$- $x_2$ սմ)*

| Ցուցանիշներ | 16 տարեկան տղաներ | 17 տարեկան տղաներ | 16 տարեկան աղջիկներ | 17 տարեկան աղջիկներ |
|---|---|---|---|---|
| Հասակ | 7.5* | 5.52* | 1.1 | 1.2 |
| Բազկի երկարություն | 1.78* | 1.64* | 0.13 | 0.1 |
| Նախաբազկի երկարություն | 1.85* | 1.73* | 0.63* | 0.7* |
| Ազդրի երկարություն | 7.85* | 6.3* | 1.0 | 0.9 |
| Սրունքի երկարություն | -1.6* | -1.5* | - 0.3 | - 0.8 |
| Բազկի էպիֆիզի տրամագիծ | - 0.08 | - 0.2 | - 0.45 | - 0.21 |
| Նախաբազկի էպիֆիզի տրամագիծ | - 0.04 | - 0.2 | 0.09 | 0.02 |
| Ազդրի էպիֆիզի տրամագիծ | -1.02 | -1.16 | -1.35 | -1.4 |
| Սրունքի էպիֆիզի տրամագիծ | - 0.1 | - 0.2 | - 0.3 | - 0.2 |
| Ուսերի լայնություն | 6.3* | 5.8* | 1.2 | 1.4 |
| Կրծքավանդակի շրջագիծ | 7* | 5.1* | -2.2* | -1.8* |
| Բազկի շրջագիծ | 0.6 | 0.5 | 0.3 | 0.4 |
| Սրունքի շրջագիծ | 0.13 | 0.14 | - 0.3 | - 0.5 |
| Կոնքի շրջագիծ | 0.9 | 1.1 | - 2.1* | - 2.8* |

* - $p < 0.05$ ($x_1$- $x_2$ տարբերությունը վիճակագրորեն հավաստի է, $t \geq 2$)

Ներկայացված փաստացի տվյալները հաստատում են այն թեզը, թե մարմնամասերի տրամագծերը և համամասնությունը ավելի կայուն են արտաքին միջավայրի ազդեցությանը [8, 10]: Այս փաստը վկայում է հիմնական ձևաբանական ցուցանիշների ժառանգական կոշտ դետերմինացիայի արկայության մասին, ինչը և իր հերթին հանդիսանում է տվյալ պոպուլյացիայում հիմնական կենսական տեսակի պահպանման գրավականը: Սակայն, ինչպես տեսանք, ուսերի լայնության, կրծքավանդակի ու կոնքի շրջագծերի ցուցանիշները այնուամենայնիվ հավաստիորեն տարբերվում են փորձնական և ստուգիչ խմբերում: Մեր կարցիքով դա պայմանավորված է էկոլոգիական և սոցիալ-տնտեսական գործոնների ազդեցությամբ՝ չէ որ ապացուցված է, որ ժառանգականության փոխանցման գործակիցը նվազում է ծայրահեղ աշխարհագրական (այդ թվում բարձրադիր գոտի) և սոցիալ-տնտեսական պայմաններում ապրող պոպուլյացիաներում [8, 11]: Այլ խոսքերով, ժառանգականության փոխանցման գործակիցը մի փոփոխական պարամետր է, որը միայն բնութագրում է տվյալ կոնկրետ պոպուլյացիան: Մյուս կողմից ներկայիս 16 և 17 տարեկան աղջիկների մոտ կրծքավանդակի շրջագծի և կոնքի շրջագծի տվյալների ակնհայտ հավաստի նվազումը չի կարող մեկնաբանվել միայն միջավայրի ազդեցությամբ (2–4), այլ պահանջում է ավելի խորը վերլուծություն, քանի որ հայտնի է, որ իգական սեռի մոտ զարգացումը շատ ավելի քիչ է պայմանավորված արտաքին գործոնների ներազդեցությամբ՝ ավելի շատ կանոնակարգվելով մոր կողմից ժառանգված X-քրոմոսոմի ազդեցությամբ [5, 7]:

*Поступила 19.01.05*

## Сравнительный анализ современных тенденций изменения антропометрических показателей у студентов армян

В.М. Вардазарян

В статье представлены данные сравнительного анализа особенностей физического развития (по результатам соматометрии, проведенной в 2002/2003 учебном году) студентов I курса ЕрГМУ (276 девушек и 232 юношей) с фактическими данными, полученными при аналогичных исследованиях 1980 года. Исследования показали, что за последние 20 лет все продольные показатели (длина тела, длина туловища и отделов конечностей) имеют положительную тенденцию роста. Причем у юношей 16 и 17 лет полученные результаты статистически достоверны, что закономерно подтверждает концепцию о более высокой степени "экозависимости" данной поло-возрастой группы. В то же время, по нашим данным, поперечные размеры и пропорции тела за исследуемый отрезок времени достоверно не изменились, что свидетельствует об относительной стабильности данных показателей по отношению к воздействию окружающей среды. Однако такие показатели, как ширина плеч, окружность грудной клетки, окружность таза, по полученным данным, достоверно отличаются в контрольной и опытной группах. Этот факт подтверждает известный тезис о снижении уровня коэффициента наследственной передачи в экстремальных географических (в том числе высокогорье) и социально-экономических условиях.

## Comparative analysis of current tendencies in changes of anthropometric indices of Armenian students

V. M. Vardazaryan

The results of a comparative analysis of the peculiarities of physical development (according to the results of somatometry, carried out in 2002-2003 academic year) of the first - year students of YSMU ( 276 girls and 232 boys) are presented in the article. They are compared with the data obtained in analogous investigations carried out in 1980.

The results of the investigation have shown, that all the longitudinal indices ( the body length, trunk length and the length of some parts of the extremities) have had a positive growth tendency for the last 20 years. However, the results obtained in 16 and 17- year old boys are statistically reliable, which confirms the conception of a higher degree of "ecodependence" of a certain sex-age group. At the same time, according to our data, the diametrical sizes of body and the proportions of body during the observed period have not changed, which testifies to a relative stability of the mentioned indices related to the surrounding enviromment influence. However, such indices as width of the shoulder, circumferences of the chest and the pelvis are precisely different in the control and experimental groups. This fact confirms the well-known thesis concerning the decrease in the efficiency level of hereditary transmissions in extremal geographic ( including alpine) and social- economic conditions.

### Գրականություն

1. *Епископосян Л.М.* Генетика, 1988, т.24, 2, с.331.
2. *Кучма В.Р., Вишневская Т.Ю., Скобина Н.А.* В кн.: Методы исследования физического развития детей и подростков в популяционном мониторинге. М., 1999.
3. *Миклашевская Н.Н., Соловьева В.С., Година Е.З.* Ростовые процессы у детей и подростков. М.,1988.
4. *Павловский О.М.* Вопросы антропологии. 1985, 75, с. 133.
5. *Трубников В.И., Гиндилис В.М.* Вопросы антропологии, 1980, 65, с. 54.
6. *Ямпольская Ю.А.* Гигиена и санитария, 1996, 1, с.24.
7. *Atchley W.R.* Evolution (USA), 1987, v. 41, 2. p.316.
8. *Dupae E., Defrise-Gussenhoven E., Susanne C.* Acta Genet., Med. et Gemellol., 1982, v. 31, 3-4, p. 139.
9. *Guo S.S., Chumlea W.C., Roche A.F.* Int.J. Obas., 1997, 21, p. 1167.
10. *Marshall W.A.* Ann. Hum. Biol., 1974, v. I. p. 29.
11. *Mueller W.H., Titcomb M.* Ann. Hum. Biol., 1977, v. 4, p.1.

УДК 617.753.2

# Возможность применения кристаллографического исследования слезной жидкости с целью прогнозирования прогрессирования близорукости

Л.О. Акопян

*Национальный институт здравоохранения МЗ РА*

*375051, Ереван, пр. Комитаса, 49/4*

*Ключевые слова*: кристаллографическое исследование, прогрессирующая близорукость, кристаллы, клиновидные включения

Близорукость является одной из наиболее актуальных проблем офтальмологии.Прогрессирующая близорукость высокой степени сопровождается развитием осложнений и занимает одно из первых мест среди причин инвалидности по зрению. Разработка новых методов профилактики развития близорукости и ее прогрессирования является важнейшей задачей в офтальмологии [1]. Одним из свойств всех биологических жидкостей организма человека и животных является кристаллизация, представляющая по сути своей сложный физико-химический процесс, базирующийся на дегидратации биоматериала с образованием различных по химическому составу и свойствам кристаллогидратов [2].

На сегодняшний день представляет интерес развитие нового направления лабораторной диагностики– клинической кристаллографии, которое заключается в изучении структурообразования в биологических жидкостях. Положение о системной организации биологических жидкостей базируется на аутоволновых взаимоотношениях их элементов, лежащих в основе процессов самоорганизации. Практическая реализация условий самоорганизации биологических жидкостей осуществляется с помощью метода клиновидной дегидратации. Суть этого метода заключается в переводе капли биологической жидкости в твердую фазу путем высушивания в стандартных условиях. Высохшая капля биологической жидкости называется *фация*. Морфологическая картина ее имеет структуры, характерные для каждого вида жидкости, а также структуры, специфичные для каждого человека, которые зависят от особенностей течения физиологических и патологических процессов, происходящих в организме. Слезная жидкость (СЖ) является наиболее доступной для исследования биологической жидкостью. Показатели ее химического состава в значительной степени отражают состояние обменных процессов, происходящих в органе зрения [3].

Целью настоящей работы явилось изучение возможности применения кристаллографического исследования (КГИ) для прогнозирования прогрессирования близорукости.

## Материал и методы

Всего обследовано 60 пациентов (120 глаз) с близорукостью в возрасте от 12 до 60 и старше лет, из них 20 мужчин и 40 женщин. Были выделены следующие группы: I–38 глаз со слабой и средней степенью близорукости, II–18 глаз с высокой степенью, III–64 глаза с прогрессирующей близорукостью. Все больные обследованы по общепринятой офтальмологической методике. Забор слезы осуществляли стерильной пипеткой. Слезу переносили на предварительно обезжиренное предметное стекло. Кристаллизация СЖ проходила при комнатной температуре (20–22°С) в течение 4 часов. Исследование проводили на световом микроскопе при увеличении в 40 раз. Анализ кристаллографической картины (КГК) состоял в определении всех типов кристаллов, присутствующих в препарате, с выделением преобладающего типа.

## Результаты и обсуждение

Высушенная капля слезы здорового человека отчетливо делится на 2 части: основной солевой центр и краевую белковую зону. Краевая имеет четкие границы и похожа на кольцо со множеством разнонаправленных радиальных трещин. Центральная зона заполнена солевыми структурами. Органические и минеральные вещества четко разделены. Кристаллы плотно прилегают друг к другу (рис.1).

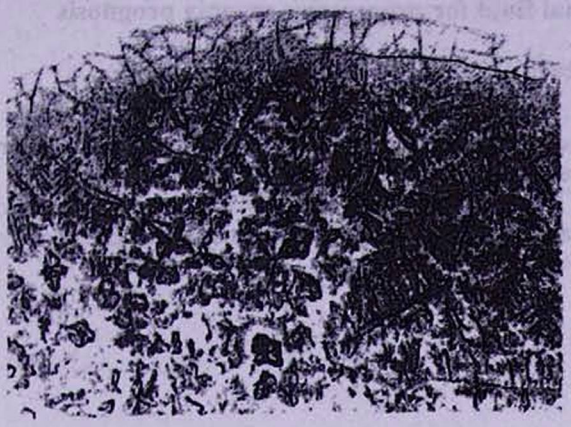


Рис. 1. Фрагмент фаций слезной жидкости здорового человека

Исследование фаций СЖ у 60 больных (120 глаз) с близорукостью позволило выделить отличительные особенности структурных параметров у больных с прогрессирующей осложненной близорукостью.

В 38 глазах (31,7%) со слабой и средней степенью близорукости краевая зона имеет четкие границы, солевые структуры представлены кристаллами, плотно прилегающими друг к другу; преобладают I и II типы кристаллов.

В 18 глазах (15,8%) с высокой близорукостью наблюдаются образования промежуточной зоны и проникновение структур солей в белковую зону. Это свидетельствует об образовании дисгармоничной системы белка и солей СЖ. Кристаллы плотно прилегают друг к другу, рисунок однородный.

В обследованных 64 глазах (53.3%) с прогрессирующей осложненной близорукостью отмечалось появление в краевой зоне фации специфичных клиновидных включений, часть которых сращена со структурами промежуточной зоны. Кристаллы центральной зоны расположены хаотично, рисунок неоднородный, размытый (рис.2).

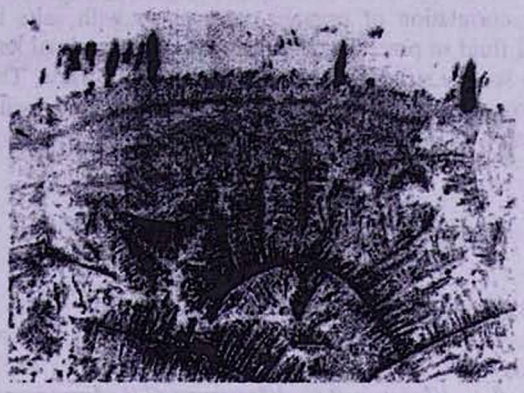


Рис. 2. Фрагмент фаций слезной жидкости больного (21 год) с прогрессирующей близорукостью

Таким образом, можно заключить, что:

1. В слезной жидкости практически здоровых людей соотношение органических веществ с солями оптимально и в фации наблюдается их четкое разделение на 2 зоны.

2.С развитием близорукости изменяется КГК СЖ, что свидетельствует об образовании дисгармоничной системы белка и солей.

3.При прогрессирующей близорукости образуются специфичные клиновидные включения, сращенные с промежуточной зоной.

4.КГИ является простым, доступным и информативным методом в клинической практике для ранней диагностики прогрессирующей близорукости.

*Поступила 30.09.04*

## Արցունքի բյուրեղագրաֆիկական հետազոտության կիրառման հնարավորությունը պրոգրեսիվ կարճատեսության կանխորոշման նպատակով

Լ.Վ. Հակոբյան

Գործնականում առողջ մարդկանց մոտ արցունքում օրգանական նյութերի և աղերի հարաբերությունը օպտիմալ է և ֆացիայում նկատվում է նրանց պարզորոշ բաժանումը երկու միջակայքերի: Կարճատեսության զարգացման հետ փոխվում է արցունքի բյուրեղագրաֆիկական պատկերը, ինչը վկայում է աննորմաշնակ համակարգի առաջացման մասին սպիտակուցների և աղերի միջև: Պրոգրեսիվ կարճատեսության ժամանակ առաջանում են սպեցիֆիկ սեպաձև ներամփոփումներ, որոնք սերտաճված են միջանկյալ միջակայքի հետ: Բյուրեղագիտական հետազոտությունը պարզ, մատչելի և տեղեկատվային եղանակ է պրոգրեսիվ կարճատեսության վաղ ախտորոշման համար:

## Possibilities of crystallographic research of lacrimal fluid for progressive myopia prognosis

L.H.Hakobyan

The correlation of organic compounds with salts in lacrimal fluid in practically healthy people is optimal and one can see the strite division into two zones in facia. The crystallographic picture of lacrimal fluid changes with progression of myopia that testifies to the occurrence of disharmonic system of albumens and salts. In case of progressive myopia definite wedge-form inclusions appear.

Thus, crystallographic research is a simple and informative method for early diagnostics of progressive myopia in clinical practice.

### Литература

1. *Аветисов Э.С.* Близорукость.М., 1986, с.3.
2. *Деев Л.А., Шабалин В.Н., Шатохина С.Н.* Актуальные проблемы геронтологии. М., 1999, с. 181.
3. *Касавина Б.С., Кузнецова Т.П.* Вестник офтальмологии, 1978, 5, с.79.

УДК 616.31.:678.048

# Влияние Stress Guard на регуляцию показателей окислительного стресса у больных с пародонтитом

Л.К.Мурадян

*НИЗ МЗ РА, кафедра хирургической стоматологии; ЕрГМУ им.М.Гераци, кафедра биохимии*

*375051, Ереван, пр. Комитаса 49/4*

*Ключевые слова:* пародонтит, окислительный стресс, перекисное окисление липидов, антиоксиданты

Заболевания пародонта являются одной из наиболее распространенных и сложных проблем современной медицины. В настоящее время проблема пародонтита характеризуется резким изменением некоторых представлений о патогенезе, путях профилактики и комплексного лечения этой тяжелой патологии. Высокая распространенность воспалительных заболеваний пародонта в мире, недостаточная эффективность и длительные сроки их терапии обуславливают актуальность дальнейшего совершенствования методов лечения этой патологии.

Исследованиями последних лет установлено, что пародонтит относится к числу свободнорадикальных патологий [21, 22]. Иначе говоря, в развитии этого заболевания одним из важных патогенетических факторов является избыточное образование реактивных разновидностей кислорода (РРК) [14, 20]. Последние образуются преимущественно из полиморфноядерных лейкоцитов в процессе воспалительного ответа и, повидимому, играют существенную роль в деструкции пародонтальной ткани [23]. В опытах in vitro было показано, что РРК способны разрушать различные компоненты межклеточного матрикса, включая протеогликаны, что приводит к модификации функциональных групп аминокислот, фрагментации белков, тогда как цепи структурных гликозаминогликанов подвергаются ограниченной деполимеризации. Избыточное образование РРК приводит к усилению липидной пероксидации, что, в свою очередь, обуславливает деструкцию клеточных мембран [1]. Показано, что у больных с пародонтитом обнаружено значительное снижение содержания основных антиоксидантов в крови [22]. С целью предотвращения роста активных радикалов кислорода и липидных перекисей предлагается назначать больным антиоксиданты [10, 11].

Исходя из вышеизложенного, нами проведено исследование влияния нового растительного препарата Stress Guard, являющегося травяной диетической добавкой и обладающего выраженными адаптогенным, иммуномодулирующим, а также антиоксидантным действием [15, 19]. Препарат использовался ранее в различных областях медицины [7], однако в стоматологии нами испытывается впервые.

## Материал и методы

Работа проведена на 102 лицах обоего пола с установленным пародонтитом различной тяжести. Контрольную группу составили 19 здоровых лиц без признаков пародонтита. Исследование проводили до начала лечения, а также после его окончания, приблизительно через месяц после обращения больного в клинику. Для исследования брали кровь из локтевой вены на оксалате натрия, анализ проводили в день сбора крови. Исследования проводили в сыворотке крови. Известно, что процессы перекисного окисления липидов (ПОЛ) в клетке локализованы в мембранах. Однако кровь является средой, в которой в интегрированной форме отражается уровень процессов свободнорадикального ПОЛ. В работах, которые не преследуют цель выявления патогенетических механизмов участия ПОЛ и не претендуют на исчерпывающий ответ, а только констатируют изменение этого процесса в зависимости от функционального состояния организма, используется определение показателей ПОЛ в сыворотке крови [6].

Об эффективности препарата судили по состоянию некоторых показателей окислительного стресса, в частности, по изменению системы ПОЛ и антиоксидантной системы (АОС). Были изучены начальные (диеновые конъюгаты -ДК), промежуточные (малоновый диальдегид–МДА) и конечные (шиффовые основания-ШО) продукты ПОЛ. Для характеристики АОС изучали содержание основного тканевого антиоксиданта α-токоферола (α-ТФ), а также активность одного из главных защитных ферментов – супероксиддисмутазы (СОД). В качестве показателя состояния мембранной функции изучалась суммарная пероксидазная активность (СПА) [9]. Содержание средних молекул опре-

деляли в качестве показателя степени интоксикации [3] окислительной модификации белков [5]. Содержание ДК определяли спектрофотометрически по реакции с тиобарбитуровой кислотой [24] и выражали в *нМ/мл* крови. ШО и α–ТФ определяли спектрофлуорометрически [8, 13] и выражали для ШО в *ед.мл* крови, а для α -ТФ – в *мг %*. Активность СОД определяли в суспензии эритроцитов по ингибированию генерации супероксидных анионрадикалов в модельной системе феназинметасульфат-НАДН-нитротетразолий синий [18]. За единицу активности СОД принимали количество фермента, которое тормозило обесцвечивание нитротетразолия синего на 50%. Расчет активности фермента производили на *мг* белка. Количество белка определяли по Lowry [16] и выражали в *мг/мл* эритроцитарной массы. СПА определяли колориметрическим методом по цветной реакции с бензидинхлоридом [9] и выражали в единицах оптической плотности на *мл* сыворотки крови. СМ определяли спектрофотометрически [3] и выражали в условных оптических единицах, численно равных экстинкции прибора, на *мл* сыворотки крови.

## Результаты и обсуждение

Как показали полученные данные (табл.1), у больных с пародонтитом различной тяжести наблюдается резкое увеличение в крови содержания начальных продуктов ПОЛ (более чем в 2 раза), тогда как промежуточные и конечные продукты увеличивались недостоверно. Это, казалось бы, несоответствие объясняется данными литературы о неодинаковой функциональной значимости отдельных компонентов цепи ПОЛ. Так, между концентрациями ШО и МДА существует определенная взаимосвязь, суть которой в том, что изменение концентрации МДА может не всегда сопровождаться аналогичным изменением шиффообразования вследствие возможного разнонаправленного участия МДА в клеточном метаболизме [2].

Нами показано, что при пародонтите все показатели ПОЛ возрастали, хотя и в разной степени. Однако достоверно возрастало только содержание ДК, тогда как МДА и ШО возрастали недостоверно. Такое несоответствие в увеличении отдельных компонентов ПОЛ создается, повидимому, вследствие усиления перехода МДА в ШО, а также их взаимодействия с различными клеточными структурами, что приводит к нарушению функции последних, столь характерных для картины окислительного стресса.

*Таблица*

*Влияние Stress Guard на эффективность лечения больных с пародонтитом*

| Показатели | Контроль n=19 | До лечения n=102 | Обычное лечение n=47 | Лечение+ SG n=55 |
|---|---|---|---|---|
| ДК | 4,3±0,37 | 9,11±0,45 p<0,001 | 5,53±0,6 p>0,05 | 5,18±0,76 p>0,05 |
| МДА | 5,41±0,34 | 5,66±0,15 p>0,05 | 5,36±0,36 p>0,05 | 4,59±0,33 p<0,001 |
| ШО | 0,18±0,01 | 0,20±0,017 p>0,05 | 0,17±0,012 p>0,05 | 0,13±0,018 p<0,02 |
| СОД | 41±2,6 | 46,4±3,6 p>0,05 | 31,6±4,8 p<0,005 | 28,7±7,1 p<0,001 |
| α-ТФ | 0,59±0,03 | 0,24±0,017 p<0,001 | 0,3±0,01 p<0,001 | 0,42±0,04 p<0,01 |
| СПА | 1,06±0,14 | 1,34±0,10 P<0,05 | 0,59±0,032 p<0,001 | 0,53±0,031 p<0,001 |
| СМ | 0,19±0,025 | 0,42±0,02 p<0,001 | 0,39±0,02 p<0,001 | 0,37±0,03 p<0,001 |
| Белок | 107,5±9,8 | 102±6,9 p<0,01 | 120,7±7,9 p<0,001 | 127,8±12,1 p<0,001 |

Что касается АОС, то содержание α-ТФ снижается почти в 2,5 раза, тогда как активность СОД возрастает незначительно. Одновременно на 26% возрастает СПА. Отмечено резкое (более чем в 2 раза) увеличение содержания СМ.

Известно, что содержание α-ТФ находится в тесных причинно-следственных отношениях, во-первых, с усилением ПОЛ и, во-вторых, с его недостатком в

структуре клеточных мембран, в формировании которых он участвует, встраиваясь в жирнокислотные хвосты фосфолипидов. Именно снижение содержания α-ТФ и одновременное повышение СПА свидетельствуют о нарушении барьерной фукции клеточных мембран, что и является одним из характерных показателей пародонтита.

Таким образом, при пародонтите у больных в крови наблюдается дисбаланс между системами ПОЛ и АОС, что является свидетельством развития окислительного стресса, проявляющегося на фоне соответствующих морфофункциональных расстройств [12].

Обычное лечение, без включения Stress Guard, приводит к определенной стабилизации изучаемых показателей, в особенности содержания ДК.

Включение Stress Guard в число средств патогенетической терапии больных с пародонтитом в значительной степени влияло на эффективность проводимого лечения. При этом наиболее приближенными к норме оказались показатели ДК. Уровни МДА и ШО также оказались наименьшими, что свидетельствует о продолжающемся торможении процессов ПОЛ. В пользу повышения антиоксидантной активности организма свидетельствует возросший уровень α-ТФ. Продолжающееся снижение СОД - активности может иметь компенсаторный характер вследствие репрессии фермента в ответ на уменьшение образования супероксидного радикала. Все вышеуказанное приводит к восстановлению структуры и функции клеточных мембран, устранению процесса интоксикации, что выражается в максимальном снижении СПА и СМ. И наконец, максимальный рост содержания белка в эритроцитарной массе может быть как следствием усиления его биосинтеза, так и торможения протеолитических процессов в период реконвалесценции.

Таким образом, проведенное нами исследование показало, что, хотя обычно проводимое при пародонтите лечение и оказывает в целом лечебное действие, однако включение в схему лечения нового мощного антиоксиданта растительного происхождения Stress Guard делает это лечение более эффективным.

*Поступила 15.12.04*

## Պարօդոնտիտով հիվանդների Stress Guard-ով բուժման ազդեցությունը օքսիդացնող սթրեսի ցուցանիշների կարգավորման վրա

Լ.Կ. Մուրադյան

Կատարված ուսումնասիրությունների արդյունքում, առաջին անգամ, պարօդոնտի հիվանդությունների կլինիկական համալիր բուժման համար որպես հակաօքսիդանտ օգտագործվում է կենսաբանական ակտիվ նյութ՝ Stress Guard:

Տարբեր աստիճանի բարդության պարօդոնտիտով հիվանդներից վերցված արյան կենսաբանական անալիզների արդյունքների վերլուծության հիման վրա բացահայտված է Stress Guard դեղամիջոցի բարձր բուժական արդյունավետությունը:

## The influence of "Stress Guard" on the regulation of oxidative stress indeces in periodontal patients

L.K. Muradyan

For the first time, in result of performed studies, à biological active substance "Stress Guard" has been used as an antioxidant for clinical complex treatment of periodontal disease.

On the basis of biological analysis of blood taken from periodontal patients of different categories "Stress Guard" has been proved to have a high therapeutic effectiveness.

## Литература

1. *Агаджанов М.И.* Мед.наука Армении, т. 40, 3, с. 56.
2. *Акопян В.П., Манукян А.А.* Вестник Международной академии наук высшей школы. М.,2001, т.1(15), с. 95.
3. *Владыка А.С., Беляков Н.А., Шугаев А.И. и др.* Вестник хирургии, 1986, 8, с 126.
4. *Голиков П.П., Давыдов Б.Б., Матвеев С.Б.* Вопросы мед химии, 1987, т. 33, 1, с.47.
5. *Дубинина Е.Е.,Леонова Н.П., Зыбина Н.Н.* Фундаментальные и прикладные аспекты современной биохимии. Труды науч. конф.СПб, 1998, т. 2, с. 425.
6. *Клебанов Г.И.,Теселкин Ю.О., Бабенкова И.В. и др.* Вестник Российской АМН. М., 1999, т. 2, с.15.

7. *Круглякова К.Е., Шишкина Л.Н.* В сб.: Исследование синтетических и природных антиоксидантов in vitro и in vivo. М., 1992, с. 5.
8. *Меерсон Ф.З., Каган В.Е., Голубева Л.Ю. и др.* Кардиология, 1979, т.29, 8, с. 108.
9. *Покровский А.А.* Биохим. методы исследов. в клинике. М., 1969.
10. *Battino M., Ferreiro M.S., Bompadre S., Leone L., Mosca F., Bullon P.* J.Periodontol., 2001, v. 72, 12, p. 1760.
11. *Bobyrev V.N., Rozkolupa N.V., Skripnikova T.P.* Stomatologia, 1994, v.73, 3, p. 11.
12. *Costantine P., Chernyak B.V., Petronilli V., Bernardi P.* J.Biol.Chem., 1996, v.271, 12, p. 1681.
13. *Duggan D.D.* Arch. Biochem.Biophys., 1954, v. 84, 1, p. 116.
14. *Hanioka T., Tanaka M., Ojima M., Shizukuishi S., Folkers K.* Mol. Aspects Med., 1994, v. 15, Suppl:s 241.
15. *Lebedev A.A.* Meditsina, Publishing House of USSR, 1971.
16. *Lowry O.H., Rosenbrough N.S., Farr A.L., Randal N.R.* J.Biol.Chem., 1952, v. 193, 1, p. 265.
17. *Marton I.J., Balla G., Hegedus C., Redy P., Szilagyi Z., Karmazsin L., Kiss C.* Oral Microbiol. Immunol., 1993, v. 8, 4, p. 254.
18. *Nishikimi M., Rao N.A., Yagi K.* Biochem.Biophys.Res.Com., 1972, v. 46, 2, p. 849.
19. *Panosssian A.G., Wikman G., Wagner H.* Phytomedicine, 1999, v.5, 4, p.1.
20. *Sculley D.V., Langley-Evans S.C.* Proc.Nutr.Soc., 2002. v. 61, 1, p.137.
21. *Sheikhi M., Bouhafs R.K., Hammarstrom K.J., Jarstrand C.* Oral Dis., 2001, v.7, 1, p. 41.
22. *Terovsky S.S., Potapina V.P., Aksyonov M.M.* Psychopharmacology&Biological Narcology, 2004, 2/3, p. 692.
23. *Waddington R.J., Moseley R., Embery G.* Oral Dis., 2000, v.6, 3, p. 136.
24. *Yoshika T., Kawada K., Shimada T., Mori M.* Amer.J. Obstet.&Gynecol., 1979,v.135, 3, p. 372.

УДК 616.314-0532

# Ատամնածնոտային անոմալիաների տարածվածության վերլուծությունը Երևան քաղաքի երեխաների մոտ

Ռ.Մ. Հովհաննիսյան

*Մ.Հերացու անվ. ԵՊԲՀ, ստոմատոլոգիական հիվանդությունների կանխարգելման և մանկական ստոմատոլոգիայի ամբիոն,*

*375025, Երևան, Կորյունի 2*

*Բանալի բառեր.* ատամնածնոտային անոմալիաներ, տարածվածություն, հաճախականություն

Ատամնածնոտային անոմալիաները (ԱԾԱ) բնութագրվում են մեծ տարածվածությամբ երեխաների ու դեռահասների ստոմատոլոգիական հիվանդացության կառուցվածքում, զբաղեցնելով առաջին տեղերից մեկը (կարիեսից և պարոդոնտի հիվանդություններից հետո): Այդ իսկ պատճառով ԱԾԱ-ների տարածվածության ուսումնասիրումը հանդիսանում է օրթոդոնտիայի հրատապ խնդիրը [1]: Միևնույն ժամանակ ատամնածնոտային անոմալիաների տարածվածության ուսումնասիրման տվյալները մեծ ծառայություն կարող են մատուցել ինչպես կանխարգելիչ – կազմակերպչական աշխատանքների ծրագրի մշակման համար, այնպես էլ մասնագիտական բժշկական օգնության անհրաժեշտության հաշվարկման և կազմակերպման նկատառումներով:

Ըստ գրականության տվյալների, ԱԾԱ-ները հանդիպում են Ռուսաստանի Դաշնությունում 33.2% հաճախականությամբ [2], Սաուդյան Արաբիայում՝ 62.4% [3], Ճապոնիայում՝ 40% (ըստ DAI ինդեքսի) [4]: ԱԾԱ-ների տարածվածության ուսումնասիրումը ունի որոշակի դժվարություններ՝ կապված կիրառվող մեթոդների բազմազանության հետ, ինչը թույլ չի տալիս համեմատել տարբեր տարածաշրջաններում կատարված հետազոտությունների արդյունքները: Ստացված տեղեկատվությունը չի կարելի հավաստի համարել այն դեպքում, երբ հաշվի են առնվում միայն ստոմատոլոգիական միջամտության համար դիմող անձանց հետազոտման արդյունքները: Դրանից խուսափելու համար, խորհուրդ է տրվում անցկացնել բնակչության առանձին խմբերի ընտրովի ուսումնասիրություններ, ստոմատոլոգիական հիվանդացության որոշման համար, իրականացնելով ԱՀԿ-ի 1997թ երաշխավորագրերի պահանջները:

Ուստի, մեր հետազոտման նպատակն է եղել ուսումնասիրել Երևան քաղաքի 3–17 տարեկան երեխաների շրջանում ԱԾԱ-ների նոզոլոգիական տարատեսակների տարածվածության հաճախականությունը:

Հետազոտման խնդիրն է հանդիսացել ներկայացնել ԱԾԱ-ների տարածվածությունը ըստ կծվածքի ձևավորման փուլի և սեռի և ցույց տալ ԱԾԱ-ների հաճախականության փոփոխությունը տարիքային անցումների ժամանակ:

## Նյութը և մեթոդները

Հետազոտության խնդիրները լուծելու նպատակով Հայաստանի Հանրապետության Առողջապահության նախարարության և Լուսավորության նախարարության կրթության վարչության կողմից տրված համատեղ միջոնորդագրի և հատուկ թույլտվության հիման վրա 1998թ.-ի ընթացքում հետազոտվել է Երևան քաղաքի վեց դպրոցների և ութ մանկապարտեզների 3-17 տ., ընդհանուր թվով 4158 երեխա, որը կազմում է ՀՀ-ում բնակվող նշված տարիքի երեխաների ավելի քան 1%-ը, ինչն անհրաժեշտ է համաճարակաբանական հետազոտության արդյունքում ստացված տվյալների հավաստիության համար: Նախադպրոցական տարիքի երեխաների թվաքանակը եղել է 487, դպրոցական տարիքի երեխաներինը՝ 3671:

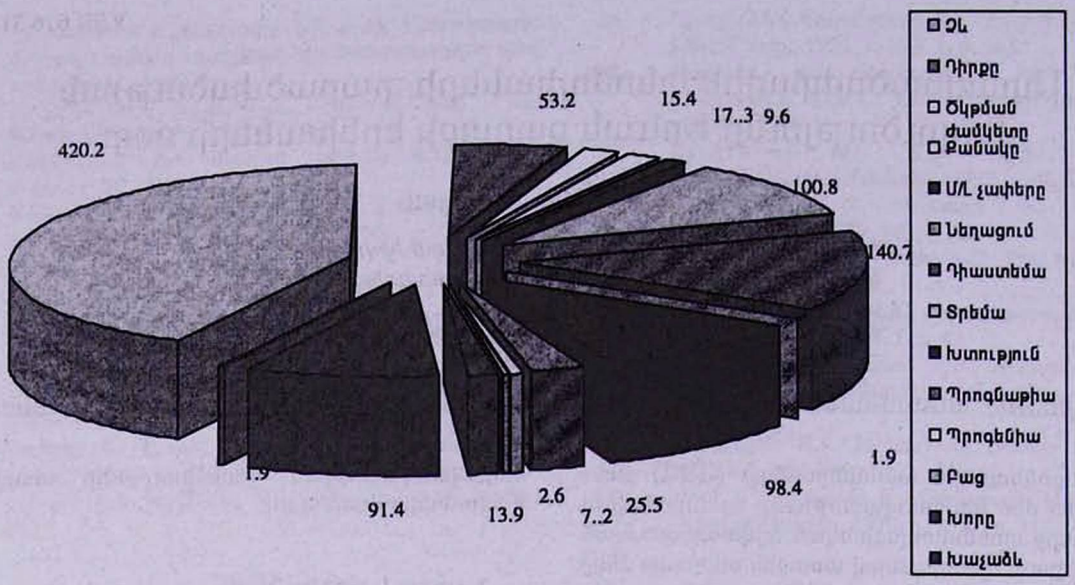
Մեր կողմից անցկացված վիճակագրական հետազոտությունը կրել է նկարագրական բնույթ, նպատակ ունենալով ուսումնասիրել ԱԾԱ-ների նոզոլոգիական տարատեսակների տարածվածությունը բնակչության որոշակի խմբերում տվյալ ժամանակահատվածում: Հետազոտման ժամանակ կիրառել ենք կլինիկական ախտորոշման ստատիկ եղանակը:

Հետազոտության տվյալները գրանցվել են մեր կողմից առաջարկված հատուկ և զանգվածային հետազոտման թերթիկներում, որոնց մշակման ժամանակ օգտվել ենք ՍՍՍՌ-ի օրթոդոնտիայի ամբիոնում կիրառվող «ինֆորմացիայի մուտքի քարտից»:

## Արդյունքները և դրանց քննարկումը

ԱԾԱ-ներ հանդիպել են 2411 երեխայի մոտ, որը կազմում է մոտավորապես հետազոտվածների 58%:

ԱԾԱ-ների նոզոլոգիական տարատեսակների հաճախականությունը ըստ 1000 հետազոտվածի




պատկերված է գծապատկերում (ինտենսիվ ցուցանիշ):

Կաթնատամային կծվածքի փուլում ԱԾԱ-ների տարածվածությունը կազմել է 34.02±2.16%, խառը կծվածքի փուլում՝ 62.89±1.14%, մշտական կծվածքի փուլում՝ 59.45±1.13%: Մեր հետազոտության արդյունքները ցույց են տալիս, որ ԱԾԱ-ների տարածվածությունը փոխվում է տարիքի հետ, ցուցանիշները օրինաչափ բարձրանում են խառը կծվածքի և որոշակիորեն իջնում մշտական կծվածքի փուլերում, սակայն մնալով բարձր մակարդակի սահմաններում, ինչը հաստատվում է նաև այլ հեղինակների կողմից [5]:

*Աղյուսակ*

*ԱԾԱ-ների կառուցվածքը ըստ նոզոլոգիական տարատեսակների*

| ԱԾԱ-ների տարատեսակը | Անոմալիաների թիվը | Էքստենսիվ ցուցանիշ, % |
|---|---|---|
| Չև | 8 | 0.33±0.12 |
| Դիրք | 380 | 15.76 ± 0.74 |
| Ծկթման ժամկետ | 58 | 2.41 ± 0.31 |
| Քանակ | 11 | 0.46 ± 0.14 |
| Մ/Լ չափեր | 30 | 1.24 ± 0.23 |
| Նեղացում | 106 | 4.40 ± 0.42 |
| Դիաստեմա | 409 | 16.96 ± 0.76 |
| Տրեմա | 8 | 0.33 ± 0.12 |
| Խտություն | 585 | 24.26 ± 0.87 |
| Պրոգնաթիա | 419 | 17.38 ± 0.77 |
| Պրոգենիա | 40 | 1.66 ± 0.26 |
| Բաց | 72 | 2.99 ± 0.35 |
| Խորը | 64 | 2.65 ± 0.33 |
| Խաչածև | 221 | 9.17 ± 0.59 |
| Ընդամենը | 2411 | 100 |

Ստացված տվյալներից (Աղյուսակ) երևում է, որ առավել տարածված են խտությունը, պրոգնաթիան, դիաստեման, դիրքի անոմալիաները և խաչածն կծվածքը: Ի դեպ, Pognacco-ի [6] կարծիքով, առավել հաճախ են հանդիպում կծվածքի ուղղահայաց, նետածիգ և հորիզոնական հարթության խանգարումները:

Հետազոտության իրականացման ընթացքում մենք մանրակրկիտ ուշադրություն ենք դարձրել ԱԾԱ-ների նոզոլոգիական տարատեսակների առանձին և զուգորդված ձևերի հայտնաբերման և գրանցման վրա, որպեսզի կարողանանք առավել լիարժեք ցույց տալ նրանց տարածվածության փոփոխությունը տարիքի հետ, ինչպես նաև հայտնաբերել որոշ ԱԾԱ-ների ինքնակարգավորման հավանականությունը, քանի որ գործնական օրթոդոնտիայի համար առավել կարևոր նշանակություն ունի ոչ թե ԱԾԱ-ների ընդհանուր թվի փոփոխությունը տարիքի հետ, այլ նրա առանձին ձևերինը [7]:

Այսպիսով, պարզվել է, որ տարիքային փոփոխությունների առավելապես ենթարկվում է դիաստեման, խորը կծվածքը, ատամնաշարերի նեղացումը: Բաց և խաչածև կծվածքների տարածվածությունը քիչ է փոփոխվում տարիքի հետ:

Այսպիսով, Երևան քաղաքում հայտնաբերվել է ԱԾԱ-ների մեծ տարածվածություն նախադպրոցական և դպրոցական տարիքի երեխաների շրջանում, ինչը հիմնավորում է անհապաղ կանխարգելիչ ծրագրերի ստեղծումը և խնդիր է բարձրացնում առողջապահության օրգանների առջև ապահովել ԱԾԱ-ների ճշգրիտ ախտորոշման և բուժման հսկողությունը մասնագիտացված

*Поступила 04.05.04*

## Анализ распространенности зубо-челюстных аномалий у детей г. Еревана

О.М. Оганесян

В статье приводятся данные собственных исследований, проведенных у детей 3–17 лет г.Еревана, с целью определения распространенности зубо-челюстных аномалий по отдельным нозологическим формам.

По данным автора, в молочном прикусе аномалии встречались с частотой 34,02%, в смешанном – 62,89%, в постоянном прикусе – 62,89%.

Полученный материал является основанием для серьезного профилактического подхода к данной проблеме.

## The incidence of malocclusion among the children of Yerevan city

H.M. Hovhanisyan

For the study of the incidence of malocclusion among preschool and school- children we have investigated 4158 children (2020 boys and 2138 girls). The examination has shown a high incidence of malocclusion (about 58%).

Among the primary dentition, the prevalence of malocclusion is about 34.02%, among the mixed-dentition it is 62.89% and the permanent dentition – 59.45%. The results obtained point to the necessity of measures for prophylaxis and timely diagnosis of orthodontic treatment of children with malocclusions.

## Գրականություն

1. *Образцов Ю.А.* Распространенность, патогенез зубо-челюстных аномалий и обоснование методов их профилактики и лечения у детей в регионе Европейского Севера СССР. Автореф. дис... докт. мед. наук., СПб., 1991.
2. *Хорошилкина Ф.Я.* Устранение функциональных, морфологических и эстетических нарушений при лечении зубо-челюстно-лицевых аномалий Эджуайс техникой. Учеб. пособ. М., 1995, с.182.
3. *Хорошилкина Ф.Я., Малыгин Ю.М.* Руководство по ортодонтии. М., 1982.
4. *Pagnacco A.; Balestro G., Franchini D., Vandelisti W.* Mondo Ortodontico, 1990; 15: 695.
5. *Emran S., Wisth P.S., Boe O.E.* Dent. Oral Epidemiol, 1990 Oct, 18(5), p. 253.
6. *Takahashi F., Abe A., Isobe Y., Aizawa Y., Hanada N.* Asia Pac. J. Public Health, 1995; 8(2); p. 81.
7. *Pagnacco A., Balestro G., Franchini D., Vandelisti W.* Mondo Ortodontico, 1990; 15: 695.

УДК 616.8-009.614

# Исследование поло-возрастных отличий уровня и структуры смертности населения РА

А.К. Айрапетян, С.А. Хачатрян

*Лаборатория проблем социальной медицины и экологии ЕрГМУ им. Гераци*

*375025 Ереван, ул. Корюна, 2*

*Ключевые слова:* состояние здоровья населения, общая смертность, классы причин смерти, показатели смертности, структура смертности

Состояние здоровья населения достаточно точно отражает тенденции экономического развития и благосостояния страны. Многие проблемы здоровья имеют глубокие социально-экономические корни [1]. Процессы формирования здоровья протекают в условиях сложного и напряженного периода, который переживает население бывших союзных республик, в том числе и Армении, за последнее десятилетие. Неоспоримо также, что за последние годы многие негативные тенденции социально-экономического характера повсеместно в республике достигли крайне высокого уровня, наложив свой отпечаток на качественные показатели здоровья. Общепризнано, что через смертность, как через призму, преломляются существующие социально-экономические условия жизни общества [2]. Показатель смертности, являясь одним из важнейших в числе медико-демографических характеристик, отражает самую точную и емкую информацию о состоянии здоровья населения и является наиболее объективным критерием оценки общественного здоровья и эффективности здравоохранных мероприятий [3].

В Армении впервые проведено исследование общей смерности населения республики, на основе которого с выявлением и освещением медико-социальных и региональных особенностей ее уровня и причинной структуры в динамике последнего десятилетия дана комплексная социально-гигеническая оценка изучемых показателей. В работе определенный интерес представляют детальный анализ и выявление различий в возрастной интенсивности динамики уровня общей и причинной смертности по основным возрастно-половым группам населения (до-, трудоспособного и старше) с выделением трудоспособного контингента как экономически наиболее важной социальной категории общества в связи с вопросами преждевременности и предотвратимости, так как для данной фазы человеческой жизни высокая интенсивность истощения жизнеспособности организма является неестественной [4].

Исследование, основанное на результатах обработки собранного нами фактического статистического материала о смертности населения республики по данным репрезентативной выборки (8.3%) и генеральной совокупности числа умерших по основным исследуемым признакам с детальным анализом и оценкой изменений уровня показателей и структуры причин смертности трудоспособного населения республики в 1990–98гг. и выявлением характерных особенностей среди данного контингента по городу и селу с учетом половых отличий, проведено на основе общепринятых методов исследования демографической и санитарной статистики [5]. В исследуемые годы трудоспособным официально был принят возраст в пределах 16–59 лет для мужчин и 16–54 года – для женщин. Уровни общих показателей приведены из расчета на 1000 жителей, а по причинам смертности – на 100 тыс. жит., рассмотрены нами по классам, как и по отдельным причинам смерти согласно Краткой номенклатуре Госкомстат СССР (1981), основанной на МСКБ, травм и причин смерти IX пересмотра (1975).

Исследование показало, что в динамике лет общий показатель смертности в трудоспособном возрасте населения республики в 1990г., будучи на уровне 2.7, существенно возросший к 1994г. с приростом на 11.1%, в последующие годы устанавливался в основном с отрицательным темпом роста, составив в 1998г. 2.1 по отношению к исходному уровню, был достоверно снижен ($P<0.05$) с убылью на 22.2%.

Сравнительный анализ динамики изменений показателей причин смертности (табл.) установил, что для исследуемого контингента в 1998г. по отношению к 1990г. достоверно снижены показатели от ряда классов ($P<0.05$), а именно: II-Новообразования (Нов.) – в 1.3р., прежде всего от злокачественных новообразований (ЗН) – в 1.3р., при этом от ЗН органов пищеварения (ОП) и дыхания (ОД) – в 1.6р., тогда как от ЗН женских половых органов (ЖПО) уровень показателя остался неизменным ($P>0.05$); от классов причин смерти VII-Болезни системы кровообращения (БСК) и

IX-БОП показатели смертности снижены в 1.2р. При этом, если от ИБС также отмечено существенное снижение в 1.2р., то от болезней, протекающих с гипертонией (ГБ), показатель был установлен без значимых изменений (P>0.05) в сравнении с исходным уровнем. В динамике сравниваемых лет достоверно на низких уровнях были установлены также показатели смертности от класса причин XVII-Несчастные случаи (Н.сл.) – в 1.5р., VIII-БОД и X-Болезни мочеполовой системы (БМПС) – в 1.4р., от классов XVI-Симптомы и неточно обозначенные состояния (СНОС) и XI-Болезни беременности (Б.бер.) уровни показателей снижены соответственно в 2.2р. и в 3.9р.

*Таблица*

*Уровень показателей и структура причин смертности трудоспособного населения республики в 1990–98гг.*

| Назв. кл. и причин смерти | P±m | | Интенсивность изменений | | Удельный вес, % | | Измен.поряд. в структ. | | Изм.рангового места | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 1990г. | 1998г. | t | Т.пр.в% | 1990г. | 1998г. | 1990г. | 1998г. | 1990г. | 1998г. |
| Туберкул. | 3.21±0.40 | 4.51±0.46 | 21.3 | 40.5 | | | | | | |
| I-Инф. б. | 4.07±0.46 | 5.59±0.51 | 3.23 | 37.3 | 1.52 | 2.69 | 9 | 7 | VII-VIII | VI-VII |
| ЗН ОП | 20.07±1.01 | 12.61±0.77 | 5.87 | -37.2 | | | | | | |
| ЗН ОД | 18.95±0.98 | 12.43±0.76 | 5. 26 | -34.4 | | | | | | |
| ЗН ЖПО | 5.35±0.52 | 4.98±0.48 | 0.52 | -6.9 | | | | | | |
| ЗН | 68.92±1.87 | 53.94±1.58 | 6.11 | -21.7 | | | | | | |
| II-Нов. | 70.55±1.89 | 54.17±1.59 | 6.63 | -23.2 | 26.32 | 26.11 | 2 | 2 | II | II |
| Сах.д. | 5.04±0.51 | 6.28±0.54 | 1.68 | 24.6 | | | | | | |
| III-БЭС | 7.69±0.63 | 8.28±0.62 | 0.67 | 7.7 | 2.87 | 3.99 | 6 | 5 | V-VI | V |
| IV-Б.кр. | 0.46±0.15 | 0.47±0.15 | 0.05 | 10.9 | 0.17 | 0.23 | 15 | 14 | X | IX |
| V-Псих.р. | 1.02±0.23 | 2.42±0.34 | 3.40 | 137.2 | 0.38 | 1.17 | 12 | 10 | IX-X | VIII |
| VI-БНС | 3.16±0.40 | 4.28±0.45 | 1.87 | 35.4 | 1.18 | 2.06 | 10 | 9 | VIII | VII |
| ИБС | 54.60±1.67 | 44.26±1.43 | 4.70 | -18.9 | | | | | | |
| ГБ | 10.59±0.73 | 9.35±0.66 | 1.26 | -11.7 | | | | | | |
| VII-БСК | 80.07±2.02 | 65.48±1.75 | 5.46 | -18.2 | 29.87 | 30.89 | 1 | 1 | I | I |
| Ост.пн. | 1.83±0.31 | 2.09±0.31 | 0.59 | 14.2 | | | | | | |
| VIII-БОД | 9.02±0.68 | 6.47±0.55 | 2.93 | -28.3 | 3.36 | 3.12 | 5 | 6 | V | VI |
| IX-БОП | 13.85±0.84 | 11.36±0.73 | 2.24 | -18.0 | 5.17 | 5.47 | 4 | 4 | IV | IV |
| X-БМПС | 6.47±0.57 | 4.65±0.47 | 2.46 | -28.1 | 2.41 | 2.24 | 7 | 8 | VI | VII |
| XI-Б.бер. | 1.63±0.29 | 0.42±0.14 | 3.78 | -74.2 | 0.61 | 0.20 | 11 | 15 | IX | IX |
| XII-Б.кожи | 0.36±0.13 | 0.09±0.07 | 1.80 | -75.0 | 0.13 | 0.05 | 16 | 16 | X | X |
| XIII-БКМС | 0.76±0.20 | 0.61±0.17 | 0.58 | -19.7 | 0.29 | 0.29 | 13 | 13 | X | IX |
| XIV-Вр.ан. | 0.56±0.17 | 0.84±0.20 | 1.08 | 50.0 | 0.21 | 0.40 | 14 | 12 | X | IX |
| XVI-СНОС | 4.64±0.49 | 2.09±0.31 | 4.40 | -55.0 | 1.73 | 1.01 | 8 | 11 | VII | VIII |
| XVII-Н.сл. | 63.77±1.80 | 41.66±1.39 | 9.74 | -34.7 | 23.79 | 20.08 | 3 | 3 | III | III |

Для трудоспособного населения республики в 1998г. по отношению к 1990г. установлен существенный рост показателя смертности (P<0.05) от причин I класса: инфекционные болезни (инф.б.) – в 1.4р., что было отмечено прежде всего за счет достоверного повышения смертности от туберкулеза с интенсивно-

стью темпа прироста уровня на 40.5% и увеличением уд.веса числа умерших от этих причин с 78.7 до 80.8%. Показатель смертности по V классу–психические расстройства (псих.р.), также установленный с положительным темпом (P<0.05), с интенсивностью прироста на 137.2%, превысил изначальный уровень в 2.4р.

Хотя от классов причин смерти III–болезни эндокринной системы (БЭС) и VI–болезни нервной системы (БНС) в динамике сравниваемых лет в уровнях показателей статистически значимых изменений для исследуемого контингента в целом по республике не отмечено (P>0.05), тем не менее, по отношению к исходным уровням они были установлены с приростом на 35.4% и на 7.7%, при этом от сахарного диабета – на 24.6%.

Сравнительный анализ показал, что в 1998г. по отношению к 1990г. в структуре смертности трудоспособного населения республики по уд.весу числа умерших, как и по уровню показателей, на первой четверке ранговых мест продолжают распределяться те же классы, из которых ведущими остаются причины смерти классов VII-БСК на первом ранге; II-нов. – на втором и XVII – Н.сл. – на третьем ранге. На приоритетных четвертом и пятом ранговых местах установлены классы IX-БОП и III-БЭС – соответственно. Уд.вес числа умерших от причин приоритетной пятерки классов в сумме составил 85.54% общей смертности трудоспособного населения республики, тогда как от остальных 11 классов причин смерти – всего 14.46%.

Исследование показало, что в динамике сравниваемых лет в общем числе умершего населения по республике уд.вес трудоспособных, сниженный с 23.9% в 1990г. до 19.2% в 1998г., остается относительно высоким за счет числа умерших трудоспособных мужчин, уд.вес которых, будучи в пределах 73.6–82.1% в разные годы, в среднем составил 77.8%, т.е. на 100 умерших в трудоспособном возрасте женщин в среднем за исследуемый период приходилось 350.0 мужчин того же возраста, а в отдельные годы более того – 460. Сравнительный анализ показал, что в общем числе умерших женщин республики уд.вес трудоспособных, изначально будучи невысоким, а в динамике исследуемых лет с 13.2 сниженный до 10.3%, составил лишь 1/10 всего массива смертности женского населения, из коих по городу составив 11.6%, был несколько выше в сравнении с селом – 7.8%, тогда как уд.вес трудоспособных мужчин несмотря на снижение продолжает оставаться высоким – 27.4% (против 33.0 в 1990г.), определяя свыше 1/4 общего массива умершего мужского населения республики, при котором в селе составил 22.1%, а по городу – 30.0%, определил примерно 1/3 общего массива умерших городских мужчин.

Сравнительный анализ установил, что усредненный за исследуемый период показатель смертности трудоспособных мужчин, составив 4.0±0.06, что достоверно выше в сравнении с таковым для женщин – 1.2±0.03 (P<0.05), держался на значительно высоком уровне во все годы исследовния. При этом уровень смертности трудоспособного мужского населения в сравнении с женским с большим опережением значений показателей по всем основным классам и рассматриваемым причинам в среднем за исследумый период устанавливался с существенным (P<0.05) превышением по классам причин – от II-Нов., за счет ЗН – в 1.7р, из них от ЗН ОП – в 2.6р., тогда как от ЗН ОД – в 10.1р; от VII-БСК – в 5.1р., из них от ИБС – в 9.3р., от ГБ – в 2.9р.; от XVII-Н.сл. – в 7.5р.; от VIII-БОД, IX-БОП и XVI-СНОС – в 4.4–4.6р., от причин острых пневмоний – в 3.2р. По классу причин смерти от V-Псих.р. уровень показателя превысил таковой для женщин в 2.8р., от I-Инф.б. – в 5.4р., из них от причин туберкулеза – в 10.3р.; от X-БМПС и III-БЭС – в 1.9р., в том числе от сахарного диабета – в 2.0р.; от VI-БНС – в 1.5р.

Сравнительный анализ установил, что усредненный показатель смертности трудоспособных городских мужчин – 4.3 по отношению к сельским – 3.5 был достоверно (P<0.05) выше (стандартизованные 2.16>1.76) и держался на высоком уровне во все годы исследования, составив в динамике сравниваемых 1990–98гг. соответственно – 4.1 и 3.8 (стандартизованные 2.75>2.50); 3.3 и 2.5 (стандартизованные 1.65>1.25), при котором значения стандартизованных по возрасту показателей городских трудоспособных мужчин оказались с превышением уровней во всех возрастных группах исследуемого контингента. При этом сравнительный анализ соотношения показателей причин смертности по усредненным значениям за период исследования установил достоверно (P<0.05) более высокий уровень смертности городских мужчин в сравнении с сельскими по классам причин – от II-Нов. и IX-БОП – в 1.3р., от VII-БСК – в 1.4р., при котором от причин ИБС – в 1.6р. Сравнительный анализ по данным за 1998г. обнаружил, что показатели смертности городских трудоспособных мужчин с достоверным (P<0.05) превышением уровней оказались и от причин класса I-Инф.б. – в 1.8р., при этом от туберкулеза – в 1.6р., а от причин в целом по классу III-БЭС и сахарного диабета, имея тенденцию (t=1.96, P>0.05), установлены с превышением в 1.5р. и в 1.6р.

Сравнительный анализ усредненных показателей смертности трудоспособных женщин города – 1.2 и села – 1.1 достоверных отличий не обнаружил, хотя значения стандартизованных по полу показателей для городских оказались несколько выше – 0.60>0.55. При этом показатель смертности городских трудоспособных женщин в динамике сравниваемых лет, определяясь на уровнях 1.4 и 1.1 соответственно, был достоверно (P<0.05) выше в сравнении с сельскими – 1.2 и

0.9, о чем свидетельствовали также значения стандартизованных показателей – 0.70>0.60 и 0.55>0.45 соответственно. При этом значения стандартизованных по возрасту показателей смертности городских трудоспособных женщин оказались выше в возрастных группах – 40–44 и 50–54 года. Анализ соотношения усредненных показателей причин смертности в уровнях сравниваемых показателей в основном достоверных отличий не обнаружил (P>0.05), за исключением причин смерти по классу II-Нов., что обусловлено достоверно (P<0.05) более высоким уровнем смертности от причин ЗН в целом с превышением в 1.3р. По данным за 1998г. уровень смертности городских трудоспособных женщин оказался с достоверным (P<0.05) превышением и от причин по локализациям: ЗН ОП, ОД и ЖПО – соответственно в 1.6р., 2.4р. и в 1.7р., в целом по классу причин от VII-БСК – в 1.4р., от сахарного диабета – в 2.0р.

Сравнительный анализ структуры смертности трудоспособного мужского и женского населения республики, установив сходство в комплектовании первой тройки приоритетных рангов одинаковыми классами причин смерти по городу и селу, выявил различия в степени их приоритетностей среди рассматриваемых контингентов по половому признаку, при котором ведущими классами причин смерти для трудоспособных мужчин в отмеченном порядке являются – VII-БСК (уд.в. 34.99%), XVII-Н.сл. (23.43%), II-Нов. (19.73%), тогда как для женщин с определенным отставанием в уровнях – II-Нов. (43.24%), VII-БСК (21.20%), XVII–Н.сл. (10.22%). Заслуживают внимания также классы причин смерти, представленные на 4- и 5-рангах, при которых для трудоспособных мужчин на них распределяются IX-БОП (5.42%) и III-БЭС (3.54%), VIII-БОД (3.18%), I-Инф.б. (3.15%) соответственно, а для женщин – IX-БОП (5.63%), III-БЭС (5.29%) и X-БМПС (3.81%), VIII-БОД (2.95%), VI-БНС (2.95%) соответственно.

Таким образом, смертность трудоспособного населения остается довольно высокой (за счет мужчин и прежде всего городских) и вносит существенный вклад в установление общего массива числа умершего населения по республике как от всех, так и приоритетных классов причин смерти.

Как видно из вышеизложенного, оздоровление трудоспособного контингента является одной из важнейших и первостепенных задач в комплексе социальных и медико-профилактических мероприятий по охране здоровья населения республики.

*Поступила 15.01.04*

## ՀՀ բնակչության մահացության մակարդակի եւ կառուցվածքի սեռատարիքային տարբերությունների ուսումնասիրությունը

Ա.Կ. Հայրապետյան, Ս.Ա. Խաչատրյան

Անցկացված հետազոտության արդյունքում պարզվել է, որ 1990–98թթ. դինամիկայում ՀՀ աշխատունակ տարիքի բնակչության մահացության կառուցվածքում առաջին չորս կարգերը շարունակ զբաղեցնում են նույն մահվան պատճառները, որոնցից որպես առաջատար հանդես են գալիս հետևյալ դասերը.1-ին կարգում են գտնվում VII արյան շրջանառության համակարգի հիվանդությունները, 2-րդ կարգում II նորագոյացությունները, 3-րդ կարգում XVII դժբախտ պատահարները: Կարևորվում են նաև 4-րդ և 5-րդ կարգերը զբաղեցնող դասերը, որոնք են մարսողական օրգանների (IX) և էնդոկրին համակագի (III) հիվանդությունները: Նշված պատճառներից մահացածների տեսակարար կշիռը կազմում է աշխատունակ տարիքի բնակչության մահացության ընդհանուր թվի 85.54%: Աշխատունակ տարիքի մահացածների տեսակարար կշիռը, կազմելով մահացածների ընդհանուր զանգվածի 19.2%, շարունակ մնում է բարձր ինչպես ընդհանուր առմամբ, այնպես էլ մահվան հիմնական պատճառների շարքում (ի հաշիվ տղամարդկանց և առաջին հերթին քաղաքաբնակ կոնտինգենտի) և որոշակիորեն պայմանավորում է հանրապետության բնակչության մահացության ընդհանուր մակարդակն ու պատճառական կառուցվածքը:

Աշխատունակ տարիքի կոնտինգենտի առողջացումը պետք է դիտվի որպես կարևորագույն և առաջնահերթ խնդիր բնակչության առողջության պահպանման ուղղությամբ տարվող սոցիալական և բուժ-կանխարգելիչ միջոցառումների անցկացման ժամանակ:

## Study of age-sex differences in mortality level and structure of the RA population

A.K. Hayrapetyan, S.A. Khachatryan

An analysis was carried out and differences were revealed in the dynamics of the level of general and casual mortality in basic age-sex groups of the population of Armenia.

The comparative analysis has shown that in 1998-1990 period in the structure of mortality of the capable population of the republic, according to specific gravity of the dead population, as well as by the level of indicators, on the first four rank places the same classes continue to be distributed, from which the leading causes of death classes are the VII–diseases of blood circulation system are on the first rank, II–neoformations are on the second, and XVII–accidents, poisoning and injuries are on the third rank. On the fourth and fifth priority ranks are IX-diseases of digestive organs and III–diseases of endocrine system accordingly. Specific gravity of deaths due to priority five classes made up 85.54% of general mortality rate of capable population of the republic, whereas death causes from the rest 11 classes are only 14.46%.

Thus, recovery of the capable contingent is one of the most essential and paramount tasks in the complex of social and medical-preventive activities for health support of the population of the Republic of Armenia.

### Литература

1. *Покровский В.И., Щепин О.П.* Проблемы социальной гигиены и история медицины. М., 1995, 4, с. 8.
2. *Войцехович Б.А., Слаута Т.Ф., Пильщикова В.В.* Советское здравоохранение. М., 1990, 11, с. 23.
3. *Галкин Р.А., Щепин В.О., Суслин С.А.* Бюлл. НИИ социальной гигиены, экономики и управления здравоохранением им.Н.А.Семашко. М., 2000, 2, с. 24.
4. *Тищук Е.А.* Проблемы социальной гигиены и история медицины. М., 1994, 6, с. 20.
5. *Миняев В.А., Вишняков Н.И., Юрьев В.К., Лучкевич В.С.* Социальная медицина и организация здравоохранения. СПб, т. 1, 219.

**Информация**

УДК 617-002+57

# Биохирургия как метод лечения гнойно-некротических ран

Г.А. Агаян, А.С.Зограбян

*375075 Ереван, ул. Мурадяна 115*

Исторически личинки как средство лечения ран были известны в течение столетий. Врачи, участвовавшие в военных баталиях, отмечали, что солдаты, чьи раны были инвазированы личинками, выздоравливали быстрее и смертность среди них была значительно ниже. Уильям Баер (Университет "Johns Hopkins" Балтимор, штат Мэриленд, США) был первым врачом, который внедрил личиночную терапию. Результаты его исследований были изданы посмертно его коллегами в 1932 г.

Личиночная очистительная терапия успешно применялась до середины 1940-х гг., когда открытие антибиотиков и внедрение новых хирургических методов вытеснили ее из медицинской практики. Личиночную терапию заново, но редко стали применять в период с 1970 по 1980-й г. в случаях, когда антибиотики, хирургические методы и другие средства современной медицины были бессильны. В 1989 г. врачи Медицинского Центра по делам ветеранов в Лонг-Бич и в Университете Ирвина в Калифорнии приняли решение применять терапию личинками в случаях угрозы ампутации конечностей, считая ее достаточно эффективной, несмотря на возможность применения современных антибиотиков и хирургического лечения. В настоящее время в мировой клинической практике используются личинки зеленой мясной мухи ***Phaenicia*** и ***Lucilia sericata***, так как эта разновидность успешно использовалась в личиночной терапии в течение многих десятилетий .

Клинические работы начались в 1989 г. в Медицинском Центре по делам ветеранов в Калифорнийском Университете. Полученные результаты продемонстрировали, что личиночная терапия инфицированных и омертвевших ран более эффективна, чем многие другие предлагаемые современной медициной методы лечения. С 1995 г. число практикующих врачей, использующих личиночную терапию, возросло (более 1000 специалистов во всем мире). Имена этих специалистов и все персональные данные внесены в список и размещены на веб-странице в интернете. Личиночная терапия не требует специализации и специального оборудования, проста и значительно дешевле обычных хирургических методов.

Сегодня личиночная терапия успешно заняла свое место в новом направлении медицины, которое известно под названием "биохирургия". С 1996 г. сформировалась и ежегодно проводит свои конференции Международная Ассоциация по биотерапии, одним из разделов которой является биохирургия .

Личиночная терапия в хирургии имеет три основных преимущества:

- эффективно очищает раны (debride), утилизируя мертвые (necrotic) инфицированные ткани, особенно в случаях, когда средства современной медицины бессильны;
- является эффективным средством борьбы с местной раневой инфекцией (разрушение бактерий);
- стимулирует рост грануляционной ткани.

Мы считаем, что это направление медицины является весьма перспективным и заслуживающим внимания и разработки мероприятий для внедрения и развития этого метода в Армении.

*Поступила 15.12.04*

## Литература

1. *Vistnes L M., Lee R., Ksander G.A.* Surgery, 1981; 90: 825.
2. *Casu R.E., Pearson R.D., Jarmey J.M., Cadogan, L.C., Riding G.A., Tellman R.L.* Insect. Molecular Biology, 1994; 39 (4): 201.
3. *Freidman E., Shaharabany M., Ravin S., Golomb E., Gollop N., Ioffer-Uspensky I. et al.* Partially puriffied antibacterial agent from maggots displays a wide range of antibacterial activity. Presented at the Int. Conf .on Biotherapy, 3rd, Jerusalem, Israel, 1998.
4. *Thomas S., Andrews A.M., Hay N.P., Bourgoise S.* Journal of Tissue Viability, 1999; 9(4): 127.
5. *Thomas S., Jones M.* Maggots and the battle against MRSA. Bridgend: STML, 2000.
6. *Thomas S., Jones M.* Practice Nurse, 2000; 20(2): 101.
7. *Thomas S., Wynn K., Fowler T., Jones M.* British Journal of Nursing (suppl.), 2002; 11(11): S21.

# Содержание


## Обзорные статьи

*Кцоян Л.А., Гамбаров С.С., Арутюнян С.С., Акопян А.В., Габриелян А.Р., Захарян А.С.*
Методы исследования в иммунологии в последние два десятилетия ..... 3

*Верткин А.Л., Бурмистров В.А., Бадалян Р.Р.*
Эректильная дисфункция у больных артериальной гипертензией ..... 11

## Теоретическая медицина

*Ерицян Н. Б.*
Роль изменений кожи стопы в развитии дефицита инструментального обучения при повторной экспериментальной гипокинезии ..... 16

*Абраамян А.Г., Оганесян А.С., Паносян А.Г., Габриэлян Э.С.*
Исследование биодоступности салидрозида и розавина – активных компонентов экстракта Rhodiola rosea-SHR -5 у крыс ..... 24

*Симонян Л.А., Симонян Г.М., Симонян А.А., Симонян М.А.*
Повреждающее воздействие эпилептогена коразола на металлопротеины крови in vitro ..... 30

*Азнаурян А.В., Бахшинян М.З., Артищева М.Ю., Мкртчян Г.Л, Воскерчян В.В.*
Гистологические и ультраструктурные изменения лимфатических узлов и селезенки при синдроме длительного раздавливания в эксперименте ..... 34

## Клиническая медицина

*Каралян З.А., Гаспарян Н.К., Давидян С.Р., Гаспарян М.Г*
Адаптация вируса кори, штамма Edmonston B, к клеткам CaCo-2 ..... 38

*Хачатрян Л.Г.*
Современные подходы к иммунотерапии заболеваний, вызванных онкогенными типами вируса папилломы человека ..... 41

*Мкртчян А.Г.*
Определение прогностических тканевых маркеров при раке молочной железы ..... 45

*Давтян Т.К., Аветисян С.А., Погосян Д.А.*
Сравнительное исследование чувствительности методов проточной цитофлюорометрии и иммуномагнитной сепарации лимфоцитов в клинической иммунологии ..... 50

*Аветисян С.А.*
Фармакологическая модуляция спонтанного и индуцированного дыхательного взрыва гранулоцитов и моноцитов при семейной средиземноморской лихорадке ..... 57

*Барсегян А.А., Франгулян А.Л., Арутюнян А.М., Варжапетян А.М., Шмавонян М.Г., Манукян Г.В.*
Диагностика и лечение абсцессов брюшной полости методом чрескожного дренирования под контролем компьютерной томографии ..... 63

*Ягджян Г.В., Даниелян А.М., Шамахян О.В., Саркисян Д.А., Чалтыкян Г.В., Мурадян А.А., Калентерян Г.З.*
Некротизирующий фасцит. (к вопросу диагностики и лечения) ..... 68

*Думанян Д.Г., Авакян А.Х., Нерсесян С.А.*
Скрининговое исследование тиреоидного статуса у населения Республики Армения в условиях относительного йодного дефицита ..... 74

*Мамиконян Л.А.*
Метаболические и гормонально-иммунологические особенности у больных гипотиреозом в экологически неблагоприятных регионах ..... 77

*Казарян А.А., Мхоян Г.Г., Казарян А.С.*
Изменения длительности интервала QT ЭКГ во время индукции в анестезию ..... 81

*Дилбарян Р.К.*
Комбинированное влияние лозартана и эналаприла на функции левого желудочка при артериальной гипертензии ..... 84

*Вардазарян В.М.*
Сравнительный анализ современных тенденций изменения антропометрических показателей у студентов армян ..... 88

*Акопян Л.О.*
Возможность применения кристаллографического исследования слезной жидкости с целью прогнозирования прогрессирования близорукости ..... 92

*Мурадян Л.К.*
Влияние Stress Guard на регуляцию показателей окислительного стресса у больных с пародонтитом ..... 95

*Оганесян О.М.*
Анализ распространенности зубо-челюстных аномалий у детей г. Еревана ..... 99

*Айрапетян А.К., Хачатрян С.А.*
Исследование поло-возрастных отличий уровня и структуры смертности населения РА ..... 102

## Информация

*Агаян Г.А., Зограбян А.С.*
Биохирургия как метод лечения гнойно-некротических ран ..... 107

# Contents


## Reviews

*Ktsoyan L.A., Gambarov S.S.., Haroutyunian S.S.., Hakobyan A.V., Gabrielyan A.R., Zakaryan A.S.*
Methods of research in immunology in the last two decades ..... 3

*Vertkin A.L., Burmistrov V.A., Badalyan R.R.*
Erectile dysfunction in hypertensive patients ..... 11

## Theoretical Medicine

*Yeritsyan N. B.*
Role of hindpaw skin changes in instrumental learning deficit caused by experimental repeated hypokinesia ..... 16

*Abrahamyan H.G., Hovhannisyan A. S., Panossian A.G., Gabrielyan E.S.*
The bioavailability of salidroside and rosavin, active components of *Rhodiola rosea* extract -*SHR-5* in rats ..... 24

*Simonyan L.A., Simonyan G.M., Simonyan A.A., Simonyan M.A.*
The damaging effect of the epileptogen corazole on blood metalloproteins in vitro ..... 30

*Aznauryan A.V., Bakhshinyan M.Z., Artishcheva M.Y., Mkrtchyan G.L., Voskerchyan V.V.*
Histological and ultrastructural changes in lymph nodes and spleen at experimental crush syndrome ..... 34

## Clinical Medicine

*Karalyan Z.A., Gasparyan N.K., Davidyan S.R., Gasparyan M.H.*
Adaptation of vaccine strain of the measles virus Edmonston B to CaCo-2 cells ..... 38

*Khachatryan L.G.*
Modern approaches to the immunotherapy of deseases induced by oncogenic types of human papillomavirus ..... 41

*Mkrtchyan A.G.*
Prognostic tissue markers detection in patients with breast cancer ..... 45

*Davtyan T. K., Avetisyan S.A. , Poghosyan D.A.*
Comparative study of the sensitivity of the methods of flow cytofluorometry and immunomagnetic separation of lymphocytes in clinical immunology ..... 50

*Avetisyan S. A.*
Pharmacological modulation of the spontaneous and induced respiratory burst of granulocytes and monocytes at Familial Mediterranean Fever ..... 57

*Barseghyan H.A., Frangulyan H.L., Harutyunyan A.M., Varzhapetyan A.M., Shmavonyan M.G., Manukyan H.V.*
Diagnostics and treatment of abdominal abscesses by method of percutaneous drainage under computerized tomography control ..... 63

*Yaghjyan G.V., Danielyan A.M., Shamakhyan H.V., Sarkisyan D.A., Chaltikyan G.V., Muradyan A.A., Kalenteryan H.Z.*
Necrotizing fasciitis (on diagnosis and treatment) ..... 68

*Doumanyan D.H., Avagyan H.Kh., Nersesyan S.A.*
Screening investigation of thyroid status in population of the Republic of Armenia under conditions of relative iodine deficiency ..... 74

*Mamikonyan L.A.*
Metabolic and hormonal-immunological peculiarities in patients with hypothyreosis in ecologically unfavourable regions ..... 77

*Ghazaryan A.A., Mkhoyan G.G., Ghazaryan A.S.*
Changes of QT-interval length during anesthesia induction ..... 81

*Dilbaryan R.K.*
The combined effect of losartan and enalapril on the left ventricular function at arterial hypertension ..... 84

*Vardazaryan V. M.*
Comparative analysis of current tendencies in changes of anthropometric indices of Armenian students ..... 88

*Hakobyan L.H.*
Possibilities of crystallographic research of lacrimal fluid for progressive myopia prognosis ..... 92

*Muradyan L.K.*
The influence of "Stress Guard" on the regulation of oxidative stress indeces in periodontal patients ..... 95

*Hovhanisyan H.M.*
The incidence of malocclusion among the children of Yerevan city ..... 99

*Hayrapetyan A.K., Khachatryan S.A.*
Study of age-sex differences in mortality level and structure of the RA population ..... 102

## Information

*Aghayan G.A., Zohrabyan A.S.*
Biosurgery as a method of treatment of infected and necrotic wounds ..... 107