

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК 2012 №2

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК 2012 № 2

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 2004 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

Севрукевич В. И., Рубахов К. О., Островский Ю. П. Системные сдвиги гемодинамики при проведении ревааскуляризации миокарда на работающем сердце	5
Нечипуренко Н. И., Анацкая Л. Н., Пашковская И. Д. Коррекция клинико-метаболических нарушений у пациентов с лакунарным инфарктом мозга при использовании лазерной гемотерапии.....	9
Исайкина Я. И., Шман Т. В., Алейникова О. В. Исследование в эксперименте <i>in vitro</i> иммуномодулирующих свойств мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга	16
Ращинский С. М., Гретьяк С. И. Качество жизни пациентов с хроническим панкреатитом после выполнения операции Фрея и панкреатодуоденальной резекции.....	21
Харкевич О. Н., Семенчук В. Л. Многоплодная беременность: современные подходы к тактике оказания медицинской помощи	28
Митюкова Т. А., Леонова Т. А., Платонова Т. Ю., Окулевич Н. М., Лущик М. Л., Дрозд В. М., Корытько С. С. Частота выявления тиреоидных аутоантител у пациентов, прооперированных по поводу карциномы щитовидной железы	38

Луцкая И. К., Шмелев А. В., Кавецкий В. П. Компьютерное моделирование адгезивных волоконных конструкций в эстетической стоматологии.....	46
Бизунок Н. А. Фармакодинамические взаимодействия N-замещенных производных L-пролина и клеточных модуляторов разного типа действия на модели FcγR-зависимого фагоцитоза.....	53
Гончаров А. Е., Титов Л. П., Кошелев С. В., Путырский Л. А. Иммунный статус и противоопухолевый иммунный ответ у пациенток, страдающих раком молочной железы.....	63
Котович И. Л., Рутковская Ж. А., Таганович А. Д. Продукция активных форм кислорода и азота клетками бронхоальвеолярной жидкости в условиях экспериментальной гипероксии.....	70
Дюбкова Т. П. Репродуктивные установки студентов классического университета (на бел. яз.).....	77

АГЛЯДЫ

Мартинovich Г. Г., Мартинovich И. В., Голубева Е. Н., Черенкевич С. Н., Демидчик Ю. Е., Гаин Ю. М., Владимирская Т. Э., Лущик М. Л. Редокс-биотехнологии как основа для новой стратегии в противоопухолевой терапии.....	85
Жарикова А. В., Пономарев В. В. Возможности применения когнитивного вызванного потенциала P300 в клинической практике.....	105
Турцевич А. М., Статкевич Д. С., Чубуков А. М., Камышников В. С., Шилейко И. Д. Обоснование необходимости клинико-лабораторной диагностики наркотического опьянения, вызванного каннабисом.....	117

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2012 № 2

Серия медицинских наук

на русском, белорусском и английском языках

Компьютерная вёрстка С. Э. Былина

Здадзена ў набор 17.04.2012. Падпісана ў друк 04.05.2012. Выхад у свет 25.05.2012. Фармат 60 × 84¹/₈. Папера афсетная. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 62 экз. Заказ 88.

Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 31 330 руб., ведамасная падпіска – 78 294 руб.

Рэспубліканскае ўнітарнае прадпрыемства «Выдавецкі дом «Беларуская навука». ЛІ № 02330/0494405 ад 27.03.2009. Вул. Ф. Скарыны, 40. 220141, г. Мінск. Пасведчанне аб рэгістрацыі № 393 ад 18.05.2009.

Надрукавана ў РУП «Выдавецкі дом «Беларуская навука».

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES 2012 N 2

FOUNDER IS THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

The Journal has been published since January 2004

Issued four times a year

CONTENTS

CLINICAL AND EXPERIMENTAL MEDICINE

Sevrukevitch V. I., Rubakhov K. O., Ostrovsky U. P. Use of different variants of stabilization systems during coronary revascularization on a beating heart	5
Nechipurenko N. I., Anatskaya L. N., Pashkovskaya I. D. Correction of clinical and metabolic abnormalities in patients with lacunar infarction using laser hemotherapy	9
Isaikina Ya. I., Shman T. V., Aleinikova O. V. Study of immunomodulating properties of mesenchymal stem cells from bone marrow <i>in vitro</i>	16
Rashchynski S. M., Tretyak S. I. Life quality of the patients suffering from chronic pancreatitis after the performance of Frey's procedure and pancreatoduodenectomy	21
Kharkevich O. N., Semenchuk V. L. Plural pregnancy: modern approaches to maintaining tactics and prenatal correction of antenatal pathology	28
Mityukova T. A., Leonova T. A., Platonova T. Yu., Okulevich N. M., Lushchik M. L., Drozd V. M., Korytko S. S. Frequency of detecting thyroid autoantibodies in patients operated for thyroid gland carcinoma	38
Lutskaya I. K., Shmelev A. V., Kavetsky V. P. Computer modeling of adhesive fiber structures in aesthetic stomatology	46
Bizunok N. A. Pharmacodynamic interactions of N-substituted L-proline derivatives and different-action cell modulators upon FcγR-dependent phagocytosis models	53
Hancharou A. Y., Titov L. P., Koshaleu S. V., Putyrski L. A. Immune status and antitumoral immune response in patients with breast cancer	63

Kotovich I. L., Rutkovskaya Zh. A., Taganovich A. D. Production of reactive oxygen and nitrogen species by bronchoalveolar cells under experimental hyperoxia	70
Dyubkova T. P. Reproductive orientation of classic university students	77

SURVEYS

Martinovich G. G., Martinovich I. V., Golubeva E. N., Cherenkevich S. N., Demidchik Y. D., Gain Y. M., Vladimirskaia T. E., Lushchik M. L. Redox biotechnologies as the basis for a new strategy in anticancer therapy.....	85
Zharikova A. V., Ponomarev V. V. Indications for use of cognitive evoke potential P300 in clinical practice	105
Turtsevich A., Statkevich D., Chubukou A., Kamyshnikou V., Shyleika I. Clinical-laboratory diagnostics of narcotic intoxication due to cannabinoids use	117

Национальная академия наук Беларуси

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

УДК 616.12-089

В. И. СЕВРУКЕВИЧ, К. О. РУБАХОВ, Ю. П. ОСТРОВСКИЙ

СИСТЕМНЫЕ СДВИГИ ГЕМОДИНАМИКИ ПРИ ПРОВЕДЕНИИ РЕВАСКУЛЯРИЗАЦИИ МИОКАРДА НА РАБОТАЮЩЕМ СЕРДЦЕ

Республиканский научно-практический центр «Кардиология», Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 03.03.2012)

Введение. В настоящее время операции по реваскуляризации миокарда на работающем сердце прочно входят в кардиохирургическую практику [1–4]. Эта общая тенденция касается большинства кардиохирургических центров как у нас в стране, так и за рубежом [5–7], что объясняется прежде всего впечатляющими результатами, продемонстрированными кардиохирургами этих центров, – улучшением качества оперативных вмешательств, снижением числа осложнений и летальных исходов [8, 9].

В литературе акцентируется внимание на изменении показателей сердечно-сосудистой системы при проведении операций на работающем сердце [10–12]. Вариабельность подобных сдвигов затрудняет поиск закономерностей в реагировании различных отделов системы кровообращения в процессе кардиохирургических вмешательств. Однако с целью предупреждения осложнений как во время, так и после операций на сердце целесообразно проанализировать возможность развития таких закономерностей.

Цель работы – провести анализ сдвигов гемодинамики при выполнении реваскуляризации с применением отечественного и зарубежного стабилизаторов сердца, которые призваны обездвигнуть участок миокарда в месте предполагаемого наложения анастомоза.

Материалы и методы исследования. Изучение системных сдвигов гемодинамики проводили с применением стабилизатора Ostopus фирмы Medtronic (США) (рис. 1), который наиболее часто используется для этих целей, а также с помощью разработанного и изготовленного совместно с научно-медицинской фирмой «Медбиотех» в рамках выполненной темы НИР «Разработать и внедрить современную медицинскую технологию и комплект технических средств для прямой реваскуляризации миокарда на работающем сердце» в РНПЦ «Кардиология» (2001–2003 гг.) оригинального ретрактора со стабилизатором сердца (рис. 2). Первое приспособление относится к вакуумно-компрессионному типу стабилизаторов. Существенным недостатком этого устройства является его одноразовое применение при довольно значительной стоимости (около 700 долларов США). Отличительной особенностью отечественного изделия является возможность его многократного применения, так как оно полностью выполнено из металла.

При статистической обработке вычисляли среднее арифметическое значение (M), ошибку среднего арифметического (m). Статистическую значимость различий средних величин оценивали с помощью t -критерия Стьюдента, достоверными считались результаты при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Оперированные пациенты были разделены на две группы в зависимости от вида использованного комплекта технических средств для проведения операции.

Пациентам первой группы ($n = 70$) операции выполняли с помощью разработанного ретрактора со стабилизатором сердца, пациентам второй группы ($n = 70$) – с применением стабилизатора Ostopus фирмы Medtronic. Сравнительная характеристика пациентов в исследуемых группах представлена в табл. 1.



Рис. 1. Стабилизатор Octopus



Рис. 2. Стабилизатор, разработанный в РНПЦ «Кардиология» (2001–2003 гг.) совместно с научно-медицинской фирмой «Медбиотех»

Как видно из табл. 1, большинство пациентов обеих групп имели в основном II–III функциональный класс (ФК) стенокардии. Подавляющее большинство пациентов во всех группах составляли лица мужского пола, не имевшие различий по возрасту.

Таблица 1. Характеристика пациентов в исследуемых группах

Параметр	Группа I (n = 70)	Группа II (n = 70)
Средний возраст, лет	56,2 ± 1,5	53,2 ± 1,2
Пол, м/ж	66/4	68/2
Стенокардия напряжения:		
ФК II	14 (20%)	12 (17,1%)
ФК III	53 (75,7%)	56 (80%)
ФК IV	3 (4,3%)	2 (2,8%)
Инфаркт в анамнезе	13 (18,6%)	8 (11,4%)

Среди пациентов первой группы инфаркт миокарда перенесли 13 (18,6%) человек, во второй группе – 8 (11,4%). Для более детального изучения предоперационного состояния пациентов проанализирован также характер экстракардиальной патологии, оказывающей непосредственное влияние на течение и прогноз заболевания. Характер сопутствующей патологии в исследованных группах представлен в табл. 2.

Таблица 2. Характер сопутствующей патологии у пациентов исследованных групп

Вид патологии	Группа I (n = 70)	Группа II (n = 70)
Артериальная гипертензия	22 (31,4%)	26 (37,1%)
Сахарный диабет	6 (8,6%)	4 (5,7%)
Хронический бронхит	2 (2,8%)	1 (1,4%)
Хроническая почечная недостаточность	2 (2,8%)	–
Ожирение I–III степени	3 (4,3%)	2 (2,8%)
Постоянная форма мерцательной аритмии	1 (1,4%)	1 (1,4%)
Мультифокальный атеросклероз	1 (1,4%)	2 (2,8%)
Всего	37 (52,8%)	36 (51,4%)

Как показывает анализ табл. 2, наиболее распространенным сопутствующим заболеванием у пациентов указанных групп являлась артериальная гипертензия. Всем пациентам в исследуемых группах проведено коронарографическое исследование. Выявление гемодинамически зна-

чимого поражения коронарных артерий при проведении данного исследования являлось показанием к хирургической реваскуляризации.

Распределение подлежащих реваскуляризации коронарных артерий у пациентов представлено в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. Распределение коронарных артерий, подлежащих реваскуляризации

Коронарная артерия	Группа I (n = 70)	Группа II (n = 70)
Передняя межжелудочковая ветвь	60 (85,7%)	65 (92,8%)
Диагональная ветвь	9 (12,8%)	8 (11,4%)
Правая коронарная артерия	23 (32,8%)	21 (30%)
Задняя межжелудочковая ветвь	8 (11,4%)	7 (10%)
Заднебоковая ветвь	2 (2,8%)	3 (4,2%)
Ветвь острого края	1 (1,4%)	–
Огибающая ветвь	29 (41,4%)	20 (28,5%)
Ветвь тупого края	7 (10%)	18 (27,5%)

Для оценки эффективности изготовленного изделия проведен сравнительный анализ отечественной модели стабилизатора «Медбиотех» и стабилизатора Octopus фирмы Medtronic по ряду гемодинамических характеристик, исследованных в ходе проводимых операций коронарного шунтирования. Сравнивали следующие гемодинамические параметры: среднее артериальное давление (AD_{cp} , мм рт. ст.), частоту сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), смещение сегмента ST (мм) на электрокардиограмме, центральное венозное давление (ЦВД, мм вод. ст.).

Сравнительный анализ динамики этих параметров у пациентов исследуемых групп изучали в зависимости от анатомического расположения шунтируемой зоны (табл. 4–6).

Т а б л и ц а 4. Изменения параметров гемодинамики до и во время реваскуляризации переднебоковой поверхности сердца

Группа	Передняя межжелудочковая ветвь, диагональная ветвь							
	AD_{cp} , мм рт. ст.		ЧСС, уд/мин		Смещение ST, мм		ЦВД, мм вод. ст.	
	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции
I	79,3 ± 3,7	76,2 ± 4,1	75,2 ± 2,1	76,3 ± 1,8	0,12 ± 0,02	0,51 ± 0,06*	82,5 ± 8,3	90,1 ± 6,1
II	80,1 ± 4,2	77,4 ± 3,9	76,4 ± 1,5	78,2 ± 1,6	0,2 ± 0,03	0,68 ± 0,07*	68,3 ± 8,1	72,4 ± 9,3

П р и м е ч а н и е. * – достоверность различий ($P < 0,05$) до и во время наложения анастомоза. То же для табл. 5, 6.

Как видно из табл. 4, при наложении анастомоза на переднебоковую поверхность сердца достоверно значимые изменения у пациентов обеих групп отмечались для параметра «смещение сегмента ST», характеризующего ишемию миокарда. Достоверных различий между другими показателями у пациентов исследуемых групп не выявлено.

Т а б л и ц а 5. Изменения параметров гемодинамики до и во время реваскуляризации заднебоковой поверхности сердца

Группа	Огибающая ветвь, ветвь тупого края							
	AD_{cp} , мм рт. ст.		ЧСС, уд/мин		Смещение ST, мм		ЦВД, мм вод. ст.	
	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции
I	80,3 ± 3,1	60,2 ± 2,1*	74,2 ± 2,4	79,3 ± 1,6	0,15 ± 0,03	0,19 ± 0,05	85,5 ± 7,4	110,1 ± 5,1*
II	79,6 ± 3,2	59,4 ± 3,1*	75,2 ± 1,8	80,1 ± 1,2	0,2 ± 0,03	0,28 ± 0,06	68,3 ± 8,1	130,1 ± 8,2*

При реваскуляризации заднебоковой поверхности сердца происходит достоверное снижение среднего артериального давления при нарастании центрального венозного. Изменения исследуемых параметров наблюдали вне зависимости от вида используемого стабилизатора сердца.

Т а б л и ц а 6. **Изменения параметров гемодинамики до и во время реваскуляризации задней поверхности сердца**

Группа	Задняя межжелудочковая ветвь, заднебоковая ветвь							
	АД _{ср} , мм рт. ст.		ЧСС, уд/мин		Смещение ST, мм		ЦВД, мм вод. ст.	
	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции	До операции	Во время операции
I	76,3 ± 2,4	70,2 ± 1,9	75,4 ± 2,3	70,3 ± 1,3	0,35 ± 0,05	0,45 ± 0,04	83,6 ± 4,4	100,3 ± 7,1*
II	73,8 ± 3,1	69,7 ± 4,2*	71,3 ± 2,8	58,2 ± 5,1	0,12 ± 0,02	0,19 ± 0,07	73,4 ± 6,3	115,1 ± 8,2*

Как видно из табл. 6, при наложении анастомоза на задней поверхности сердца происходит достоверное увеличение центрального венозного давления вне зависимости от типа используемого стабилизатора сердца. При шунтировании этой зоны с использованием стабилизатора Octorus фирмы Medtronic наряду с этим отмечается достоверное снижение АД_{ср}.

Выводы

1. Системные изменения гемодинамики при выполнении реваскуляризации миокарда на работающем сердце определяются областью кардиохирургического вмешательства.
2. Наиболее частые признаки ишемических изменений в миокарде возникают при шунтировании артерий передней поверхности сердца.
3. Реваскуляризация миокарда заднебоковой поверхности сопровождается снижением среднего артериального и увеличением центрального венозного давления.
4. Во время шунтирования артерий задней поверхности сердца наблюдается в основном увеличение центрального венозного давления.
5. Характер гемодинамических нарушений не зависит от вида используемого стабилизатора.

Литература

1. Акчурин П. С., Беляев А. А., Ширяев А. А. и др. // Хирургия. 2001. № 1. С. 12–17.
2. Gerola L. R., Buffolo E., Jasbik W. et al. // Ann. Thorac. Surg. 2004. Vol. 77. P. 569–573.
3. Reichenspurner H., Boehm D., Detter C. et al. // Eur. J. Cardio-thorac. Surg. 1999. Vol. 16. P. S76–S79.
4. Stamou S. C., Jablonski K. A., Pfister A. J. et al. // Ann. Thorac. Surg. 2002. Vol. 74. P. 301–305.
5. Al-Ruzzeh S., Ambler G., Asimakopoulos G. et al. // Circulation. 2003. Vol. 108 (Suppl. II). P. 1–8.
6. Ascione R., Lloyd C. T., Underwood M. J. et al. // Ann. Thorac. Surg. 1999. Vol. 68. P. 2237–2242.
7. Bhan A., Choudhary S. K., Mathur A. et al. // Ann. Thorac. Surg. 2000. Vol. 69. P. 1216–1221.
8. Racz M. J., Hannan E. L., Isom O. W. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. 2004. Vol. 43. P. 557–564.
9. Sharony R., Bizakis C. S., Kanchuger M. et al. // Circulation. 2003. Vol. 108 (Suppl. II). P. 15–20.
10. Koutlas T. C., Elbeery J. R., Williams J. M. et al. // Ann. Thorac. Surg. 2000. Vol. 69. P. 1042–1047.
11. Parolari A., Alamanni F., Cannata A. et al. // Ann. Thorac. Surg. 2003. Vol. 76. P. 37–40.
12. Sabik J. F., Blackstone E. H., Lytle B. W. et al. // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2004. Vol. 127. P. 142–148.

V. I. SEVRUKEVITCH, K. O. RUBAKHOV, U. P. OSTROVSKY

USE OF DIFFERENT VARIANTS OF STABILIZATION SYSTEMS DURING CORONARY REVASCULARIZATION ON A BEATING HEART

Summary

The article presents the results of study of systemic hemodynamic changes during revascularization with the use of a designed and manufactured at the Republican Scientific-Practical Centre "Cardiology" in cooperation with the Scientific-Production Firm "Medbiotex" original reusable retractor with the stabilizer of the heart for bypass surgery on a beating heart to perform coronary artery bypass grafting without cardiopulmonary bypass and compared with the most frequently used in such operations stabilizer "Octorus" (company "Medtronic", USA). It is found that a kind of hemodynamic changes depends on revascularization area, but is independent of the type of the stabilizer used.

УДК 616.831.005.8:616.152.21:615.849.19

Н. И. НЕЧИПУРЕНКО, Л. Н. АНАЦКАЯ, И. Д. ПАШКОВСКАЯ

**КОРРЕКЦИЯ КЛИНИКО-МЕТАБОЛИЧЕСКИХ НАРУШЕНИЙ У ПАЦИЕНТОВ
С ЛАКУНАРНЫМ ИНФАРКТОМ МОЗГА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ
ЛАЗЕРНОЙ ГЕМОТЕРАПИИ**

Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 01.02.2012)

Введение. Патогенез сосудистых ишемических поражений головного мозга однотипен: с одной стороны, наблюдается снижение уровня кислорода в артериальной крови, с другой – отмечается токсическое воздействие недоокисленных продуктов (оксидантный стресс), в результате чего нарастает комплекс патобиохимических расстройств. Это обуславливает развитие первичной и прогрессирование вторичной церебральной ишемии, формирование лакунарных инфарктов [1–4]. Дефицит кислорода приводит к ограничению аэробного образования энергии вследствие снижения энергосинтезирующей функции дыхательной цепи митохондрий с нарушением процесса окислительного фосфорилирования. Одновременно с этим активизируется гликолиз, который является альтернативным окислительному фосфорилированию процессом [5]. Нарушение энергетического метаболизма, сопряженное с активацией свободнорадикальных процессов окисления белков, липидов и нуклеиновых кислот, приводит к изменению трансмембранных ионных потоков и накоплению ионизированного кальция в нейронах, усугубляя патологические процессы в нервной ткани [6, 7].

При острой ишемии головного мозга развивается тканевая гипоксия с недостаточной выработкой АТФ в клетках, нарушается Na^+/K^+ -насосная функция клеточных мембран. Происходит деполяризация клеток с изменением ионного баланса между клеточным и внеклеточным пространством нервной ткани, что ведет к дальнейшему прогрессированию осмотических сдвигов с развитием клеточного, перичеллюлярного и периваскулярного отеков головного мозга [8, 9].

До настоящего времени при изучении патогенеза церебральной ишемии недостаточное внимание уделялось значимости изменений соотношения лактата и пирувата (Л/П), которое тесно связано в цитозоле с уровнем НАДН/НАД⁺, в механизмах регуляции мозгового кровотока и в формировании клинических проявлений. При этом следует отметить, что соотношение Л/П характеризует направленность и степень выраженности гипоксических тканевых изменений [10, 11].

При очаговой церебральной ишемии основную опасность для клеток нервной ткани представляют процессы избыточного образования активных форм кислорода на фоне истощения запасов эндогенных антиоксидантов и активация перекисного окисления липидов (ПОЛ), что приводит к ускоренной гибели клеток мозга. Антиоксидантную систему защиты клеток от свободнорадикального окисления образуют ферменты супероксиддисмутазы (СОД), каталаза, глутатионзависимые пероксидазы. СОД обезвреживает супероксидный радикал в реакции дисмутации с образованием менее токсичного пероксида водорода. Каталаза нейтрализует перекись водорода, разлагая ее до кислорода и воды. Кроме каталазы в обезвреживании перекисей активно участвует система глутатиона и глутатионзависимых ферментов. Восстановленный глутатион (GSH) используется глутатионпероксидазой в качестве субстрата для расщепления пероксида водорода. Церулоплазмин (ЦП) – мультифункциональный белок, который предотвращает ПОЛ и деградацию ДНК, играет роль своего рода внеклеточной СОД. Как и СОД, ЦП катализирует дисмутиро-

вание супероксидных анион-радикалов с образованием перекиси водорода. Об интенсификации процессов ПОЛ в организме позволяет судить содержание продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой (ТБК-П), в крови [12–14].

Хорошо известно, что низкоинтенсивное лазерное излучение (НИЛИ), в частности внутривенное лазерное облучение крови (ВЛОК), влияет на различные уровни регуляции и поддержания гомеостаза в организме, оказывая полимодальное действие [15]. Выраженный терапевтический эффект НИЛИ обусловлен его фотоактивирующим и нормализующим действием на активность важнейших ферментов метаболизма, биосинтез белков, ДНК, РНК, регенерацию тканей, состояние иммунной системы и микрогемодиализацию [16, 17]. Принимая во внимание, что ВЛОК в красной области спектра оказывает антиоксидантное, антигипоксическое и противоотечное действие, представляет интерес оценка эффективности лазерной гемотерапии в составе комплексного лечения у пациентов с лакунарным ишемическим инфарктом.

Цель работы – изучить динамику клинических симптомов и показателей ионно-осмотических, окислительно-восстановительных и свободнорадикальных процессов у пациентов в остром периоде лакунарного инфаркта мозга (ЛИМ) при церебральной микроангиопатии на фоне хронической ишемии мозга (ХИМ) после использования в комплексном лечении лазерной гемотерапии.

Материалы и методы исследования. Изучены клинические особенности и биохимические показатели у 53 госпитализированных в Больницу скорой медицинской помощи г. Минска пациентов с ЛИМ при церебральной микроангиопатии на фоне ХИМ в первые трое суток от начала заболевания и после курса лечения.

У всех пациентов с ЛИМ имелись микроангиопатические факторы риска (ФР): артериальная гипертензия (АГ), гиперлипидемия, сахарный диабет, повышенный уровень креатинина в плазме крови при хронической почечной недостаточности, хронические обструктивные болезни легких (ХОБЛ). У всех пациентов выявлены также косвенные признаки церебральной микроангиопатии в виде ретинальной ангиопатии при исследовании сосудов глазного дна, очаги лейкоареоза в белом веществе полушарий головного мозга, подкорковых ганглиях, перивентрикулярно; единичные и множественные лакуны в подкорковых ганглиях и белом веществе при РКТ или МРТ. Согласно критериям TOAST, ЛИМ определялся как внезапное или постепенное появление неврологического дефицита, сохраняющегося более 24 ч и характеризующегося одним из лакунарных синдромов; при нейровизуализации на РКТ или МРТ в бассейне мелких пенетрирующих артерий диаметром менее 20 мм отсутствовал или имелся очаг инфаркта, локализация которого соответствовала имеющемуся лакунарному синдрому; отсутствовали признаки острой кортикальной ишемии, источники кардио- и атероэмболии [18, 19]. Все пациенты были доставлены в клинику в первые 12 ч от начала заболевания. Для исключения эмболического генеза заболевания, определения характера и выраженности гемодинамических нарушений всем пациентам проведены дуплексное сканирование брахиоцефальных артерий (БЦА) и транскраниальная доплерография (ТКД) с определением линейной скорости кровотока (ЛСК).

Тяжесть клинических проявлений ЛИМ определялась нами по шкале NIHSS в 1-е и 10-е сутки поступления в стационар. Эффективность проведенного курса лечения оценивалась как улучшение, если по шкале NIHSS неврологический дефицит уменьшался на 2 балла; как стабильное, если этот показатель снижался менее чем на 2 балла; как ухудшение, если количество баллов возрастало.

Пациентов включали в исследуемые группы методом случайной выборки. Пациенты с ЛИМ контрольной группы (22 чел., средний возраст $63,5 \pm 11,8$ года; мужчин – 11, женщин – 11) получали базисную терапию, включавшую кардиомагнил (150 мг), сернокислую магнезию и эмоксипин. Пациентам с ЛИМ основной группы (31 чел., средний возраст $63,7 \pm 13,2$ года; мужчин – 15, женщин – 16) в дополнение к базисной терапии проводили ВЛОК полупроводниковым лазером (длина волны – 0,67 мкм, выходная мощность – 2–3 мВ), продолжительность одной процедуры составляла 20 мин, всего на курс – 7–8 процедур.

Содержание ионов натрия и калия в эритроцитах изучали методом пламенной фотометрии, а их уровень в плазме – на ионоселективном анализаторе EasyLite; величину осмолярности рассчитывали по концентрации натрия в плазме [20]. Уровень пирувата определяли модифициро-

ванным методом Умбрайт [21], концентрацию лактата – на анализаторе Biosen, активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) – кинетическим методом с помощью диагностического набора. Активность каталазы в плазме крови исследовали по методу М. А. Королюка [22], СОД – по реакции супероксидзависимого окисления кверцетина [23], количество ГSH – спектрофотометрическим методом [24]. Активность процессов ПОЛ в плазме крови оценивали по содержанию ТБК-П, используя методику, модифицированную В. А. Костюком [25], уровень ЦП определяли методом Ревина [21]. Нормальные биохимические показатели были определены у 24 практически здоровых лиц.

При статистической обработке результатов применяли программу Statistica 6.0. Вычисляли среднее арифметическое и стандартное отклонение ($M \pm SD$). Анализ статистически значимых зависимостей осуществляли с помощью параметрического *t*-критерия Стьюдента для зависимых и независимых групп. Для оценки степени взаимосвязи между различными параметрами проводили корреляционный анализ с вычислением коэффициентов корреляции по Спирмену. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Среди микроангиопатических ФР у 77,4% пациентов основной группы отмечалась АГ II степени, а у 12,9% – АГ III степени, у 12,9% – ХОБЛ, у 22,6% – сахарный диабет. Среди ФР ЛИМ у пациентов с церебральной микроангиопатией необходимо отметить высокую частоту встречаемости сердечной недостаточности (71%), а также гиперлипидемии в остром периоде ЛИМ (61,3%). У 19,4% пациентов основной группы развитию ЛИМ предшествовали стереотипные транзиторные ишемические атаки (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Клинические и лабораторные показатели у пациентов с ЛИМ, получавших ВЛОК (основная группа) и базисную терапию (контрольная группа)

Признак	Основная группа (n = 31)	Контрольная группа (n = 23)
Возраст, лет	63,7 ± 13,2	63,5 ± 11,8
Факторы риска, %:		
гиперлипидемия	61,3 (n = 19)	73,9 (n = 17)
АГ II степени	77,4 (n = 24)	86,9 (n = 20)
АГ III степени	12,9 (n = 4)	17,4 (n = 4)
сахарный диабет	22,6 (n = 7)	17,4 (n = 4)
сердечная недостаточность	71 (n = 22)	69,6 (n = 16)
ишемическая болезнь сердца	67,7 (n = 21)	69,6 (n = 16)
хронические обструктивные болезни легких	12,9 (n = 4)	13,1 (n = 3)
хроническая почечная недостаточность	3,2 (n = 1)	8,7 (n = 2)
Предшествующая транзиторная ишемическая атака, %	19,4 (n = 6)	21,7 (n = 5)
Лабораторные данные (при поступлении):		
глюкоза, ммоль/л	6,4 ± 2,3	5,4 ± 1,6
холестерол, ммоль/л	5,9 ± 1,1	6,2 ± 1,0
триглицериды, ммоль/л	2,0 ± 1,0	2,0 ± 0,9
Показатели ЛСК (см/с) при транскраниальной доплерографии:		
среднемозговая артерия (66,7 ± 10,3)	56,9 ± 14,0*	53,4 ± 13,4
переднемозговая артерия (56,8 ± 7,1)	51,1 ± 10,2	54,3 ± 23,1
заднемозговая артерия (49,5 ± 7,4)	38,2 ± 5,7	41,8 ± 10,4
позвоночная артерия (20,0 ± 7,2)	37,9 ± 12,8	34,1 ± 6,3
основная артерия (40,9 ± 10,5)	42,4 ± 12,8	33,9 ± 8,7*
Балл по шкале NIHSS:		
при поступлении	3,6 ± 1,4	3,8 ± 1,7
при выписке	0,8 ± 0,7*	1,5 ± 1,2*
Средняя продолжительность пребывания в стационаре, койко-день	14,0 ± 2,3	15,6 ± 2,9*
Клиническое течение, %:		
улучшение	87,1 (n = 27)	81 (n = 17)
стабильное	12,8 (n = 3)	19 (n = 4)

П р и м е ч а н и е. * – различия достоверны при $P < 0,01$.

Тяжесть неврологического дефицита по шкале NIHSS в 1-й день поступления в основной группе составила $3,6 \pm 1,4$, а при выписке из стационара – $0,8 \pm 0,7$, что свидетельствует о высо-

кой степени достоверности регресса неврологического дефицита и эффективности проведенного лечения ($P < 0,01$). Тяжесть неврологического дефицита в 1-й день поступления в контрольной группе составила $3,8 \pm 1,7$, а при выписке из стационара – $1,5 \pm 1,2$, что также свидетельствует о статистически достоверном уменьшении степени функциональных нарушений, достигнутом после курса базисной терапии ($P < 0,01$).

Анализ среднего значения койко-дней показал, что у пациентов основной группы по сравнению с лицами контрольной группы отмечалось достоверное уменьшение времени пребывания в стационаре (на 1,6 койко-дня, $P < 0,01$), что позволяет говорить об экономической эффективности комплексного лечения, включающего ВЛОК. Анализ клинического течения заболевания показал, что на момент выписки улучшение достигнуто у 87,1% пациентов основной группы, в контрольной группе – у 81%.

У 69,7% пациентов с ЛИМ в основной группе и у 70,9% больных людей в контрольной группе клинические проявления заболевания развились на фоне недостаточности кровообращения головного мозга (табл. 2). Высокая частота патологической извитости сонных и позвоночных артерий (в 45,1% случаев) у обследуемых основной группы свидетельствует о кризовом течении АГ. Наличие у 38,7% пациентов основной группы и у 39,1% лиц контрольной группы стенозирующего гемодинамически незначимого атеросклероза церебральных артерий с одновременной гипертензивной и атеросклеротической микроангиопатией сосудов сетчатки свидетельствовало об одновременном присутствии двух вариантов микроангиопатии у пациентов с ЛИМ на фоне ХИМ [26].

Т а б л и ц а 2. Гемодинамические нарушения у пациентов с ЛИМ в основной и контрольной группах, %

Ультразвуковая диагностика БЦА	Основная группа (n = 31)	Контрольная группа (n = 23)
Умеренное снижение скорости кровотока по всем артериальным бассейнам	9,7 (n = 3)	17,4 (n = 4)
Умеренное снижение кровотока в каротидном бассейне артерий	29,1 (n = 9)	13 (n = 3)
Умеренное снижение скорости кровотока в бассейне позвоночных артерий с дефицитом по основной	29,1 (n = 9)	39,1 (n = 9)
Патологическая извитость артерий	45,1 (n = 14)	21,7 (n = 5)
Стенозирование экстракраниальных отделов БЦА менее 30%	38,7 (n = 12)	39,1 (n = 9)
Гипоплазия позвоночных артерий	22,6 (n = 7)	17,4 (n = 4)

П р и м е ч а н и е. БЦА – брахиоцефальные артерии.

Анализ показателей мозгового кровотока по данным ТКД показал, что при поступлении у пациентов основной группы ЛИМ развивался на фоне хронической цереброваскулярной недостаточности преимущественно в бассейнах среднемозговой, заднемозговой, позвоночной и основной артерий (табл. 2). При этом у 9,7% пациентов основной группы отмечалось умеренное снижение ЛСК по всем БЦА, у 29,1% – в бассейне сонных артерий, у 29,1% – в бассейне позвоночной артерии с дефицитом по основной артерии.

Показатели ионного состава крови и ее осмолярности у пациентов с ЛИМ представлены в табл. 3. На начало заболевания у пациентов с ЛИМ в контрольной группе установлено статистически значимое повышение содержания натрия в плазме, снижение концентрации калия в эритроцитах и гиперосмолярность крови по сравнению с аналогичными показателями у здоровых лиц; отмечена тенденция к возрастанию уровня эритроцитарного натрия. У пациентов основной группы на момент госпитализации выявлено достоверное увеличение содержания эритроцитарного натрия – на 16% по сравнению с этим показателем у здоровых лиц. Применение курса ВЛОК в составе комплексной терапии у пациентов основной группы приводило к снижению концентрации эритроцитарного натрия по сравнению с его уровнем до лечения ($P_1 < 0,05$). После курса базовой терапии у пациентов контрольной группы по сравнению с данными, полученными до лечения ($P_1 < 0,05$) и у здоровых лиц ($P < 0,05$), увеличился уровень калия в плазме, наметилась тенденция к повышению его содержания в эритроцитах.

Следовательно, у пациентов с ЛИМ на момент госпитализации установлен дисбаланс внутриклеточного содержания калия и натрия, что является косвенным признаком гипоксического

Т а б л и ц а 3. Содержание калия и натрия в плазме крови и эритроцитах пациентов с ЛИМ в исследуемых группах до и после лечения, $M \pm SD$

Показатель		Здоровые лица (n = 24)	Группа больных с ЛИМ	
			основная (n = 28)	контрольная (n = 19)
K ⁺ в плазме, ммоль/л	до лечения	4,0 ± 0,4	3,9 ± 0,5	3,9 ± 0,6
	после лечения		3,9 ± 0,4	4,3 ± 0,7 <i>P</i> < 0,05; <i>P</i> ₁ < 0,05
Na ⁺ в плазме, ммоль/л	до лечения	142,2 ± 4,7	143,2 ± 4,1	145,4 ± 4,1 <i>P</i> < 0,05
	после лечения		143,5 ± 2,4	144,2 ± 2,5
Осмоляр, мОсм/кг воды	до лечения	285 ± 8,7	287,1 ± 7,6	291,3 ± 7,6 <i>P</i> < 0,05
	после лечения		287,7 ± 4,4	289 ± 4,6
Калий в эритроцитах, ммоль/л	до лечения	73,9 ± 12,2	70,9 ± 7,4	66,5 ± 6,6 <i>P</i> < 0,05
	после лечения		72,5 ± 9,4	68,9 ± 6,9
Натрий в эритроцитах, ммоль/л	до лечения	14,5 ± 3,7	16,8 ± 2,8 <i>P</i> < 0,05	16,4 ± 1,5
	после лечения		15,5 ± 1,8 <i>P</i> ₁ < 0,05	15,1 ± 1,7 <i>P</i> ₁ < 0,05

П р и м е ч а н и е. *P* – различия статистически значимы по сравнению с данными здоровых лиц; *P*₁ – достоверность различий до и после лечения.

повреждения различных образований головного мозга с внутриклеточной гипергидратацией. При использовании ВЛОК в составе комплексной терапии и после курса базовой терапии у пациентов нормализовалось содержание эритроцитарного натрия, что при возможной дегидратации глиальных клеток является одним из саногенетических факторов коррекции метаболических нарушений у пациентов с ЛИМ.

Данные о содержании лактата, пирувата и об активности ЛДГ в крови пациентов с ЛИМ до и после лечения приведены в табл. 4. В первые трое суток госпитализации у пациентов обеих групп наблюдали тенденцию к повышению уровней лактата и пирувата, достоверное увеличение соотношения Л/П и активности ЛДГ, что подтверждает развитие метаболического ацидоза у этих пациентов на момент развития ЛИМ, обусловленного неадекватной доставкой и нарушением утилизации кислорода в тканях. После проведения курса ВЛОК содержание лактата, пирувата, их соотношение и активность ЛДГ у пациентов основной группы практически не отличались от данных, полученных у здоровых лиц. В то же время после проведения курса базовой терапии у пациентов контрольной группы изученные показатели не изменялись по сравнению с аналогичными данными до лечения.

Т а б л и ц а 4. Содержание лактата, пирувата и активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в крови пациентов с ЛИМ в исследуемых группах до и после лечения, $M \pm SD$

Показатель	Здоровые лица	Основная группа (n = 28)		Контрольная группа (n = 21)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
Лактат, ммоль/л	1,37 ± 0,19 (n = 14)	1,71 ± 0,17	1,41 ± 0,08	1,74 ± 0,15	1,78 ± 0,13
Пируват, ммоль/л	0,16 ± 0,01 (n = 17)	0,172 ± 0,01	0,16 ± 0,01	0,17 ± 0,01	0,175 ± 0,01
Лактат/пируват	7,33 ± 0,93 (n = 12)	10,5 ± 0,9*	8,67 ± 0,5	11,1 ± 1,1*	10,9 ± 1,2*
ЛДГ, Е/л	258,6 ± 24,9 (n = 16)	314,4 ± 25,9	306,4 ± 28,8	356,7 ± 33,1*	463,9 ± 66,6*

П р и м е ч а н и е. В табл. 4, 5 * – достоверность различий (*P* < 0,05) по сравнению с данными здоровых лиц.

Исследование активности ферментов антиоксидантной системы и уровня ТБК-П в крови у пациентов с ЛИМ показало (табл. 5), что уровень ТБК-П у пациентов обеих групп на момент госпитализации достоверно повышен. После курса ВЛОК он имел тенденцию к снижению, в то

время как в контрольной группе его содержание незначительно увеличилось. Наблюдалось достоверное возрастание концентрации ЦП в обеих группах до и после проводимого лечения. У пациентов в острейшем периоде ЛИМ на фоне ХИМ при церебральной микроангиопатии выявлена тенденция к снижению активности СОД и уровня ГSH, а также отмечено достоверное увеличение каталазной активности. После проведения базовой терапии у пациентов контрольной группы активность антиоксидантных ферментов и содержание ГSH по сравнению с данными до лечения практически не изменились. По окончании комплексного лечения с курсом ВЛОК у больных людей основной группы активность СОД не отличалась от нормы, наблюдался рост каталазной активности при неизменном уровне ГSH.

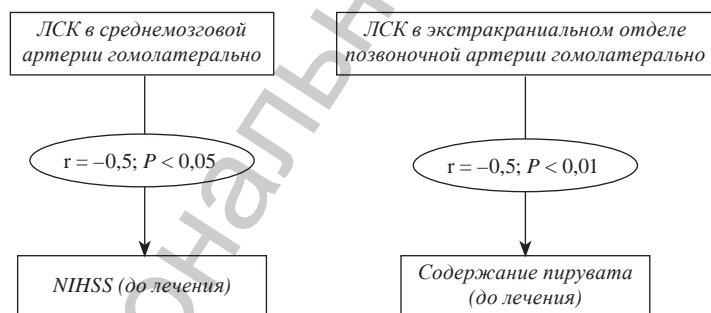
Т а б л и ц а 5. Активность ферментов антиоксидантной системы и содержание ТБК-П в крови пациентов с ЛИМ в исследуемых группах до и после лечения, М ± SD

Показатель	Здоровые лица	Основная группа (n = 27)		Контрольная группа (n = 21)	
		до лечения	после лечения	до лечения	после лечения
ТБК-П, мкмоль/л	2,4 ± 0,3 (n = 14)	4,6 ± 0,2*	4,4 ± 0,2*	3,5 ± 0,2*	3,7 ± 0,3*
ЦП, мг%	26,1 ± 1,5 (n = 14)	34,1 ± 1,4*	34,6 ± 1,2*	32,4 ± 1,0*	31,5 ± 1,3*
СОД, Е/мл	72,6 ± 7,7 (n = 19)	68,6 ± 3,6	72,2 ± 4,2	63,3 ± 3,8	63,6 ± 5,4
Каталаза, усл. ед/ мин · мл	28,8 ± 3,8 (n = 18)	43,7 ± 4,6*	55,5 ± 6,7*	48,4 ± 5,4*	42,2 ± 6,4
ГSH, ммоль/л	5,2 ± 0,3 (n = 18)	4,8 ± 0,2	4,6 ± 0,2	5,1 ± 0,2	4,9 ± 0,2

Пр и м е ч а н и е. ТБК-П – продукты, реагирующие с тиобарбитуровой кислотой; ЦП – церулоплазмин; СОД – супероксиддисмутаза; ГSH – восстановленный глутатион.

Следовательно, у пациентов обеих групп с ЛИМ при церебральной микроангиопатии до лечения наблюдали активацию реакций ПОЛ и дисбаланс антиокислительной системы организма. После проведения базовой терапии не выявлено изменений изученных показателей. Несмотря на нормальную активность СОД, увеличение каталазной активности и существенный рост содержания ЦП в крови после курса лечения у пациентов основной группы, уровень ТБК-П оставался высоким, что свидетельствует о недостаточности антиокислительных ресурсов, способных адекватно обезвредить продукты свободнорадикального окисления.

Корреляционный анализ между балльной оценкой по шкале NIHSS и уровнем метаболитов углеводного обмена с показателями церебральной гемодинамики в острейшем периоде ЛИМ выявил отрицательную связь между тяжестью неврологического дефицита и ЛСК в гомолатеральной среднемозговой артерии ($r = -0,5; P < 0,05$). Установлена также отрицательная корреляционная связь между концентрацией пирувата и ЛСК в экстракраниальном отделе ипсилатеральной позвоночной артерии ($r = -0,5; P < 0,01$). Полученные данные указывают на наличие обратной зависимости уровня церебральной гемодинамики от степени выраженности неврологического дефицита и нарушений энергетического метаболизма в остром периоде ЛИМ и подчеркивают прогностическую значимость вышеуказанных показателей (см. рисунок).



Корреляции между линейной скоростью кровотока по церебральным артериям, баллами по шкале NIHSS и концентрацией пирувата у пациентов с ЛИМ до лечения

Заключение. Таким образом, в острейшем периоде ЛИМ при церебральной микроангиопатии на фоне ХИМ выявлены гиперлактатацидемия, возрастание соотношения Л/П и активности ЛДГ, дисбаланс внутриклеточного содержания калия и натрия, нарушения ПОЛ. Установлена обратная корреляционная связь между ЛСК в гомолатеральной среднемозговой артерии и тяжестью неврологического дефицита, а также между ЛСК в гомолатеральной позвоночной артерии и уров-

нем пирувата в крови до лечения, что подтверждает взаимосвязь тяжести клинических проявлений, окислительно-восстановительных процессов в организме с уровнем мозгового кровотока у пациентов в остром периоде ЛИМ. Применение ВЛОК в комплексном лечении данной группы пациентов способствует коррекции ионно-осмотических и окислительно-восстановительных нарушений. Отсутствие нормализации содержания вторичных продуктов ПОЛ в крови на фоне адаптивных перестроек в системе антиоксидантной защиты указывает на необходимость дополнительного использования антиоксидантных препаратов в остром периоде ЛИМ при церебральной микроангиопатии на фоне ХИМ.

Литература

1. Гусев Е. И., Скворцова В. И. Ишемия головного мозга. М., 2001.
2. Очерки ангионеврологии / Под ред. З. А. Суслиной. М., 2005.
3. Скворцова В. И., Стаховская Л. В., Гудкова В. В. и др. // Болезни сердца и сосудов. 2006. Т. 1, № 3. С. 12–16.
4. Кадыков А. С., Манвелов Л. С., Шахпаронова Н. В. Хронические сосудистые заболевания головного мозга. (Дисциркуляторная энцефалопатия). М., 2006.
5. Лукьянова Л. Д. // Вестн. Рос. АМН. 2000. № 9. С. 3–12.
6. Зозуля Ю. А., Барабай В. А., Сутковой Д. А. Свободнорадикальное окисление и антиоксидантная защита при патологии головного мозга. М., 2000.
7. Дубинина Е. Е., Пустыгина А. В. // Биомед. химия. 2007. Т. 53, вып. 4. С. 351–372.
8. Павлов Р. Е., Яковлева И. И. // Анестезиология и реаниматология. 2007. № 4. С. 81–85.
9. Недзьведь М. К., Нечипуренко Н. И., Пашковская И. Д., Щербина Н. Ю. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2011. № 1. С. 5–9.
10. Власенко А. Г., Минтон М. А. // Неврол. журн. 2007. № 1. С. 38–43.
11. Дементьева И. И. // Клин. лаб. диагностика. 2003. № 3. С. 25–32.
12. Васильева Е. М., Баканов М. И. // Биомед. химия. 2005. Т. 51, вып. 6. С. 581–602.
13. Луцкий М. А., Есауленко И. Е., Тонких Р. В., Анибал А. П. // Инсульт. 2007. № 21. С. 37–42.
14. Скворцова В. И., Нарциссов Я. Р., Бодыхов М. К. и др. // Журн. неврол. и психиатр. 2001. № 1. С. 30–36.
15. Гейниц А. В., Москвин С. В., Азизов Г. А. Внутривенное лазерное облучение крови. М., 2006.
16. Москвин С. В. // Доказательная медицина – основа современного здравоохранения: материалы IV Междунар. конгр. Хабаровск, 2005. С. 181–182.
17. Скупченко В. В., Маховская Т. Т. // Журн. неврол. и психиатр. 1999. № 4. С. 37–42.
18. Phillips S. J., Dai D., Mitnitski A. et al. // Stroke. 2007. Vol. 38. P. 2706–2711.
19. Nrorving B. // Pract. Neurol. 2008. Vol. 8. P. 222–228.
20. Дементьева И. И. Клинические аспекты состояния и регуляции кислотно-основного гомеостаза. М., 2002.
21. Камышиников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. М., 2004.
22. Королюк М. А., Иванова Л. И., Майорова И. Г., Токарев В. Е. // Лаб. дело. 1988. № 1. С. 16–19.
23. Костюк В. А., Потапович А. И., Ковалева Ж. В. // Вопр. мед. химии. 1990. Т. 36, № 2. С. 88–91.
24. Nabeeb F. F. // Meth. in Enzymol. 1972. Vol. 25. P. 457–464.
25. Костюк В. А., Потапович А. И. // Вопр. мед. химии. 1987. № 3. С. 115–118.
26. Виноградов О. И., Кузнецов А. Н. // Неврол. журн. 2009. № 2. С. 29–35.

N. I. NECHIPURENKO, L. N. ANATSKAYA, I. D. PASHKOVSKAYA

CORRECTION OF CLINICAL AND METABOLIC ABNORMALITIES IN PATIENTS WITH LACUNAR INFARCTION USING LASER HEMOTHERAPY

Summary

Dynamic assessment of clinical symptoms, the lactate and pyruvate level, the lactate dehydrogenase activity, lipid peroxidation indicators, the reduced glutathione and ceruloplasmin content, the superoxide dismutase and catalase activity in blood, potassium and sodium plasma and erythrocyte concentration, blood osmolarity in the acute phase of lacunar infarction (LI) in combination with chronic cerebral ischemia resulting from the cerebral small vessel disease (CSVD) and after the course of treatment (10–12 days) of 22 patients of the main group and 31 patients of the control group was made. Patients of the main group in addition to the basic therapy (aspirin and magnesium) received intravenous laser irradiation of blood (ILIB). Hiperlactacidemia, the increase in the lactate/pyruvate ratio and the lactate dehydrogenase activity, an imbalance of intracellular potassium and sodium, lipid peroxidation abnormalities in the blood were revealed in the patients of the both groups at 1–3 days of LI. Correlation relations between the severity of neurological deficit, oxidation-reduction processes, and the cerebral blood flow level in the acute phase of LI resulting from CSVD were established. The application of ILIB led to the correction of the ion-osmotic and oxidation-reduction parameters together with a statistically proven decrease of neurological deficit.

УДК 616.71-018.46-089.843-06-08/084:[616-013.395:616-018.1

Я. И. ИСАЙКИНА, Т. В. ШМАН, О. В. АЛЕЙНИКОВА

**ИССЛЕДОВАНИЕ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ *IN VITRO* ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ
СВОЙСТВ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ИЗ КОСТНОГО МОЗГА**

Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии,
Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 07.03.2012)

Введение. Исследования последних лет показали, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) модулируют иммунный ответ *in vitro* и *in vivo* путем взаимодействия с широким спектром иммунных клеток, включая Т-лимфоциты, В-лимфоциты, естественные киллерные (ЕК) клетки и дендритные клетки [1]. Работы ряда авторов свидетельствуют о способности МСК супрессировать пролиферацию лимфоцитов, активированную либо аллогенными антигенами в смешанной культуре с моноклеарными клетками (МНК) [1–4], либо митогенами ряда фитогемоглютенинов [1, 5, 6]. Этот эффект возрастает в зависимости от концентрации МСК и времени их воздействия. Так, более раннее введение МСК в культуру усиливает иммуносупрессивные свойства этих клеток [1, 3, 5, 7, 8]. МСК действуют как ингибиторы пролиферации Т-лимфоцитов, в частности таких субпопуляций, как CD4+ хелперов и CD8+ цитотоксических лимфоцитов (ЦТЛ), блокируя G0–G1 фазы клеточного цикла, а также супрессируют их функциональную активность, а именно опосредованный ЦТЛ лизис [2, 9]. В то же время МСК являются индукторами пролиферации и активации Т-регуляторных лимфоцитов (T-reg).

Изучение механизмов, лежащих в основе иммуномодулирующих свойств МСК, показало, что это может быть как межклеточное взаимодействие их с клеткой-мишенью, так и паракринный эффект МСК. В ряде работ доказывалась необходимость межклеточного контакта, так как супернатант, выделенный из культуры МСК, не оказывал ингибирующего действия на пролиферацию Т-лимфоцитов, тогда как при культивировании последних совместно с МСК такой эффект наблюдался [3, 6, 7, 10]. Взаимодействуя с клеткой-мишенью, МСК могут приводить к анергии Т-лимфоцитов через контакт Т-клеточного рецептора и главного комплекса гистосовместимости при отсутствии костимулирующих молекул В7–1, В7–2 и CD40 на МСК [2, 11]. С другой стороны, в некоторых экспериментах с использованием полупроницаемой мембраны, препятствующей межклеточному контакту, продемонстрирован иммунный супрессивный эффект МСК, связанный с секрецией клетками растворимых факторов [4, 8].

Большинство исследовательских групп пришли к заключению, что основными медиаторами, продуцируемыми МСК, являются индоламин 2,3-диоксигеназа (IDO), простагландин E₂ (PGE₂) и HLA-G5. IDO катализирует превращение триптофана в его метаболит кинуренин, накопление которого, в свою очередь, ингибирует функциональную активность Т-лимфоцитов [12, 13]. Синтезируемый МСК PGE₂, секреция которого в этих клетках возрастает под воздействием TNF α и IFN γ , известен также как ингибитор Т-клеточной пролиферации. Кроме того, PGE₂ блокирует дифференцировку моноцитов в дендритные клетки [14, 15]. В последних исследованиях доказано, что значительным супрессором Т-клеточной пролиферации, так же как и цитотоксической активности ЦТЛ и ЕК клеток, является продукция МСК молекул HLA-G5, которые, с другой стороны, стимулируют генерацию Т-reg, т. е. способствуют развитию толерантности [16, 17].

Предполагается, что иммуномодулирующий эффект МСК проявляется на двух уровнях. Первый характеризуется локальной секрецией факторов, которые супрессируют пролиферацию

ЦТЛ, находящихся в близости от МСК, второй – индукцией системного ответа, что выражается в изменении соотношения Th1/Th2 в сторону противовоспалительного Th2 профиля, или генерацией T-reg лимфоцитов [18]. Это сопровождается снижением секреции IFN γ , TNF α , IL-2 и более активной продукцией IL-4 [19, 20]. Иммуносупрессивные свойства МСК напрямую связаны с концентрацией в организме провоспалительных цитокинов – IFN γ , TNF α , IL-1 α и IL-1 β [21, 22].

МСК супрессируют не только пролиферацию и цитотоксическую активность Т-лимфоцитов, но и пролиферацию активированных В-лимфоцитов и их дифференцировку в плазматические клетки, причем чувствительность В-лимфоцитов к ингибирующему воздействию МСК возрастает в присутствии IFN γ [23, 24]. Тем не менее, отмечается, что, супрессируя пролиферацию Т- и В-лимфоцитов, МСК поддерживают жизнеспособность этих клеток.

Способность МСК, выделенных из костного мозга и выращенных в культуре, модулировать *in vitro* иммунную систему предполагает использование этих клеток для лечения различных заболеваний, связанных с тяжелым нарушением иммунитета (аутоиммунные заболевания, реакция «трансплантат против хозяина» (РТПХ) и др.). В настоящее время проведен ряд крупномасштабных исследований по применению иммуносупрессивных свойств МСК в целях профилактики и лечения РТПХ. Все они свидетельствуют о хорошем потенциале действия МСК при тяжелых формах РТПХ различной локализации [25, 26].

Цель работы – исследование иммунных взаимодействий между Т-лимфоцитами и экспансированными МСК в смешанной культуре.

Материалы и методы исследования. *Получение МСК для исследований in vitro.* МНК выделяли из проб костного мозга здоровых доноров на Гистопаке плотностью 1,077 (Sigma, США), дважды отмывали в растворе Хенкса, ресуспендировали в среде IMDM с 10% эмбриональной телячьей сыворотки (ЭТС) (Sigma, США) и переносили в концентрации $1 \cdot 10^6$ /мл во флакон для культивирования (Sarstedt, Германия). Клетки инкубировали при 37 °С и 5% CO $_2$. Через 48 ч проводили смену среды. При 80–90%-ном покрытии поверхности флакона прикрепленными клетками их дезадгезировали 0,25%-ным трипсин-ЭДТА (Sigma, США) с последующей инактивацией трипсина 50%-ной ЭТС в IMDM и подсчитывали под микроскопом. Таким образом получали основную (или первичную) культуру МСК. При последующем субкультивировании клетки в количестве $0,2 \cdot 10^6$ пересаживали в новые флаконы (1 пассаж). Проводили до трех пассажей. Клетки идентифицировали на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson, США) по наличию поверхностных маркеров, экспрессирующихся на МСК, – CD105, CD90, CD73 и отсутствию маркеров гемопоэтических клеток – CD34, CD45, CD14.

Смешанная культура клеток. МНК были выделены из 17 проб гепаринизированной периферической крови и в количестве $0,5 \cdot 10^6$ клеток на лунку помещены в 24-луночный планшет (Sarstedt, Германия) совместно с МСК в соотношении 1:1 и без МСК в среде RPMI 1640 с добавлением 5% ЭТС, 2 мМ L-глутамин, 50 мкг/мл антибиотика (Sigma, США). Для стимуляции пролиферации лимфоцитов *in vitro* добавляли фитогемагглютинин (ФГА) (Sigma, США) в концентрации 2 мкг/мл. Таким образом, МНК каждой пробы культивировались в четырех вариантах (МНК, МНК + МСК, МНК + ФГА, МНК + МСК + ФГА) при различных условиях. Исследование субпопуляционного состава клеток проводили перед культивированием (0-е сутки), на 3-и и 7-е сутки культивирования. В каждой лунке подсчитывали абсолютное и относительное количество клеток, оценивали их жизнеспособность и иммунофенотип.

Иммунофенотипический анализ. Для анализа субпопуляционного состава клетки окрашивали моноклональными антителами (МКА), конъюгированными с FITC и PE, ECD, PE-Cy5 и PE-Cy7 в следующих комбинациях: CD45/CD56/CD19CD3/HLA-DR; CD4/CD69/CD8/CD3; CD4/CD127/CD25. Активированные лимфоидные клетки учитывали по экспрессии CD69 и DR в каждой клеточной популяции. Иммунофенотипический анализ МСК проводили с использованием МКА – CD105, CD90, CD73, CD34, CD14, CD45, меченных PE и FITC (Beckman Coulter, США). Образцы инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин, затем отмывали в фосфатно-солевом буфере и добавляли 300–500 мкл 1%-ного раствора параформальдегида. Учет и анализ результатов проводили на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson, США). Анализировали не менее 10 000 клеток.

Статистические методы обработки данных. При исследовании влияния МСК на различные субпопуляции лимфоцитов достоверность различий устанавливали с помощью парного теста Стьюдента. Статистически значимым считалось различие при $P < 0,05$. При расчетах использовали программы Excel и STATISTICA для Windows 6.0.

Результаты и их обсуждение. Результаты эксперимента, проведенного на 17 образцах смешанной культуры МНК и МСК, показали изменение абсолютного содержания различных субпопуляций Т-лимфоцитов на 0-е, 3-и и 7-е сутки в вариантах культивирования с МСК и без МСК (рис. 1).

Выявлено, что при отсутствии стимуляции пролиферации лимфоцитов ФГА относительное и абсолютное содержание Т-лимфоцитов (CD3+) и субпопуляций CD3+CD4+, CD3+CD8+ не изменилось при культивировании МНК совместно с МСК. Результаты вариантов, где в качестве индуктора пролиферации Т-лимфоцитов выступал ФГА, свидетельствуют, что абсолютное число всех CD3+ лимфоцитов достоверно снижалось при культивировании клеток в присутствии МСК, особенно на 7-е сутки ($P < 0,05$). Иммуносупрессивный эффект МСК выражался также в значительной редукции абсолютного числа активно пролиферирующих под воздействием ФГА CD3+CD4+ и CD3+CD8+ субпопуляций Т-лимфоцитов на 7-е сутки в смешанной культуре с МСК по сравнению с контролем ($P < 0,05$). Эти данные подтверждают зависимость иммуносупрессивного эффекта МСК от времени воздействия их на лимфоидные клетки.

В то же время присутствие МСК не приводило к перераспределению основных субпопуляций Т-лимфоцитов в культуре и к изменению относительного содержания CD3+ и CD3+CD8+, CD3+CD4+ лимфоцитов при культивировании МНК даже при стимулировании их пролиферации ФГА.

Эти данные согласуются с результатами, полученными другими авторами, установившими, что индуцированная митогенами и аллоантигенами пролиферация CD3+, CD3+CD4+ и CD3+CD8+ Т-лимфоцитов значительно ингибируется в присутствии МСК [5, 6, 27]. Иммуносупрессивный эффект наблюдался при применении как аллогенных, так и аутологичных МСК [1, 2, 8, 27]. Возможно, одной из причин этого является экспрессия на поверхности МСК мембранного белка PD1 (programmed death 1), супрессирующего пролиферацию Т-лимфоцитов при межклеточном контакте МСК/Т-клетка [11]. Таким образом, можно сделать заключение, что МСК блокирует именно сам процесс деления Т-лимфоцитов.

Так как в настоящее время для улучшения результатов проведения аллогенных трансплантаций применяются технологии клеточной терапии с использованием как МСК, так и ЕК клеток, было изучено влияние этих двух типов клеток друг на друга при совместном культивировании. Показано, что ЕК могут разрушать МСК, в то время как последние сильно редуцируют пролиферацию ИЛ-2-активированных ЕК, подавляя их функциональную активность. В присутствии МСК наблюдалось также резкое снижение поверхностных рецепторов активации ЕК (NKp30, NKp44, and NKG2D) [28, 29]. В ряде работ установлен супрессирующий эффект МСК на цитотоксическое звено иммунитета, носящий дозозависимый характер, и выявлена способность МСК ингибировать активированные цитотоксические клетки при совместном культивировании [27, 29–31].

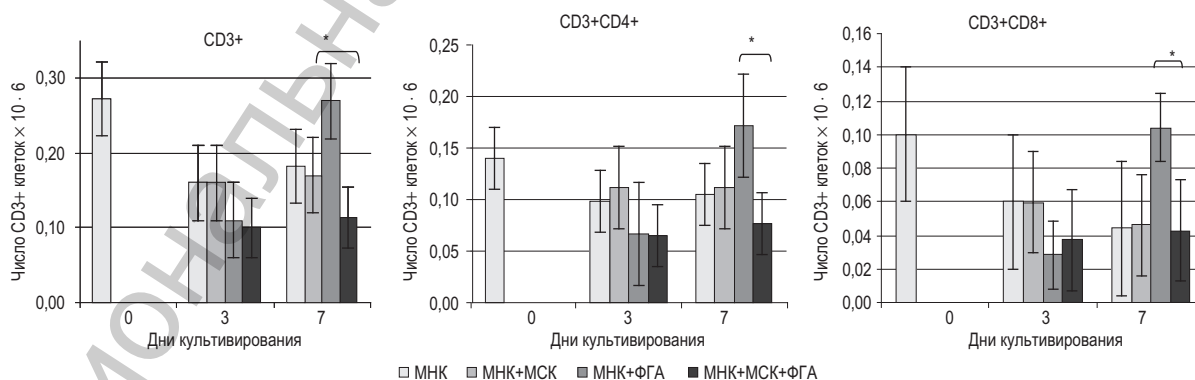


Рис. 1. Влияние МСК на содержание клеток в субпопуляциях Т-лимфоцитов при различных условиях культивирования ($n = 17$). * – $P < 0,05$

При исследовании иммуномодулирующих свойств МСК в смешанной культуре (МНК и МСК) нами также проанализировано воздействие МСК как на ЕК клетки, так и на активированные Т-лимфоциты, экспрессирующие CD3/HLA-DR. Полученные результаты при культивировании МНК совместно с МСК не выявили тенденцию к редукции числа ЕК клеток под воздействием МСК при условии активации ЕК (данные не представлены). В то же время наблюдался ингибирующий эффект МСК на субпопуляцию активированных Т-лимфоцитов CD3+HLA-DR+, содержание которых (как относительное, так и абсолютное) при воздействии МСК достоверно снижалось на 3-и сутки и еще значительно – на 7-е сутки совместного культивирования ($P < 0,05$) (рис. 2).

Регуляторные Т-лимфоциты играют критическую роль в супрессии иммунного ответа. Это свойство субпопуляции CD4+CD25+ клеток, составляющих 5–10% от CD4+ лимфоцитов, было описано S. Sakaguchi и соавт. [32, 33]. CD4+CD25+ Т-лимфоциты секретируют TGFβ₁, который является мощным супрессором пролиферации Th1, Th2 и ЦТЛ. Показано, что МСК увеличивает популяцию CD4+CD25^{bright} клеток при совместном культивировании [27]. S. Aggarwal и M. F. Pittenger [19] продемонстрировали увеличение числа регуляторных CD4+CD25+ лимфоцитов в культуре МНК совместно с МСК при стимуляции пролиферации CD4+CD25+ с помощью ИЛ-2.

Результаты наших исследований выявили достоверное численное увеличение CD4+CD25+ при наличии в культуре МСК даже в отсутствие стимулятора пролиферации этой субпопуляции лимфоцитов ($P < 0,05$) (рис. 3).

В настоящее время установлено, что Т-reg клетки имеют фенотип CD3+CD4+CD25^{high}FOXP3, где внутриклеточный FOXP3 кодирует фактор транскрипции скурфин и является отличительным маркером, ответственным за активацию функциональных свойств этих клеток. Так как определение FOXP3 представляет известную сложность, для точного установления популяции Т-reg используется феномен значительного снижения на этих клетках поверхностного антигена CD127 или его отсутствие.

В 13 образцах смешанной культуры МСК и МНК нами проведено исследование влияния МСК на относительное содержание субпопуляции Т-reg CD4+CD25+CD127– лимфоцитов. Наблюдалось достоверное увеличение этой субпопуляции клеток на 3-и и 7-е сутки ($P < 0,05$) при культивировании МНК на монослое МСК (рис. 4).

S. Veuth и соавт. [34] показали, что МСК не влияют на изменение количества регуляторных клеток при предварительном удалении CD25+ субпопуляции из популяции CD4+ клеток до стимуляции. Это подтверждает, что МСК оказывает влияние на экспансию CD4+CD25+ Т-лимфоцитов, но не инициирует дифференцировку регуляторных Т-клеток из популяции наивных лимфоцитов.

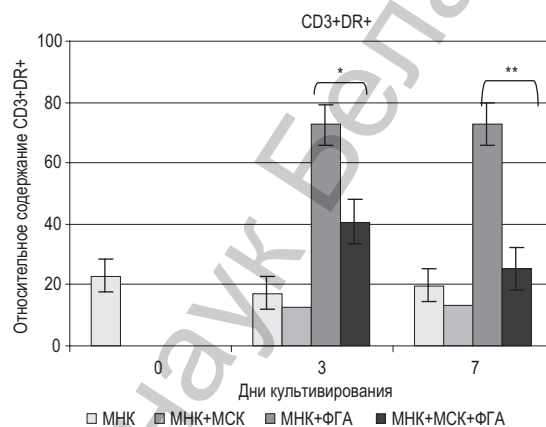


Рис. 2. Влияние МСК на содержание активированных CD3+DR+ Т-лимфоцитов при различных условиях культивирования ($n = 17$). * – $P < 0,05$

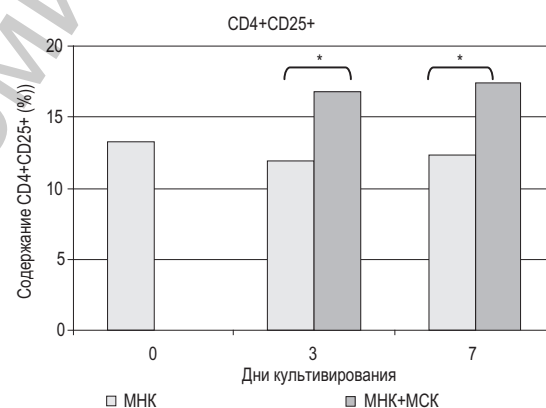


Рис. 3. Влияние МСК на пролиферацию CD4+CD25+ Т-лимфоцитов ($n = 17$). * – $P < 0,05$

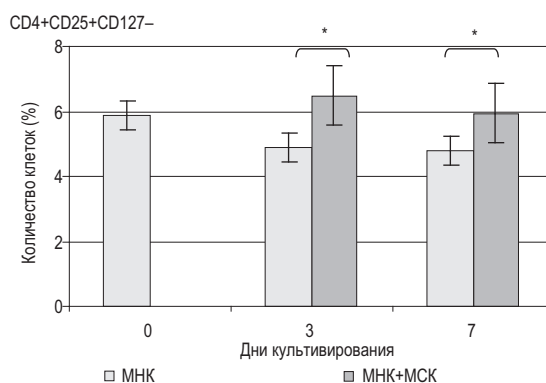


Рис. 4. Влияние МСК на пролиферацию CD3+CD4+CD25+CD127– Т-reg лимфоцитов ($n = 13$). * – $P < 0,05$

Заклучение. Результаты наших исследований продемонстрировали, что *in vitro* экспансированным МСК костного мозга присущи иммуномодулирующие свойства, которые выражаются в ингибировании пролиферации Т-лимфоцитов, а именно ЦТЛ и Т-хелперов, и в стимулировании роста субпопуляции T-regCD4+CD25+CD127-, являющихся супрессорами аллореактивных Т-лимфоцитов. Применение МСК в клинической практике может иметь большое значение при лечении такого осложнения после аллогенной трансплантации, как РТПХ.

Литература

1. Le Blanc K. et al. // Bone Marrow Transplantation. 2003. Vol. 31. P. S244–S245.
2. Bartholomew A., Sturgeon C., Siatskas M. et al. // Exp. Hematol. 2002. Vol. 30. P. 42–48.
3. Potian J. A., Aviv H., Ponzio N. M. et al. // J. Immunol. 2003. Vol. 171. P. 3426–3434.
4. Tse W. T., Pendleton J. D., Beyer W. M. et al. // Transplantation. 2003. Vol. 75. P. 389–397.
5. Di Nicola M., Carlo-Stella C., Magni M. et al. // Blood. 2002. Vol. 99. P. 3838–3843.
6. Le Blanc K., Rasmusson I., Gotherstrom C. et al. // Scand. J. Immunol. 2004. Vol. 60. P. 307–315.
7. Maitra B., Szekely E., Gjini K. et al. // Bone Marrow Transplantation. 2004. Vol. 33. P. 597–604.
8. Klyushnenkova E., Mosca J. D., Zernetkina V. et al. // J. Biomed. Sci. 2005. Vol. 12. P. 47–57.
9. Sarmadi V. H., Tong C. K., Vidyadaran S. et al. // Med. J. Malaysia. 2010. Vol. 65, N 3. P. 209–214.
10. Djouad F., Plence P., Bony C. et al. // Blood. 2003. Vol. 102. P. 3837–3844.
11. Augello A., Tasso R., Negrini S. M. et al. // Eur. J. Immunol. 2005. Vol. 35. P. 1482–1490.
12. Meisel R. et al. // Blood. 2004. Vol. 103. P. 4619–4621.
13. Maby-El Hajjami H., Ame-Thomas P., Pangault C. et al. // Cancer Res. 2009. Vol. 69. P. 3228–3237.
14. Nemeth K., Leelahavanichkul A., Yuen P. S. et al. // Nat. Med. 2009. Vol. 15. P. 42–49.
15. Spaggiari G. M., Abdelrazik H., Becchetti F., Moretta L. // Blood. 2009. Vol. 113. P. 6576–6583.
16. Selmani Z., Naji A., Zidi I. et al. // Stem Cells. 2008. Vol. 26. P. 212–222.
17. Nasef A., Zhang Y. Z., Mazurier C. et al. // Int. J. Lab. Hematol. 2009. Vol. 31. P. 9–19.
18. Ghannam S., Bouffi C., Djouad F. et al. // Stem Cell Res. Ther. 2010. Vol. 1, N 1. P. 2.
19. Aggarwal S., Pittenger M. F. // Blood. 2005. Vol. 105. P. 1815–1822.
20. Prevosto C., Zancolli M., Canevali P. et al. // Haematologica. 2007. Vol. 92. P. 881–888.
21. Krampera M., Cosmi L., Angeli R. et al. // Stem Cells. 2006. Vol. 24. P. 386–398.
22. Ren G., Zhang L., Zhao X. et al. // Cell Stem Cell. 2008. Vol. 2. P. 141–150.
23. Tabera S., Perez-Simon J. A., Diez-Campelo M. et al. // Haematologica. 2008. Vol. 93. P. 1301–1309.
24. Asari S., Itakura S., Ferreri K. et al. // Exp. Hematol. 2009. Vol. 37. P. 604–615.
25. Le Blanc K., Rasmusson I., Sundberg B. et al. // Lancet. 2004. Vol. 363. P. 1439–1441.
26. Gonzalo-Daganzo R., Regidor C., Martin-Donaire T. et al. // Cytotherapy. 2009. Vol. 11. P. 278–288.
27. Maccario R., Podesta M., Moretta A. et al. // Haematologica. 2005. Vol. 90. P. 516–525.
28. Spaggiari G. M., Capobianco A., Abdelrazik H. et al. // Blood. 2008. Vol. 111. P. 1327–1333.
29. Sotiropoulou P. A., Perez S. A., Gritzapis A. D. et al. // Stem Cells. 2006. Vol. 24. P. 74–85.
30. Rasmusson I., Ringden O., Sundberg B., Le Blanc K. // Transplantation. 2003. Vol. 76. P. 1208–1213.
31. Angoulvant D., Clerc A., Benchalal S. et al. // Biorheology. 2004. Vol. 41. P. 469–476.
32. Sakaguchi S., Sakaguchi N., Asano M. et al. // J. Immunol. 1995. Vol. 155. P. 1151–1164.
33. Jonuleit H., Schmitt E., Stassen M. et al. // J. Exp. Med. 2001. Vol. 193. P. 1285–1294.
34. Beyth S., Borovsky Z., Mevorach D. et al. // Blood. 2005. Vol. 105. P. 2214–2219.

Ya. I. ISAIKINA, T. V. SHMAN, O. V. ALEINIKOVA

STUDY OF IMMUNOMODULATING PROPERTIES OF MESENCHYMAL STEM CELLS FROM BONE MARROW *IN VITRO*

Summary

We investigated the immunomodulating effect of cultured mesenchymal stem cells (MSCs) derived from bone marrow (BM) on different subpopulations of lymphocytes *in vitro*.

BM samples of 17 donors used for mononuclear cells (MNCs) and MSCs preparation. We studied the results of MSCs/T-lymphocytes interaction in the mixed culture with or without a stimulator of PHA proliferation.

The presence of MSCs in the mixed culture without PHA didn't change the number of lymphocytes on the 3th day and on the 7th day of cultivation, whereas the presence of MSCs and PHA decreased simultaneously the number of cells in CD3+, CD3+CD8+ and CD3+CD4+ subpopulations of lymphocytes on the 3th day and on the 7th day in comparison with control (without MSCs) ($P < 0.05$), which confirms the effect of MSCs on the cell division. We also observed the inhibitory effect of MSCs on activated CD3+HLA-DR+ lymphocytes. The amount of cells in this population reduced significantly already on the 3th day cultivation ($P < 0.05$). In the other hand, MSCs promoted the increase of CD4+CD25+ number and T-regCD4+CD25+CD127- lymphocytes in the mixed culture even without PHA adding ($P < 0.05$).

We demonstrated the functional ability of MSCs derived from BM to suppress the alloreactive T cells through the inhibition of CTL, T-helper and activated CD3+HLA-DR+ lymphocytes proliferation and support T-regCD4+CD25+CD127- lymphocytes proliferation. This may be important for the application of MSCs in clinical practice for treatment of such complications after allogeneic transplantation as GVHD.

УДК 616.37-002-036.12-089.87

С. М. РАЦИНСКИЙ^{1,2}, С. И. ТРЕТЬЯК¹

**КАЧЕСТВО ЖИЗНИ ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКИМ
ПАНКРЕАТИТОМ ПОСЛЕ ВЫПОЛНЕНИЯ ОПЕРАЦИЙ ФРЕЯ
И ПАНКРЕАТОДУОДЕНАЛЬНОЙ РЕЗЕКЦИИ**

¹Белорусский государственный медицинский университет, Минск,

²Больница скорой медицинской помощи, Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 22.02.2012)

Введение. Сложность выбора рационального способа лечения пациентов, страдающих хроническим панкреатитом (ХП), определяется многообразием клинической картины заболевания, гетерогенностью этиологических факторов, запускающих механизм его развития, и все еще недостаточно глубоким пониманием процессов фиброгенеза, лежащих в основе возникновения и прогрессирования этого заболевания [1, 2].

Болевой синдром, который имеет место у 90% больных ХП, является основной причиной обращения за медицинской помощью, что требует порой многократных госпитализаций в стационар и приводит к преждевременной потере трудоспособности и инвалидизации пациентов [3–5]. Кроме боли приблизительно у 10% больных ХП имеет место сахарный диабет, а у 20% пациентов выявляется стеаторрея и/или мальабсорбция, что обусловлено наличием прогрессирующей деструкции паренхимы поджелудочной железы (ПЖ) [3]. Эти синдромы вполне успешно корригируются с помощью различных схем медикаментозной терапии. Подобно большинству схем консервативной терапии, хирургическое лечение ХП направлено прежде всего на купирование болевого синдрома и различных осложнений, вызванных фиброзом ткани ПЖ. Как показывают экспериментальные данные и результаты клинических наблюдений, основными причинами боли являются: повышение давления в панкреатических протоках и внутри паренхимы ПЖ, разрушение оболочки интрапанкреатических нейронов клетками, участвующими в реализации реакции воспаления [6–9]. Кроме характерных патоморфологических изменений в железистой ткани ПЖ клиническое проявление ХП может протекать в двух вариантах: в одних случаях без расширения главного панкреатического протока (ГПП в пределах от 2 до 5 мм), в других – с увеличением его диаметра (ГПП более 7 мм) [10, 11]. Оба эти варианта ХП могут сопровождаться увеличением головки ПЖ (более 40 мм) воспалительного характера, а также кальцификацией паренхимы ПЖ и вирсунголитиазом [11, 12].

С учетом характера патологического процесса оперативные вмешательства у пациентов, страдающих ХП, должны быть простыми и безопасными в исполнении, направленными на сохранение эндокринной и экзокринной функций ПЖ и обеспечение длительного купирования боли, что будет способствовать физической, социальной и профессиональной реабилитации этой категории больных людей. Для лечения ХП применяют две основные группы хирургических операций: дренирующие методики оперативных вмешательств и методы резекции различных анатомических отделов ПЖ в сочетании с дренирующим компонентом [4, 10–13].

В последние два десятилетия с целью уменьшения агрессивности хирургического вмешательства классический вариант панкреатоудоденальной резекции (ПДР) в виде гастропанкреатоудоденальной резекции (ГПДР [14]) и ее пилоросохраняющую методику (ППДР [15]) европейские исследователи [4, 16–18] и их американские коллеги [19, 20] попытались заменить органо-

сохраняющими операциями. По их мнению, применение этих методик позволяет сохранить пассаж по двенадцатиперстной кишке (ДПК), что благотворно влияет на метаболизм глюкозы и экзокринную функцию ПЖ, решая одновременно такие проблемы, как холестаза и дуоденальная непроходимость [17, 21]. Предложенные методы хирургического лечения (Beger procedure [16], Frey procedure [19], Verne procedure [18]) являются привлекательной альтернативой ГПДР и ППДР, однако требуют дополнительных исследований, доказывающих преимущества их выполнения у пациентов, страдающих ХП [4, 11, 12, 22–24].

Цель нашего проспективного исследования – сравнить результаты хирургического лечения в раннем послеоперационном периоде у больных ХП после выполнения ПДР и различных вариантов операции Фрея (ОФ) и оценить качество жизни, которое обеспечивают эти виды хирургических вмешательств, после выписки пациентов из стационара.

Материалы и методы исследования. Проведен проспективный анализ результатов выполнения различных вариантов ПДР и ОФ по нескольким критериям без рандомизации. В период с 1 января 2005 г. по 31 декабря 2010 г. на базе отделения хирургической гепатологии по поводу различных осложнений предполагаемого ХП у 25 пациентов была выполнена ПДР, а в 38 случаях – ОФ. Временные рамки исследования обусловлены тем, что на базе нашего отделения ПДР и ОФ как методики хирургической коррекции осложнений ХП до 2005 г. не применялись.

Оперированные пациенты были включены в две сравнимые группы на основании следующих признаков: наличие рецидивирующего болевого синдрома, требующего использования анальгетиков в течение последних 6 мес.; увеличение головки ПЖ (более 40 мм) воспалительного характера; кальцификация паренхимы ПЖ в зоне поражения с (или без) наличием камней в протоковой системе ПЖ; наличие осложнений со стороны близлежащих органов (стеноз дистального отдела общего желчного протока, стеноз ДПК).

Критериями исключения пациентов из групп наблюдения были: клиническая картина заболевания, протекающего без увеличения головки ПЖ (менее 40 мм) и с расширением главного панкреатического протока менее 4 мм; изолированный тромбоз воротной вены на фоне ХП; наличие морфологически подтвержденного злокачественного поражения ПЖ, имитировавшего ХП; наличие гистологической верификации злокачественных опухолей других органов у пациента. По причине обнаружения рака ПЖ, выявленного во время проведения операции (исследование свежезамороженных срезов), из группы ПДР исключены 4 пациента и 1 человек из группы, где планировалась ОФ. Еще один пациент не вошел в группу ОФ в связи с наличием у него рака почки. Окончательно в группы сравнения были включены 36 пациентов, которым была произведена ОФ, и 21 – после выполнения ПДР.

До операции протокол обследования включал ультразвуковое исследование органов брюшной полости (скрининг-методика для обоснования необходимости выполнения других методов исследования), эзофагогастродуоденоскопию с оценкой характера изменений ДПК. Во всех случаях была выполнена спиральная компьютерная томография органов брюшной полости (СКТ ОБП) по стандартной методике с шагом 2,5 мм. У 38 (65,5%) пациентов СКТ ОБП была выполнена с внутривенным болюсным усилением йодсодержащим контрастным веществом «Омнипак». В сложных диагностических случаях (синдром холестаза, увеличение головки ПЖ, стеноз ДПК) протокол исследования дополнен эндоскопической ультрасонографией (6 пациентов) или магнитной резонансной томографией (8 пациентов). Клиническая характеристика результатов обследования пациентов приведена в табл. 1.

При выборе метода хирургического вмешательства учитывали следующие параметры: размеры головки ПЖ, предполагаемую морфологическую картину заболевания, наличие технических возможностей коррекции осложнений ХП со стороны близлежащих органов после выполнения ПДР или ОФ. При отсутствии возможности исключить злокачественную природу поражения ткани ПЖ на основании данных исследований, проведенных накануне операции, всегда выполняли ПДР. Проксимальная резекция головки ПЖ в виде ГПДР была выполнена у 8 пациентов, а в варианте ППДР – у 13. Наряду с классическим вариантом ОФ (16 пациентов) у 21 (56,8%) человека была выполнена только неанатомическая резекция ткани головки ПЖ в связи с отсутствием расширения ГПП более 7 мм [20].

Таблица 1. Клиническая характеристика оперированных пациентов обеих групп сравнения

Клиническая характеристика пациентов	Операция	Панкреатодуоденальная резекция (n = 21)	Операция Фрея (n = 36)
Пол, м/ж		21/0	32/4
Возраст, лет (Ме [25%; 75%])		43,1 [35,5; 51,0]	39,5 [33,5; 44,5]
Этиология (алкоголь/прочее)		19/2	34/2
Наличие боли в течение последних 6 мес.		21	36
Длительность заболевания, мес. (Ме [25%; 75%])		29,8 [14,0; 48,0]	29,0 [13,0; 34,0]
Увеличение головки ПЖ, мм:			
40–50		1	7
51–80		16	21
> 80		4	9
Псевдокисты ПЖ*		3	21
Псевдоаневризмы ПЖ*		2	7
Стеноз ОЖП*		15	9
Стеноз ДПК		7	10
Подпеченочная форма ПГ*		1	12
Потеря массы тела > 10%		14	15
Морфологические изменения (согласно Кембриджской классификации [25]):			
стадия IV		16	21
стадия V		5	15
Наличие группы инвалидности		4	4
СД (специфический)		3	4

Примечание. * – $\alpha < 0,05$ – степень достоверности по *U*-критерию Манна–Уитни; Ме [25%; 75%] – медиана (25% – значение 25-го перцентиля, 75% – значение 75-го перцентиля). ПЖ – поджелудочная железа, ОЖП – общий желчный проток, ДПК – двенадцатиперстная кишка, ПГ – портальная гипертензия, СД – сахарный диабет.

Результаты выполнения операций в обеих группах (ПДР или ОФ) были проанализированы по характеру послеоперационных осложнений и наличию летальных исходов до момента выписки из стационара (ранний послеоперационный период). Оценка результатов хирургического лечения после выписки из стационара была проведена с использованием русифицированной версии опросника оценки качества жизни SF-36 v.2TM [26]. Использование версии опросника на языке анкетируемых дает более объективную информацию в связи с лучшим пониманием ими задаваемых вопросов. Временные сроки анализа обусловлены характером социальной адаптации большинства пациентов, страдающих ХП, что определяет возможность продуктивного контакта с пациентом. Опрос пациентов в обеих группах исследования был проведен накануне хирургического вмешательства и после выписки из стационара (через 12–15 мес. после выполнения операций) и учитывал частные и суммарные показатели физического и психологического компонентов здоровья пациентов. Данные были обработаны с использованием пакета программ Statistica 6.0 для Windows по непараметрическим критериям: ранговому критерию Уилкоксона (сравнение результатов лечения пациентов обеих групп до и после оперативного вмешательства) и *U*-критерию Манна–Уитни (сравнения результатов лечения в двух группах исследования). Различия сравниваемых показателей считались статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Среди пациентов в обеих группах исследования не получено статистически достоверной разницы по возрасту, длительности заболевания, продолжительности болевого синдрома и характеру этиологических причин ХП или морфологических изменений в резецированных участках ткани ПЖ (табл. 1). Как в группе пациентов, которым выполнен один из вариантов ПДР, так и у тех, кому оперативное вмешательство произведено по принципам ОФ, было отмечено сочетание нескольких синдромов или осложнений ХП. Так, у пациентов, которым была выполнена ПДР, чаще встречался стеноз интрапанкреатической части общего желчного протока ($\alpha < 0,05$). Наличие псевдокист ПЖ, иногда в сочетании с псевдоаневризмами сосудов, участвующих в кровоснабжении ПЖ, или в сочетании с подпеченочной формой портальной гипертензии, статистически достоверно чаще отмечено у пациентов, которым была вы-

полнена ОФ ($\alpha < 0,05$). При наличии подпеченочной формы портальной гипертензии, которая всегда сочеталась с другими осложнениями ХП, в 93,8% случаев был выполнен один из вариантов ОФ (ПДР – в 6,2% случаев), что позволило уменьшить кровопотерю во время проведения операции.

Анализ результатов выполнения ПДР и ОФ по характеру послеоперационных осложнений и наличию летальных исходов представлен в табл. 2.

Таблица 2. Послеоперационные осложнения у пациентов групп сравнения

Характер осложнений	Панкреатодуоденальная резекция (n = 21)	Операция Фрея (n = 36)
Несостоятельность билиодigestивного анастомоза	1 (4,8%)	0
Очаговый некроз ткани ПЖ в зоне резекции	0	1 (2,7%)
Некроз стенки ОЖП	0	1 (2,7%)
Панкреатический свищ	1 (4,8%)	0
Внутрибрюшное кровотечение	0	1 (2,7%)
Нагноение послеоперационной раны	4 (19,0%)	5 (13,5%)
Инфекционные осложнения в брюшной полости	2 (9,5%)	0
Гастростаз	2 (9,5%)	0
Релапаротомии	2 (9,5%)	3 (8,1%)
Острая сердечно-сосудистая недостаточность (смерть)	1 (4,8%)	0
Сепсис + pancreatic panniculitis (смерть)	0	1 (2,7%)
Всего*	6 (28,6%)**	5 (13,5%)**

Примечание. * – наличие у некоторых пациентов более одного осложнения; ** – $\alpha < 0,05$ – степень достоверности по U-критерию Манна–Уитни. ПЖ – поджелудочная железа, ОЖП – общий желчный проток, pancreatic panniculitis – некроз кожи и подкожной клетчатки с последующим ее нагноением.

В раннем послеоперационном периоде получены достоверно лучшие результаты хирургического лечения пациентов, которым была выполнена ОФ ($\alpha < 0,05$). Летальность в группе пациентов после ПДР (4,8%) была обусловлена кардиоплегией в раннем послеоперационном периоде, вызванной нарушением ритма сердечных сокращений (инфаркт миокарда в анамнезе). Смерть одного (2,7%) пациента на 5-е сутки после выполнения ОФ наступила вследствие развития полиорганной недостаточности на фоне сепсиса, источником которого послужила инфицированная перипанкреатическая псевдокиста в области хвоста ПЖ.

При сравнении результатов выполнения оперативных вмешательств у пациентов, страдающих ХП, важным является анализ не только показателей, характеризующих частоту осложнений и летальных исходов, но и то качество жизни, которое получают больные люди после выписки из стационара [4, 21, 22, 27–33]. В нашем исследовании не отмечено новых случаев специфического типа сахарного диабета и получения группы инвалидности по ХП. Однако, по данным литературы, у 10–20% пациентов после выполнения ПДР и у 5–21% пациентов после резекционно-дренирующих операций с сохранением ДПК отмечаются новые случаи сахарного диабета [4, 28–30, 32, 33].

Для оценки качества жизни проанализированы показатели русифицированного опросника SF-36 v.2™ [26]. Характер изменения этих показателей позволяет оценить не только эффект купирования боли, но и динамику качества жизни у пациентов после выполнения различного вида операций. Анализ анкет был проведен у 48 (82,8%) человек. Десять пациентов не ответили на вопросы анкеты по почтовому отправлению или не явились для контрольного обследования в стационаре. Результаты оценки качества жизни (согласно показателям анкет вопросника SF-36 v.2™), полученные в группе наблюдения накануне хирургического вмешательства и после операции (через 12–15 мес.), представлены в табл. 3.

При сравнении данных (табл. 3), полученных в результате опроса, у оперированных пациентов было выявлено улучшение частных и суммарных показателей физического и психоэмоционального компонентов, характеризующих качество жизни пациентов обеих групп исследования. Изменения этих показателей, согласно критерию Уилкоксона, как в группе пациентов, которым

Т а б л и ц а 3. Сравнение качества жизни пациентов в двух группах до и после оперативного лечения согласно вопроснику SF-36 v.2™

Показатель	Панкреатодуоденальная резекция (n = 17), Me [25%; 75%]		Операция Фрея (n = 31), Me [25%; 75%]	
	До операции	После операции	До операции	После операции
Физическое функционирование (PF)	40 [35; 50]	70 [65; 80]	40 [35; 55]	80 [70; 85]
Рольное функционирование, обусловленное физическим состоянием (RP)	0 [0; 0]	75 [50; 75]	0 [0; 0]	75 [50; 100]
Интенсивность боли (BP)	22 [12; 31]	80 [74; 84]	22 [10; 32]	100 [74; 100]
Общее состояние здоровья (GH)	25 [20; 42]	52 [45; 52]	35 [25; 45]	52 [47; 65]
Жизненная активность (VT)	15 [15; 35]	70 [60; 75]	40 [15; 50]	65 [55; 75]
Социальное функционирование (SF)	25 [0; 37,5]	87,5 [75; 87,5]	37,5 [25; 50]	75 [75; 87,5]
Рольное функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (RE)	0 [0; 0]	66,7 [66,7; 100]	0 [0; 0]	66,7 [66,7; 100]
Психическое здоровье (MH)	28 [16; 45]	80 [76; 84]	48 [20; 64]	76 [64; 84]
Физический компонент здоровья (PF/RP/BP/GH = PHs)	30,8 [30,4; 34,2]	43,2 [44,6; 49,4]	33,6 [29,1; 34,8]	46,6 [41,8; 50,7]
Психологический компонент здоровья (VT/SF/RE/MH = MHs)	25,8 [19,5; 33,5]	53,1 [49,6; 53,8]	33,2 [21,7; 38,8]	51,5 [46,2; 54,8]

Примечание. PF/RP/BP/GH/PHs/VT/SF/RE/MH/MHs – сокращения оцениваемых показателей (англ. аббревиатуры); $P < 0,05$ – степень достоверности по критерию Уилкоксона; Me [25%; 75%] – медиана (25% – значение 25-го перцентиля, 75% – значение 75-го перцентиля).

была выполнена ПДР ($P < 0,05$), так и в группе, где хирургическое вмешательство выполнено по принципам ОФ ($P < 0,05$), является достоверным. Стойкое купирование болевого синдрома было отмечено у 14 (82,4%) пациентов после ПДР и у 29 (93,5%) после выполнения ОФ. У трех пациентов из первой группы и у двух из группы ОФ отмечено уменьшение интенсивности боли только на 50–75%. Все они продолжали злоупотреблять алкоголем и курить. Аналогичный результат влияния алкоголя и курения на степень купирования болевого синдрома получен и другими исследователями, которые проводили анализ качества жизни больных ХП после выполнения оперативного вмешательства [4, 28–30]. Полученные данные подтверждают целесообразность и высокую эффективность выполнения как ПДР, так и ОФ в случаях, когда соблюдаются определенные критерии отбора пациентов для хирургического лечения.

С целью определения различий в качестве жизни пациентов обеих групп наблюдения был проведен сравнительный анализ прироста показателей до и после выполнения оперативного вмешательства. Сравнение величины прироста частных и суммарных показателей физического и психоэмоционального компонентов качества жизни по U -критерию Манна–Уитни позволяет определить, какой вид хирургической операции является предпочтительным. Результаты анализа представлены в табл. 4.

Более высокий прирост показателя физического функционирования (PF) ($\alpha < 0,05$), отражающего степень, в которой физическое состояние ограничивает выполнение физических нагрузок, было отмечено пациентами из группы ОФ.

До выполнения хирургического вмешательства были зафиксированы более низкие показатели жизненной активности (VT) ($\alpha < 0,05$) и психического здоровья (MH) ($\alpha < 0,05$) в группе ПДР и отмечался их более высокий прирост, что свидетельствует о том, что физическое и психоэмоциональное состояние участника исследования позволяет ему выполнять повседневную работу и общаться с окружающими.

В настоящее время опубликованы данные четырех рандомизированных исследований, в которых проведен анализ результатов выполнения ОФ и ПДР [4, 27–29]. Так, в работе I. Klempa и соавт. [27] приведены результаты лечения 43 пациентов (22 человека после выполнения ОФ и 21 – после выполнения ПДР) с периодом наблюдения 3–5 лет. В группе ОФ отмечен более короткий период стационарного лечения, меньшее количество вновь выявленных случаев специфического сахарного диабета и мальабсорбции. Пациенты этой группы быстрее набирали вес,

Т а б л и ц а 4. Сравнение увеличения показателей качества жизни у пациентов обеих групп после оперативного лечения согласно вопроснику SF-36 v.2™

Показатель	Панкреатодуоденальная резекция (n = 17), Me [25%; 75%]	Операция Фрея (n = 31), Me [25%; 75%]	α
Физическое функционирование (PF)	30 [25; 40]	40 [35; 45]	< 0,05
Рольное функционирование, обусловленное физическим состоянием (RP)	75 [50; 75]	50 [50; 100]	NS
Интенсивность боли (BP)	59 [49; 64]	64 [52; 78]	NS
Общее состояние здоровья (GH)	20 [17; 27]	17 [10; 27]	NS
Жизненная активность (VT)	40 [35; 55]	31 [15; 45]	< 0,05
Социальное функционирование (SF)	62,5 [37,5; 75]	50 [25; 62,5]	NS
Рольное функционирование, обусловленное эмоциональным состоянием (RE)	66,7 [66,7; 100]	66,7 [66,7; 100]	NS
Психическое здоровье (MH)	45 [40; 58]	37 [30; 42]	< 0,05
Физический компонент здоровья (PF/RP/BP/GH = PHs)	12,8 [9,6; 15,5]	15,1 [10,6; 17,8]	NS
Психологический компонент здоровья (VT/SF/RE/MH = MHs)	24,5 [18,1; 29,5]	18,7 [11,8; 26,7]	NS

П р и м е ч а н и е. PF/RP/BP/GH/PHs/VT/SF/RE/MH/MHs – сокращения оцениваемых показателей (англ. аббревиатуры); $\alpha < 0, 05$ – степень достоверности по U-критерию Манна–Уитни; Me [25%; 75%] – медиана (25% – значение 25-го перцентиля, 75% – значение 75-го перцентиля). NS – нет статистического различия.

и степень купирования болевого синдрома у них также была значительно выше (100% против 70%). Аналогичные результаты были получены и M. W. Buchler и соавт. [28] при сравнении результатов хирургического лечения 40 пациентов. Однако период наблюдения был в пределах одного года. В исследовании J. R. Izbicki и соавт. [4] (31 человек после выполнения ОФ и 30 – после выполнения ППДР) у 3% пациентов после выполнения ОФ были отмечены летальные исходы (0% пациентов после ППДР). Однако количество осложнений после ППДР было значительно больше (53%), чем в группе ОФ (19%). В группе ОФ качество жизни пациентов было значительно лучше (86% против 57%). Оба вида хирургического вмешательства в равной степени купировали болевой синдром. По данным G. Farkas и соавт. [29], у оперированных по органосохраняющей методике не было осложнений после выполнения операции (40% пациентов после выполнения ППДР). Они быстрее набирали вес и у них не было отмечено новых случаев специфического типа сахарного диабета.

При проведении рандомизированных исследований второго уровня, сравнивающих три и более метода лечения (ОФ, ППДР и Bege procedure), были получены аналогичные результаты [32, 33]. Исследования, в которых приводятся результаты межцентрового анализа (метаанализ), также демонстрируют сравнимые показатели летальности, послеоперационных осложнений и купирования болевого синдрома во время долгосрочного наблюдения [23].

По данным литературы, как ПДР, так и различные модификации дуоденосохраняющей неанатомической резекции головки ПЖ [16, 18, 19] могут быть выполнены с низким процентом послеоперационной летальности и незначительным количеством послеоперационных осложнений. Проблемы эндокринной и/или экзокринной недостаточности ПЖ с хорошим результатом в последующем купируются с применением различных схем медикаментозной терапии [3, 5, 23, 34]. Предпочтение в выборе того или иного вида операции во многом определяются опытом хирургов панкреатологического центра или местом его расположения. Врачи американской школы, как правило, чаще сталкиваются со случаями, когда у пациента имеет место значительное расширение ГПП ПЖ, а в практике европейских коллег преобладают случаи, когда у пациентов имеется преимущественное поражение головки ПЖ [11].

Заключение. Согласно полученным данным, официальная русифицированная версия опросника SF-36 v.2™ позволяет в полной мере оценить характер изменения как физической, так и психоэмоциональной составляющей качества жизни пациентов и является надежным инструментом для оценки результатов различных видов хирургических вмешательств.

При сравнении показателей, характеризующих качество жизни оперированных пациентов, получен достоверный рост по всем сравниваемым показателям как в группе пациентов, которым была выполнена ПДР ($P < 0,05$), так и в группе, где вмешательство произведено по принципам ОФ

($P < 0,05$). Полученные данные подтверждают необходимость хирургического лечения осложнений ХП по мере их выявления, до момента развития признаков эндокринной и экзокринной недостаточности.

Таким образом, при наличии равных условий предпочтение следует отдавать ОФ, так как она обеспечивает меньшее количество послеоперационных осложнений и больший прирост некоторых показателей физического компонента качества жизни у оперированных пациентов.

Литература

1. *Etemad B., Whitcomb D. C.* // Gastroenterology. 2001. Vol. 120. P. 682–707.
2. *Schneider A., Whitcomb D. C.* // Clin. Gastroenterol. 2002. Vol. 16. P. 347–363.
3. *Lankisch P. G., Löhr-Happe A., Otto J.* et al. // Digestion. 1993. Vol. 54. P. 148–155.
4. *Izbicki J. R., Bloechle G., Broering D. C.* et al. // Ann. Surg. 1998. Vol. 228, N 6. P. 771–779.
5. *Маев И. В., Кучерявый Ю. А.* Болезни поджелудочной железы: практ. руководство. М., 2009.
6. *Ebbehoj N., Svendsen L. B., Madsen P.* // Scand. J. Gastroenterol. 1984. Vol. 19. P. 1066–1068.
7. *Bockman D. E., Büchler M. W., Malfertheiner P.* et al. // Gastroenterology. 1988. Vol. 94. P. 1459–1469.
8. *Karanjia N. D., Widdison A. L., Leung F.* et al. // Br. J. Surg. 1994. Vol. 81. P. 259–264.
9. *Bockman D. E.* // Am. J. Surg. 2007. Vol. 194. P. 61–64.
10. *Markowitz J. S., Rattner D. W., Warshaw A. L.* // Arch. Surg. 1994. Vol. 129, N 4. P. 374–380.
11. *Keck T., Marjanovic G., Fernandez-DelCastillo C.* et al. // Ann. Surg. 2009. Vol. 249, N 1. P. 105–110.
12. *Mihaljevic A. L., Beger H., Büchler M. W.* et al. // Clin. Gastroenterol. 2008. Vol. 22. P. 167–181.
13. *Warshaw A. L., Banks P. A., Fernandez-DelCastillo C.* // Gastroenterology. 1998. Vol. 115. P. 765–776.
14. *Whipple A. O.* // Ann. Surg. 1946. Vol. 124, N 6. P. 991–1006.
15. *Traverso L. W., Longmire W. P.* // Surg. Gynecol. Obstet. 1978. Vol. 156. P. 581–586.
16. *Beger H. G., Witte C., Krautzbergerr W.* et al. // Chirurg. 1980. Vol. 51. P. 303–307.
17. *Beger H. G., Siech M., Poch B.* // Operative Techniques in General Surg. 2002. Vol. 14, N 2. P. 141–152.
18. *Gloor B., Friess H., Uhl W.* et al. // Dig. Surg. 2001. Vol. 18, N 1. P. 21–25.
19. *Frey C. F., Smith G. J.* // Pancreas. 1987. N 2. P. 701–707.
20. *Ho S. H., Frey C. F.* // Arch. Surg. 2001. Vol. 136. P. 1353–1358.
21. *Frey C. F., Mayer K. L.* // World. J. Surg. 2003. Vol. 27. P. 1217–1230.
22. *Makowiec F., Post S., Saeger H. D.* et al. // J. Gastrointest. Surg. 2005. N 9. P. 1080–1086.
23. *Diener M. K., Rahbari N. N., Fischer L.* et al. // Ann. Surg. 2008. Vol. 247, N 6. P. 950–961.
24. *Andersen D. K., Frey C. F.* // Ann. Surg. 2010. Vol. 251, N 1. P. 18–32.
25. *Axon A. T., Classen M., Cotton P. B.* et al. // Gut. 1984. Vol. 25, N 2. P. 1107–1112.
26. *Новик А. А., Ионова Т. И.* Руководство по исследованию качества жизни в медицине. М., 2002.
27. *Klempa I., Spatny M., Menzel J.* et al. // Chirurg. 1995. Vol. 66. P. 350–359.
28. *Büchler M. W., Beger H. G., Schlosser W.* et al. // Am. J. Surg. 1995. Vol. 169. P. 65–70.
29. *Farkas G., Leindler L., Daroczi M.* et al. // Langenbecks Arch. Surg. 2006. Vol. 391. P. 338–342.
30. *Izbicki J. R., Bloechle G., Knoefel W. T.* et al. // Ann. Surg. 1995. Vol. 221, N 4. P. 350–358.
31. *Königer J., Friess H., Büchler M. W.* et al. // Surgery. 2008. N 4. P. 490–498.
32. *Aspelund G., Topazian M. D., Lee J. H.* et al. // J. Gastrointest. Surg. 2005. N 9. P. 400–409.
33. *Riediger H., Adam U., Fischer E.* et al. // J. Gastrointest. Surg. 2007. N 11. P. 949–960.
34. *Strobel O., Büchler M. W., Werner J.* // Int. J. Surg. 2009. N 7. P. 305–312.

S. M. RASHCHYNSKI, S. I. TRETYAK

LIFE QUALITY OF THE PATIENTS SUFFERING FROM CHRONIC PANCREATITIS AFTER THE PERFORMANCE OF FREY'S PROCEDURE AND PANCREATODUODENECTOMY

Summary

The aim of this prospective study was to compare two surgical procedures in the treatment for chronic pancreatitis (CP): pancreatoduodenectomy resection (PD) to duodenum-preserving pancreatic head excision by Frey's procedure (FP), to define the advantages of each procedure with regard to postoperative complications, pain relief, and the life quality.

From January 2005 to December 2010, a total of 57 patients underwent PD or FP in our department. PD was chosen when the head pancreatic mass was present or pancreatic cancer could not be ruled out (21 patients); otherwise FP was performed (36 cases). Early postoperative morbidity and mortality were assessed and evaluated in the both groups of patients. The life quality was measured prospectively on two occasions, before the procedure and during follow-up (median 12–15 months after surgery) using the questionnaire of the life quality in SF-36 v.2TM (Russian version).

In the immediate postoperative period, more complications were observed in the PD group ($\alpha < 0.05$). Total pain score decreased and life quality increased significantly after surgery in the both groups of patients, but the differences were not significant.

The both surgical procedures led to the significant improvement in the life quality of life and pain relief after surgery for CP. Under equal conditions, the preference should be given to FP, as a more safe operation by the results in the early postoperative period. The SF-36 v.2TM (Russian version) was found to be a valid and readily available test for the life quality assessment in patients with CP.

УДК 618.25-08

О. Н. ХАРКЕВИЧ, В. Л. СЕМЕНЧУК

МНОГОПЛОДНАЯ БЕРЕМЕННОСТЬ: СОВРЕМЕННЫЕ ПОДХОДЫ К ТАКТИКЕ ОКАЗАНИЯ МЕДИЦИНСКОЙ ПОМОЩИ

Республиканский научно-практический центр «Мать и дитя», Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 01.03.2012)

Введение. Пациентки с многоплодием, удельный вес которых в общей популяции составляет 0,7–1,5%, относятся к группе высокого риска перинатальных осложнений. Даже при современном развитии медицины перинатальная смертность при беременности двойней в 5 раз выше, чем при одноплодной беременности, внутриутробная гибель плода – в 4 раза, неонатальная смертность – в 6 раз. Частота церебрального паралича у детей из двойни выше в 3–7 раз, при тройне – в 10 раз. Уровень ante- и интранатальных осложнений со стороны матери в 2–10 раз превышает таковой у пациенток с одноплодной беременностью [10].

Перинатальная заболеваемость и смертность при двойне зависят от типа хориальности. Частота преждевременных родов до 32 недель при монохориальной (МХ) беременности составляет 10%, при бихориальной (БХ) двойне – 5%. Самопроизвольное прерывание беременности в период с 11-й по 24-ю неделю при БХ двойне составляет 2%, при МХ – около 10% [10].

Многоплодная беременность может осложняться хронической фетоплацентарной недостаточностью (ХФПН), внутриутробной гипоксией плода (ВГП), задержкой внутриутробного роста (ЗВУР) плодов, врожденными пороками развития (ВПР), фето-фетальным трансфузионным синдромом (ФФТС), внутриутробной гибелью одного или обоих плодов и синдромом обратной артериальной перфузии [4, 6, 13]. ЗВУР одного или обоих плодов при многоплодной беременности встречается в 10 раз чаще, чем при одноплодной, и составляет при МХ и БХ двойнях 30 и 20% соответственно. ФФТС осложняет 5–25% МХ беременностей. Перинатальная смертность при ФФТС может достигать 60–100% [13, 14].

Средняя частота гибели одного или обоих плодов при двойне на ранних сроках гестации составляет 5%, при одноплодной беременности – 2% [10, 13]. Во II и III триместрах гестации частота внутриутробной гибели одного из плодов составляет 0,5–6,8% при двойне и 11–17% при тройне. Основной причиной гибели плодов при МХ двойне является ФФТС, при БХ – гипоплазия плаценты и оболочечное прикрепление пуповины [2].

Внутриутробная гибель одного из плодов сопровождается повышенным риском нарушений развития второго плода. При внутриутробной гибели одного плода из МХ двойни происходит перераспределение крови по сосудистым анастомозам от живого плода в фетоплацентарную систему погибшего [3, 7], что обуславливает высокую частоту неблагоприятных перинатальных исходов – мертворождение (9,1%), неонатальную смертность (3,0%), повреждения головного мозга (15,0–25,0%) [8, 15].

Для монохориальной моноамниотической беременности характерны специфические пороки развития. Обратная артериальная перфузия (синдром акардиус-акраниус) – наиболее выраженное проявление ФФТС. Этот синдром встречается у 1% МХ двоен. В основе этой патологии лежит нарушение сосудистой перфузии, в результате чего один плод (реципиент) развивается за счет артерио-артериальных анастомозов с другим плодом (донором) [2, 3, 17, 26].

Монохориальная моноамниотическая беременность требует тщательного УЗ-мониторинга за ростом и состоянием плодов. УЗ-мониторинг с ранних сроков беременности позволяет осущест-

влять дифференцированный подход к ведению беременности и родов. Роды при монохориальной моноамниотической двойне связаны с высоким риском перекрута пуповины. Поэтому родоразрешение беременных с монохориальной моноамниотической двойней необходимо проводить в сроке 33–34 недели [9, 16].

Сросшиеся близнецы встречаются в 1% случаев МХ двоен с частотой 40 на 10 000 рожденных двоен. Торакопаги, омфалопаги и комбинация этих двух патологических форм (по классификации А. Guttmacher и В. Nichols [5]) у сросшихся близнецов встречаются в 50% случаев. Прогноз для сросшихся близнецов зависит от места и степени их соединения, а также от наличия сопутствующих пороков развития.

Для определения тактики ведения беременности при многоплодии решающее значение имеет определение зиготности, хориальности и количества амниотических полостей. Установление зиготности до родоразрешения возможно только при исследовании у плодов ДНК, полученной в результате проведения амниоцентеза, биопсии хориона. Однако на основании зиготности нельзя судить о типе плацентации. Монозиготные двойни могут быть как МХ, так и БХ. Определение хориальности плодов возможно при проведении ультразвукового исследования в I триместре беременности [9, 10, 13].

Тип плацентации имеет важное значение и для определения тактики ведения родов. При МХ двойне высок риск острой интранатальной трансфузии, способной вызвать острую гиповолемию с последующим повреждением головного мозга, анемию и даже интранатальную гибель плода-донора [1, 11, 12].

На современном этапе возможна внутриутробная коррекция антенатальных осложнений. Так, в 2008 г. в республике были внедрены фетоскопия и кордоцентез, совместно с зарубежными коллегами разработана технология лечения ЗВУР плода внутриутробно, предполагающая подкожную имплантацию порт-системы матери и установку портального катетера в вену пуповины плода [15, 20, 27]. С 2009 г. в нашей стране успешно применяются внутриутробное дренирование кистозных новообразований больших размеров в брюшной полости плода, амниодренирование, а также лазерная коагуляция сосудов плаценты и пуповины плода при внутриутробном лечении ФФТС и синдрома обратной артериальной перфузии [26]. Начиная с 2010 г. эффективно проводится лечение анемии плода методом внутриутробной гемотрансфузии, разработана и внедрена технология лечения ЗВУР плода внутриутробно методом инфузии аминокислот и глюкозы в вену пуповины с использованием кордоцентеза и шприцевых насосов [27]. Оказание акушерско-гинекологической помощи женщинам с многоплодной беременностью в нашей стране осуществляется согласно клиническим протоколам, утвержденным Приказом Министерства здравоохранения Республики Беларусь № 66 от 05.02.2007 г. [24]. Однако в действующих клинических протоколах не учтены все возможные осложнения при многоплодной беременности, а также современные возможности инструментальной диагностики и малоинвазивной коррекции внутриутробной патологии.

Цель исследования – разработка единых подходов к диагностике, тактике ведения и внутриутробной коррекции антенатальной патологии при беременности двойней на основе ретроспективного анализа медицинской документации, проспективного обследования и лечения беременных и «внутриутробных пациентов» с использованием современных пренатальных технологий.

Материалы и методы исследования. Проведен анализ динамики частоты многоплодной беременности двойней на 1000 родов в Республике Беларусь за последние 12 лет (2000–2011 гг.) по данным отчетов о медицинской помощи беременным, роженицам и родильницам (форма 1 Минздрава – помощь беременным). Выполнена ретроспективная оценка ведения беременности и родов двойней, которые имели место в Республиканском научно-практическом центре (РНПЦ) «Мать и дитя» (до 2004 г. – НИИ охраны материнства и детства) в период с 2000 по 2007 г. Всего проанализировано 339 случаев беременности двойней. Основную группу ретроспективного исследования составили 180 беременных с МХ двойней, в группу сравнения вошли 159 женщин с БХ двойней. Все беременности были зачаты самостоятельно, без применения вспомогательных репродуктивных технологий. Источником информации для ретроспективного анализа являлась медицинская документация – индивидуальные карты беременных и родильниц (учетная форма 111/у), истории родов (учетная форма 096/у), протоколы вскрытия (учетная форма 216/у).

Проведено проспективное обследование, лечение и родоразрешение 54 беременных женщин с МХ двойней, которые находились на стационарном лечении в РНПЦ «Мать и дитя» в период с 2008 по 2011 г. Основную группу составили 26 пациенток с ФФТС (в том числе 2 пациентки с синдромом обратной артериальной перфузии), контрольную группу – 28 беременных женщин с МХ двойней без ФФТС. У всех женщин беременность наступила спонтанно, без использования вспомогательных репродуктивных технологий. Средний возраст пациенток обеих групп не имел существенных различий и составил в основной группе – $29,5 \pm 1,69$ года, в контрольной – $28,7 \pm 1,57$ ($P > 0,05$).

Ультразвуковые исследования (УЗИ) с импульсной доплерометрией выполняли на аппарате Voluson 730. Диагностику хориальности плаценты проводили по данным УЗИ в I триместре беременности. Определяли количество плацент, пол обоих плодов, наличие амниотической перегородки. Основным критерием УЗ-диагностики МХ двойни являлись единая плацента и отсутствие ткани хориона между амниотическими перегородками близнецов (отсутствие λ -признака) [9]. В более поздние сроки беременности дополнительными критериями хориальности служили пол плодов, число плацент. Состояние фетоплацентарной гемодинамики оценивали по данным доплерометрии (в артерии пуповины, срединной мозговой артерии и венозном протоке) каждого плода. Степень тяжести ФФТС определяли по классификации R. Quintero [19].

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью компьютерного пакета программ STATISTICA (версия 7.0) [22].

Результаты и их обсуждение. Динамика количества двоен на 1000 родов в Республике Беларусь за период с 2000 по 2011 г. представлена на рис. 1.

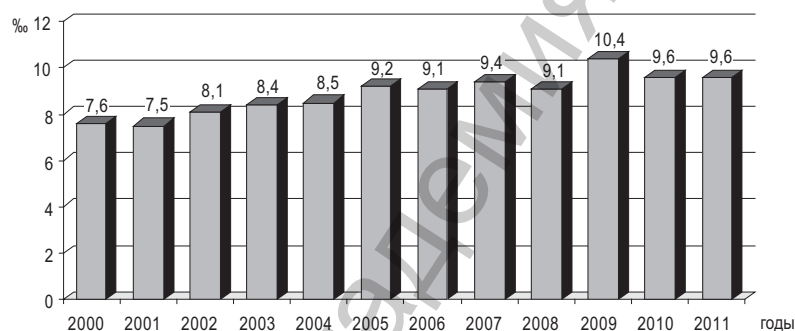


Рис. 1. Динамика количества двоен на 1000 родов в Республике Беларусь за период с 2000 по 2011 г.

Частота многоплодной беременности в нашей стране за период с 2000 по 2011 г. значительно увеличилась – от 7,6‰ в 2000 г. до 9,6–10,4‰ в 2010–2011 гг. Средняя частота данного показателя в 2006–2011 гг. составила $9,5 \pm 0,13\%$, что было значительно больше, чем в 2000–2005 гг. – $8,2 \pm 0,28\%$ ($P < 0,01$). Достоверное увеличение многоплодных беременностей двойней в последние годы может быть связано с развитием вспомогательных репродуктивных технологий в Беларуси.

Результаты ретроспективного анализа числа и структуры осложнений беременности при МХ и БХ двойнях за период 2000–2007 гг. представлены в табл. 1.

При беременности МХ двойней достоверно чаще, чем при беременности БХ двойней, регистрировались следующие акушерские осложнения: ХФПН с ХВГП – 30 и 12,5% соответственно ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 15; P < 0,005$), ЗВУР плода – 24,4 и 5,7% ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 10,6; P < 0,005$), ФФТС – 3,9 и 0% ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 10; P < 0,01$), а также урогенитальные инфекции – 38,3 и 23,3% ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 8,9; P < 0,01$).

Результаты ретроспективного анализа исходов беременности и родов при МХ и БХ двойнях представлены в табл. 2.

При МХ двойне достоверно чаще по сравнению с БХ двойней имели место преждевременные роды – 72,8 и 61,6% ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 4,8; P < 0,05$) и самопроизвольные выкидыши – 1,9 и 0,6% соответственно ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 5; P < 0,05$). Перинатальная гибель плодов при МХ двойне регистри-

Т а б л и ц а 1. Число и структура осложнений беременности при МХ и БХ двойнях за 2000–2007 гг. (по данным РНПЦ «Мать и дитя»)

Акушерские осложнения	Клиническая группа			
	МХ двойни		БХ двойни	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Угроза прерывания беременности	109	60,6	96	60,4
Истмико-цервикальная недостаточность	17	9,4	20	12,6
Анемия беременной	49	27,2	49	30,8
Гестоз	31	17,2	27	17,0
ХФПН, ХВГП	54	30,0*	20	12,5
ЗВУР плода	44	24,4*	9	5,7
ФФТС	7	3,9*	–	–
Урогенитальные инфекции	69	38,3*	37	23,3

П р и м е ч а н и е. * – достоверные различия между беременными с МХ и БХ двойнями, $P < 0,05$. ХФПН – хроническая фетоплацентарная недостаточность, ХВГП – хроническая внутриутробная гипоксия плода, ЗВУР – задержка внутриутробного роста, ФФТС – фето-фетальный трансфузионный синдром.

Т а б л и ц а 2. Результаты ретроспективного анализа исходов беременности и родов при МХ и БХ двойнях за 2000–2007 гг. (по данным РНПЦ «Мать и дитя»)

Исходы беременности и родов	Клиническая группа			
	МХ двойни		БХ двойни	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Срочные роды	49	27*	61	38
Преждевременные роды	131	73*	98	62
Самопроизвольный выкидыш	7	1,9*	2	0,6
Внутриутробная гибель:				
одного плода	6	3,3	3	1,9
двух плодов	3	1,7	–	–
Интранатальная гибель:				
одного плода	5	2,7	3	1,9
двух плодов	1	0,6	1	0,6

П р и м е ч а н и е. * – достоверные различия между группами при МХ и БХ двойнях, $P < 0,05$.

ривалась в 2,1 раза чаще, чем при БХ двойне, – 10,4 и 5,0% соответственно ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 4,4$; $P < 0,05$). Случаев антенатальной смерти обоих плодов при БХ двойне не зарегистрировано. В ходе исследований выявлено, что большая частота внутриутробной гибели плодов при МХ двойнях объясняется развитием ФФТС. Высокий удельный вес антенатальных потерь был связан с отсутствием своевременной диагностики и коррекции ФФТС, а высокий уровень ранней неонатальной гибели плодов был обусловлен в основном их глубокой недоношенностью.

На рис. 2 представлены показатели перинатальной смертности при МХ и БХ двойнях за период с 2000 по 2007 г. (по данным РНПЦ «Мать и дитя»).

По данным РНПЦ «Мать и дитя», за период с 2000 по 2007 г. показатель перинатальной смертности при МХ двойнях составил 66,7%, при БХ он был в 2,1 раза ниже – 31,4% ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 4,4$; $P < 0,05$).

Структура перинатальной смертности при ретроспективном анализе МХ и БХ двоен представлена на рис. 3.

В структуре перинатальной смертности наибольший удельный вес при МХ двойнях составила антенатальная

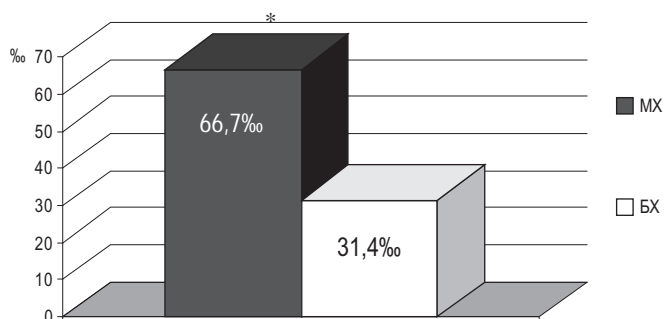


Рис. 2. Показатели перинатальной смертности при МХ и БХ двойнях за период с 2000 по 2007 г. * – достоверность различий между группами

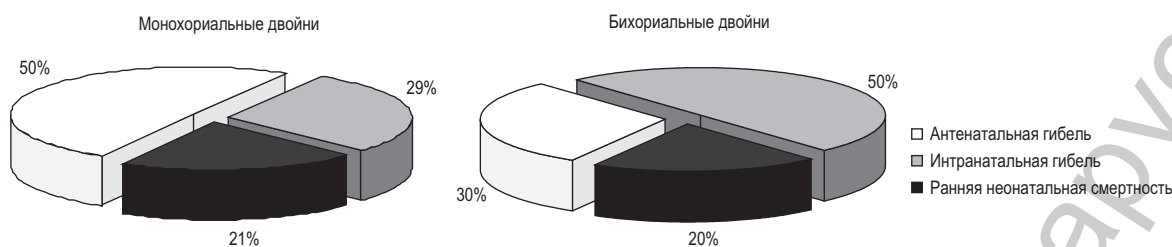


Рис. 3. Структура перинатальной смертности при МХ и БХ двойнях за период с 2000 по 2007 г. (по данным РНПЦ «Мать и дитя»)

гибель плодов (50%), при БХ – интранатальная (50%). Удельный вес ранней неонатальной гибели детей составил 21 и 20% соответственно.

Большинство новорожденных (244 (72,8%)) из МХ двоен родились недоношенными. Случаи перевода новорожденных в отделение интенсивной терапии и реанимации при МХ двойне составили 40,1% (137 случаев), при БХ двойне – 29,3% (91 случай) ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 6,5; P < 0,05$). После рождения из МХ двойни в 93 (27,6%) случаях дети были взяты на искусственную вентиляцию легких (ИВЛ) в связи с гипоксией и развитием респираторного дистресс-синдрома, что было значительно чаще, чем при БХ двойне, – в 53 (17,09%) случаях ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 8,4; P < 0,01$). На второй этап выхаживания новорожденные при МХ и БХ двойнях переводились одинаково часто – в 160 (46,9%) и 155 (50%) случаях соответственно ($\chi^2_{(МХ, БХ)} = 0,9; P > 0,05$).

Учитывая высокий уровень перинатальных осложнений и смертности при МХ двойнях, проведен анализ ведения беременности и родов. Результаты ретроспективного анализа медицинской документации, представленные на рис. 4, выявили ряд недостатков при оказании медицинской помощи беременным двойней.

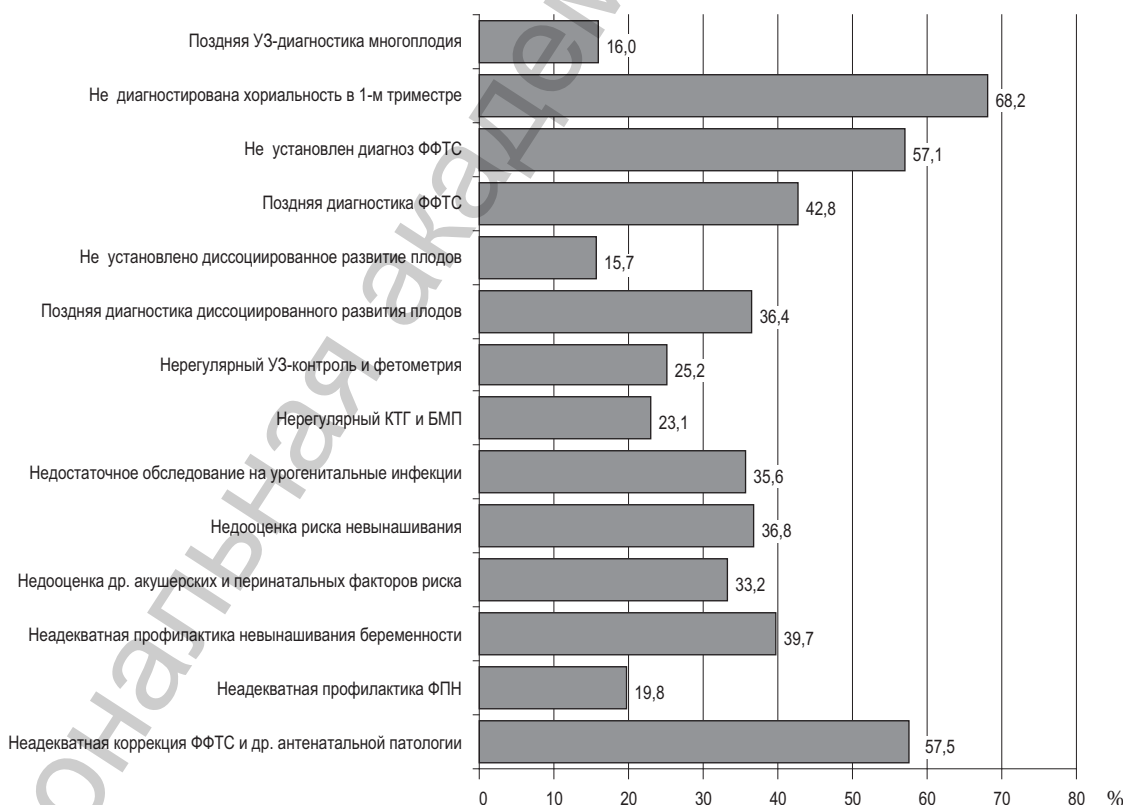


Рис. 4. Недостатки оказания медицинской помощи беременным женщинам с двойней (по данным ретроспективного анализа медицинской документации за 2000–2007 гг.) и их удельный вес. ФФТС – фето-фетальный трансфузионный синдром, КТГ – кардиотокограмма, БМП – биометрический профиль, ФПН – фетоплацентарная недостаточность

Поздняя УЗ-диагностика многоплодной беременности (только во II триместре) имела место в 55 (16%) случаях. Хориальность двойни (МХ или БХ) не была диагностирована в 232 (68,2%) случаях. У 4 (57,1%) беременных не был установлен диагноз ФФТС при МХ двойне. Поздняя диагностика ФФТС при МХ двойне имела место у 3 (42,8%) беременных. Диссоциированное развитие плодов не диагностировано в 58 (15,7%) случаях, в 30 (7%) случаях диагностика была поздней. Нерегулярный контроль УЗИ и фетометрии в динамике беременности имел место в 92 (25,2%) случаях, нерегулярный контроль кардиотокограммы (КТГ) и биометрического профиля (БМП) плодов – в 86 (23,1%). Недостаточное лабораторное обследование на урогенитальные инфекции составило 129 (35,6%) случаев, недооценка риска и клинических проявлений угрозы невынашивания беременности – 134 (36,8%), недооценка других акушерских и перинатальных факторов риска – 126 (33,2%) случаев. В 145 (39,7%) случаях отсутствовала и/или была неадекватной профилактика и коррекция невынашивания беременности. Отсутствие и/или неадекватная профилактика и лечение ХФПН имели место в 79 (19,8%) случаях, неадекватная коррекция антенатальной патологии – в 19 (57,5%).

Основными недостатками оказания медицинской помощи беременным двойней, не позволившими предотвратить невынашивание беременности и перинатальную смертность, явились: запоздалая или некачественная пренатальная диагностика (хориальности, внутриутробных инфекций, врожденных пороков развития (ВПР), ФФТС, ХФПН и ЗВУР) – 84%, отсутствие регулярного контроля внутриутробного состояния плодов в динамике беременности – 47%.

По результатам ретроспективного анализа и проспективного обследования и лечения пациенток с многоплодной беременностью двойней были разработаны и внедрены основные подходы и принципы ведения беременности двойней, представленные на рис. 5.

При задержке роста одного или обоих плодов при отсутствии классических признаков ФФТС необходим динамический ультразвуковой контроль с доплерометрией в артерии пуповины, венозном протоке, срединной мозговой артерии. Лечение ФПН осуществляют согласно действующим клиническим протоколам. В случае отсутствия эффекта от проводимой терапии необходимо рассмотреть вопрос о госпитализации на III–IV перинатальный уровень. Учитывая высокую частоту преждевременных родов при многоплодии, рекомендуется медикаментозная профилактика респираторного дистресс-синдрома новорожденных глюкокортикоидами в 30–32 недели беременности.

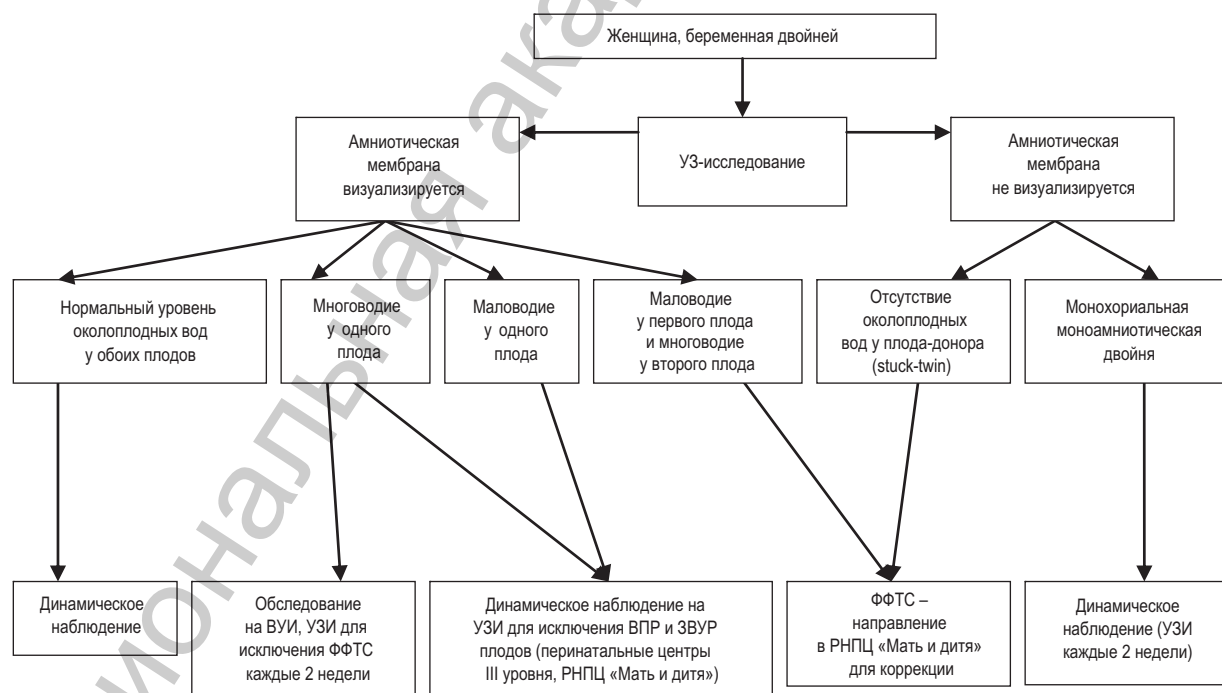


Рис. 5. Алгоритм обследования при беременности двойней и диагностики ФФТС

Непосредственно с начала II триместра необходимо проводить профилактику угрозы невынашивания, плацентарной недостаточности, гестоза и анемии беременных согласно действующим клиническим протоколам динамического наблюдения [23, 24].

Диагностику ФФТС необходимо проводить по данным УЗИ на основании эхографических критериев.

К эхографическим критериям диагностики ФФТС в I триместре беременности относятся: наличие МХ двойни; расширение воротникового пространства более 3 мм в сроке гестации 10–14 недель; уменьшение копчико-теменного размера (КТР) одного из плодов, что указывает на отставание в росте; образование складок амниотической перегородки в 10–13 недель.

Эхографическими критериями, характерными для ФФТС во II и III триместрах беременности, являются: МХ тип плацентации; одинаковая половая принадлежность плодов; тонкая амниотическая перегородка; образование складок амниотической перегородки в 14–17 недель беременности; отсутствие λ -признака; наличие многоводия у одного плода и маловодия у другого; различие размеров мочевого пузыря плодов (малые размеры или отсутствие наполнения мочевого пузыря у плода-донора и большие размеры мочевого пузыря у плода-реципиента); различие в массе плодов более 20%; тесное прилегание одного из плодов к стенке матки из-за отсутствия у него околоплодных вод (признак «прилипания» – stuck-twin); водянка одного плода (подкожный отек более 5 мм, плевральный выпот, перикардальный выпот, асцит). В случае тесного прилегания одного из плодов к стенке матки необходимо проводить дифференциальную диагностику между ФФТС и моноамниотической беременностью, так как в связи с выраженным маловодием у плода-донора амниотическая перегородка четко не визуализируется. Для этого необходимо оценить двигательную активность плода (сгибание, разгибание конечностей). При ФФТС движения плода будут резко ограничены.

В табл. 3 представлена оценка степени тяжести ФФТС в соответствии с классификацией R. Quintero [19].

Т а б л и ц а 3. Оценка степени тяжести ФФТС по R. Quintero (1999)

Степень тяжести ФФТС	Критерии УЗ-диагностики	
	Плод-донор	Плод-реципиент
I	Маловодие, мочевого пузыря визуализируется	Многоводие
II	Маловодие, мочевого пузыря не визуализируется	Многоводие, большие размеры мочевого пузыря
III	Изменение показателей доплерометрии плодов (повышение индекса резистентности в артерии пуповины и снижение индекса резистентности в срединной мозговой артерии)	Изменение показателей доплерометрии плодов (повышение индекса резистентности в артерии пуповины, ретроградный кровоток в венозном протоке)
IV	Выраженные гемодинамические нарушения, stuck-twin	Выраженные гемодинамические нарушения по данным доплерометрии, водянка, гидроперикард, кардиомегалия
V	Гибель плода	

При диагностированном ФФТС могут быть использованы следующие современные методы коррекции: фетоскопическая лазерная коагуляция анастомозов плаценты, лазерная коагуляция пуповины плода акардиус-акраниус или погибшего внутриутробно плода-донора, а также амниоредукция (амниоредукция).

Методом выбора при лечении ФФТС является операция фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов, которую выполняют в сроках гестации 16–25 недель [2, 14, 21]. Принцип лечения заключается в лазерной коагуляции всех плацентарных сосудистых анастомозов между донором и реципиентом.

Показанием к операции фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов является ФФТС I–IV степени. Наилучшие результаты достигаются при раннем оперативном лечении при ФФТС I–II степени. При ФФТС I степени прогноз благоприятен для обоих плодов, при II степени – для одного. При развитии ФФТС III степени прогноз сомнителен из-за высокого риска неврологических осложнений у плодов. При ФФТС IV степени прогноз является неблагоприятным для обоих плодов [2, 14, 21].

Противопоказаниями к фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов являются: срок беременности до 16 недель или более 25 недель; ВПР одного или обоих плодов; подозрение или наличие хориоамнионита или внутриутробное инфицирование (ВУИ); угроза прерывания беременности; преждевременное излитие околоплодных вод; отслойка или предлежание плаценты; острые инфекционные заболевания и тяжелая экстрагенитальная патология у беременной.

При декомпенсированном состоянии плодов (нулевой или отрицательный диастолический кровоток в артерии пуповины или в венозном протоке) фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов не эффективна.

Необходимое оборудование для проведения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов: фетоскоп с комплектом тубусов и оптики; ультразвуковой диагностический аппарат среднего или экспертного класса; хирургический лазерный аппарат с длиной волны 1,064 мкм, мощностью 50–60 Вт, набором разовых головолоконных световодов диаметром 600 мкм.

Предоперационная подготовка к фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов включает обязательное выполнение следующих мероприятий:

получение информированного согласия женщины на операцию, которое оформляется письменно;

инструментальное (КТГ, УЗИ с доплерометрией) и лабораторное обследование женщины (общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови, коагулограмма, ЭКГ, мазок на флору, анализ крови на torch-инфекции и ПЦР, посев на бактериологическое исследование из влагалища);

санацию очагов инфекции при их наличии;

предоперационный осмотр акушера-гинеколога, а также (по показаниям) анестезиолога-реаниматолога, смежных специалистов.

Всем беременным перед фетоскопией проводят медикаментозную профилактику невынашивания беременности, которую продолжают во время операции и по ее окончании. С этой целью в день операции применяют гинипрал в дозе 10–20 мкг (2–4 мл в сутки). Начинают с введения 10 мкг внутривенно болюсно, далее продолжают инфузию со скоростью 0,3 мкг/мин. За 30 мин до применения гинипрала внутривенно вводят 40 мг верапамила. Внутривенный токолиз гинипралом продолжают 2–3 дня, после чего переходят на энтеральное введение. Во время операции с помощью шприцевого дозатора внутривенно со скоростью 1,0 г/ч вводят от 10 до 30 мл 25%-ного раствора сульфата магния. Для профилактики ВУИ интраоперационно однократно вводят антибиотик цефалоспоринового ряда – цефтриаксон (2,0 г).

Методом выбора обезболивания фетоскопии является местная инфильтрационная анестезия мягких тканей передней брюшной стенки. Для этого перед введением фетоскопа вводят от 10 до 20 мл 2%-ного раствора лидокаина. Возможно применение и эпидуральной анестезии.

Альтернативной тактикой ведения беременности с ФФТС в сроке гестации после 25 недель или при отсутствии условий для выполнения фетоскопической лазерной коагуляции плацентарных анастомозов является амниодренирование (амниоредукция). Его применение способствует уменьшению внутриматочного давления и улучшению состояния кровотока как у плода-донора, так и у плода-реципиента, что способствует дальнейшему вынашиванию беременности. Для выполнения амниодренирования необходимы: УЗИ-аппарат, игла (20G), шприц (50 мл).

Оценку эффективности лечения ФФТС проводили по следующим критериям: визуализация мочевого пузыря у обоих плодов; нормализация объема околоплодных вод (ликвидация маловодия у плода-донора и многоводия у плода-реципиента); исчезновение признаков сердечной недостаточности у плодов по данным доплерометрии (нормализация показателей доплерометрии в артерии пуповины, венозном протоке и срединной мозговой артерии).

Внутриутробная малоинвазивная коррекция (фетоскопическая лазерная коагуляция плацентарных анастомозов и амниодренирование) ФФТС была применена у 19 пациенток с ФФТС (группа 1). Группу сравнения составили 7 пациенток с ФФТС (группа 2), при лечении которых использовались только консервативные методы, включающие коррекцию фетоплацентарной недостаточности, согласно действующим клиническим протоколам (2007). Пациентки группы 2 имели противопоказания к инвазивной коррекции (урогенитальные инфекции). Группу контро-

ля составили 28 беременных с МХ двойней без ФФТС. Перинатальные исходы беременности представлены в табл. 4.

Т а б л и ц а 4. Перинатальные исходы беременности в группах

Группа беременных женщин	Продолжительность беременности (M ± m), сут	Масса плодов при рождении (M ± m), г	Выживаемость плодов, %
МХ двойни без ФФТС (контроль)	242,2 ± 12,33	2292 ± 299,7	96,4
Группа 1	217,9 ± 7,82*	1358,5 ± 161,42*	70*
Группа 2	146,4 ± 7,61***	595 ± 84,3***	12***

П р и м е ч а н и е. Статистически значимые различия: * – между группой 1 и контролем, $P < 0,05$, *t*-тест; ** – между группами 1 и 2, $P < 0,001$, *t*-тест.

Средняя продолжительность беременности в группе 1 была выше, чем в группе 2, в 1,5 раза ($P < 0,01$). Средняя масса плодов в группе 2 была в 1,5 раза ниже, чем в группе 1, и составила $595,0 \pm 84,3$ и $1358,5 \pm 161,42$ г соответственно ($P < 0,01$). Выживаемость в группе контроля и группе 1 составила 96,4 и 70% соответственно, что было значительно выше, чем в группе 2, – 12% ($P < 0,001$).

По результатам наших исследований, выживаемость после амниодренирования составила 63,6%. Эффективность амниодренирования, по данным научной литературы, составляет 30–83%. Колебания результативности амниодренирования обусловлены различной степенью тяжести ФФТС [9, 14].

При использовании только консервативных методов лечения (группа 2) у 5 (71,4%) пациенток с тяжелой формой ФФТС наблюдался самопроизвольный выкидыш в связи с выраженным многоводием в сроке 18–20 недель гестации.

В двух случаях после фетоскопической лазерной коагуляции пуповины зарегистрирована внутриутробная гибель второго плода на 3-и сутки. Причиной гибели плодов явились врожденные пороки сердца, которые не были диагностированы пренатально, а были выявлены при патологоанатомическом исследовании плодов.

Таким образом, тактика ведения многоплодной беременности, дискордантной в отношении ВПР, зависит от степени выраженности порока, гестационного возраста плода и вида хориальности плаценты. При МХ двойне предпочтительно использовать лазерную коагуляцию пуповины плода с ВПР при фетоскопии [9, 14].

Выводы

1. Частота многоплодной беременности в Республике Беларусь увеличилась с 7,6‰ в 2000 г. до 9,6–10,4‰ в 2010–2011 гг., что может быть связано с развитием вспомогательных репродуктивных технологий в последние годы.

2. В 2000–2007 гг., по данным РНПЦ «Мать и дитя», перинатальная гибель плодов при МХ двойне регистрировалась в 2,1 раза достоверно чаще, чем при БХ двойне (10,6 и 5% соответственно, $P < 0,05$), в структуре перинатальных потерь у беременных МХ и БХ двойнями антенатальная гибель плодов составляла 50 и 30%, интранатальная – 29 и 50%, ранняя неонатальная – 21 и 20% соответственно.

3. При МХ двойнях достоверно чаще, чем при БХ, регистрировались следующие осложнения беременности: преждевременные роды, самопроизвольные выкидыши, ХФПН и ХВГП, ЗВУР плода, ФФТС.

4. Основными недостатками оказания медицинской помощи беременным с двойней, по результатам ретроспективного анализа, является поздняя диагностика хориальности плаценты, внутриутробных инфекций, врожденных пороков развития плода, ФФТС, ХФПН и ЗВУР, а также отсутствие регулярного контроля за внутриутробным состоянием плодов и коррекции осложнений в динамике беременности.

5. При ведении многоплодной беременности необходимо учитывать вероятность развития перинатальных осложнений, а также возможности современной инструментальной диагностики и внутриутробных малоинвазивных методов коррекции антенатальной патологии (фетоскопиче-

ской лазерной коагуляции плацентарных анастомозов или пуповины, амниодренирования). В алгоритм обследования беременных необходимо включать определение вида хориальности плаценты в 11–12 недель гестации, динамический контроль за показателями фетометрии и доплерометрии фетоплацентарной гемодинамики, уровнем околоплодных вод, а также обследование на ВПР и ВУИ.

6. По результатам наших исследований применение внутриутробных оперативных методов коррекции ФФТС позволяет увеличить срок вынашивания беременности в 1,5 раза, а также способствует увеличению массы тела новорожденных в 2,3 раза и повышению их выживаемости в 5 раз.

7. Диагностику и лечение антенатальных осложнений, а также родоразрешение женщин при многоплодной беременности двойней целесообразно проводить в перинатальных центрах III и IV уровней, оснащенных необходимым оборудованием.

Литература

1. Bryan E. M. // Diploma in Fetal Medicine: Course Manual. London, 2000. Vol. 2. P. 39.
2. Fox Caroline E., Chan Ben C., Cox Phillip et al. // Diagn. Ther. 2009. Vol. 26. P. 115–118.
3. Cetin I., Alvino G. // Trophoblast Res. 2009. Vol. 23. P. 77–82.
4. Cetin I., Sparks J. W. // Neonatal Nutrition and Metabolism. 2005. N 2. P. 58.
5. Guttmacher A., Nichols B. // Birth Defects. 1967. Vol. 3. P. 3–9.
6. Keith L., Papiernick E., Keith D. M. // Multiple Pregnancy: Epidemiology, Gestation and Perinatal Outcome. Camforth, 1995.
7. Murphy K. Multiple pregnancy. London, 1995. P. 218–230.
8. Murphy K. // Diploma in Fetal Medicine: Course manual. London, 2000. Vol. 2.
9. Monteagudo A., Timor-Tritsch I. E. // J. Reprod. Med. 2000. Vol. 45. P. 476–480.
10. Nicolaides K. // Ультразвуковое исследование беременности в 11–13 недель беременности. СПб., 2008. – 142 с.
11. Nicolaides K., Sebire N., Snijders R. // The diagnosis of Fetal Abnormalities. London, 1999. P. 149–175.
12. Petrikovsky B. // Fetal Disorders. Diagnosis and Management. London, 1998. P. 223–245.
13. Sebire N., Snijders A. et al. // Brit. J. Obstet. Gynaecol. 1997. Vol. 104. P. 1203–1207.
14. Tcricov M. // Frauenart. 2009. Vol. 50, N 2. P. 121–128.
15. Tcricov M., Kharkevich O., Steetskamp J. et al. // Eur. Surg. Res. 2010. N 45. P. 45–49.
16. Tessen J., Zlatnik F. // Obstet. and Gynecol. 1991. Vol. 77. P. 832–834.
17. Winn H., Gerber W. Maternal-Fetal Medicine. Carnforth, 2000. P. 39–47.
18. McGuire W. // BMJ. 2004. Vol. 329. P. 1277–1280.
19. Quintero R. A., Morales W. J., Allen M. H. et al. // J. Perinatol. 1999. Vol. 19. P. 550–555.
20. Schröder H. J., Tchirikov M. // Am. J. Obstet. Gynecol. 2006. Vol. 195. P. 302–305.
21. Senat M. V., Deprest J., Boulvain M. et al. // N. Engl. Med. 2004. Vol. 351, N 1. P. 36–44.
22. Океанов А. Е., Дардынская И. В. Применение статистических методов в биомедицинских исследованиях. Минск, 2001. – 82 с.
23. Харкевич О. Н., Шостак В. А., Малевич Ю. К. Организация медицинской помощи беременным при фетоплацентарной недостаточности. Минск, 2006. – 157 с.
24. Клинические протоколы динамического наблюдения при физиологически протекающей беременности, ведения физиологических родов, диагностики и лечения болезней беременных, рожениц, родильниц, гинекологических болезней // Приказ Мин-ва здравоохранения Республики Беларусь от 5 февр. 2007 г. № 66. Гл. 3: Диагностика и лечение болезней беременных, рожениц, родильниц. С. 34–165.
25. Харкевич О. Н., Семенчук В. Л., Клецький С. К., Сахаров И. В. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2011. № 3. С. 35–43.
26. Харкевич О. Н., Семенчук В. Л. // Репродуктивное здоровье. 2011. № 6. С. 35–48.
27. Харкевич О. Н., Белуга М. В., Чириков М. // Мед. новости. 2009. № 15. С. 53–55.

O. N. KHARKEVICH, V. L. SEMENCHUK

PLURAL PREGNANCY: MODERN APPROACHES TO MAINTAINING TACTICS AND PRENATAL CORRECTION OF ANTENATAL PATHOLOGY

Summary

Features of the course and pregnancy outcomes at monohorionic and bihorionic twins are studied according to the retrospective analysis in 339 patients, prospective – in 54 pregnant women with monohorionic twins. Authentic distinctions of the duration of pregnancy, the average mass of newborns and perinatal outcomes at monohorionic and bihorionic of twins are revealed. From the results of the retrospective analysis, prospective inspection and treatment of patients with twin pregnancy, the main approaches and principles of maintaining twin pregnancy were developed and introduced.

УДК 546.15 + 612.017.1]+ 616.441-006.6-089]:[612.017.1:575.857]

Т. А. МИТЮКОВА¹, Т. А. ЛЕОНОВА¹, Т. Ю. ПЛАТОНОВА¹, Н. М. ОКУЛЕВИЧ¹,
М. Л. ЛУЩИК¹, В. М. ДРОЗД², С. С. КОРЫТЬКО²

ЧАСТОТА ВЫЯВЛЕНИЯ ТИРЕОИДНЫХ АУТОАНТИТЕЛ У ПАЦИЕНТОВ, ПРООПЕРИРОВАННЫХ ПО ПОВОДУ КАРЦИНОМЫ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск,

²Республиканский центр медицинской реабилитации и бальнеолечения, Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 10.10.2011)

Введение. Дифференциальная диагностика заболеваний щитовидной железы (ЩЖ) включает определение аутоантител к антигенам ЩЖ. При подозрении на аутоиммунный тиреоидит (АИТ), как правило, тестируют антитела к тиреоглобулину (АТ-ТГ), антитела к микросомальной фракции либо к тиреопероксидазе [1]. В последнее время предпочтение отдается определению антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) как наиболее информативному показателю. Известно, что ТПО, являясь ферментом, интегрированным в мембраны тиреоцитов, поступает в кровь только при нарушении целостности клеточных мембран, т. е. в норме этот антиген в крови практически отсутствует [2]. Показано, что повышенные уровни АТ-ТПО наблюдаются у пациентов с тиреоидитом Хашимото (до 90% случаев), с болезнью Грейвса (до 80% случаев), а также у больных другими аутоиммунными заболеваниями [2].

Тиреоглобулин – это гликопротеин, образующий основную массу коллоида ткани ЩЖ, где происходит синтез тиреоидных гормонов. Его поступление в кровяное русло происходит постоянно в процессе секреции тиреоидных гормонов, нормальное содержание ТГ в сыворотке крови составляет не более 70 нг/мл. Повышенные уровни антител к данному антигену определяются также при различных аутоиммунных заболеваниях. В то же время АТ-ТГ является более опухолеспецифичным, чем АТ-ТПО. Если АТ-ТГ появляются на фоне узлов ЩЖ, то это является фактором риска развития папиллярного рака, независимо от предшества АИТ или присутствия АТ-ТПО [3–5]. Патогенез онкологических новообразований ЩЖ имеет сложную природу и, возможно, включает в себя механизмы аутоиммунизации. За последние годы накоплены данные о связи между тиреоидитом Хашимото и дифференцированным раком ЩЖ (ДРЩЖ) [6]. По современным представлениям, у пациентов с АИТ риск развития папиллярной карциномы более высокий, чем у лиц без аутоиммунной отягощенности [6].

В настоящее время мониторинг пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ, наряду с определением АТ-ТГ предусматривает определение уровня ТГ – маркера опухолевой прогрессии [7–9]. Высокочувствительный анализ уровня ТГ является надежным диагностическим подходом при оценке риска возможных рецидивов тиреоидного рака. Однако присутствие АТ-ТГ затрудняет интерпретацию данных по определению ТГ и косвенно свидетельствует о наличии циркулирующего в крови антигена [10–12]. Многие авторы считают, что присутствующие в крови АТ-ТГ являются суррогатным маркером тиреоидного рака [6, 10, 11]. Исходя из этого, к группе низкого риска относят только пациентов с негативными результатами по определению АТ-ТГ и минимальным уровнем ТГ. Приведенные данные объясняют особый интерес к проблеме носительства АТ-ТГ у лиц, прооперированных по поводу ДРЩЖ.

В отечественной литературе представлены данные по скринингу тиреоидных аутоантител у детей, подростков и взрослых, проживающих на территориях, загрязненных радионуклидами в результате аварии на ЧАЭС [13–15], однако эти публикации почти не затрагивают вопросов, связанных с диагностикой и лечением выявленных заболеваний. Следует отметить, что проблема носительства тиреоидных аутоантител при ДРЩЖ активно дискутируется в зарубежных публикациях [6–12], однако недостаточно освещается в отечественной литературе, несмотря на важное прогностическое значение данного показателя. С научной точки зрения интересно оценить наличие тиреоидных антител у пациентов с тотальной тиреоидэктомией (ТТЭ), когда уровень циркулирующих в крови антигенов ЩЖ (ТПО и ТГ) существенно ниже, чем у лиц с сохранной ЩЖ.

Цель работы – оценить частоту диагностических уровней АТ-ТГ и АТ-ТПО у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ, и сравнить распространенность антителеносительства в этой группе пациентов с данными скрининга.

Материалы и методы исследования. Основную группу составили пациенты, прооперированные (ТТЭ) по поводу ДРЩЖ. Комплексное лечение включало радиоiodтерапию (РИТ) по показаниям и постоянную супрессивную терапию препаратами левотироксина (L-T4). Общее количество пациентов – 387 человек, из них 264 (68,2%) женщины и 123 (31,8%) мужчины. Средний возраст ($X \pm Sd$) на момент обследования – $26,82 \pm 4,01$ года (18–43 лет), на момент операции – $14,50 \pm 5,88$ года, средняя продолжительность лечения – $12,32 \pm 4,72$ года. Средняя доза ($X \pm Sd$) L-T4 – $2,78 \pm 0,56$ мкг/кг массы тела. В анализ были включены данные обследования при последнем визите (2010 г.). Показано, что 75% пациентов имели необходимый уровень супрессии тиреотропного гормона (ТТГ $< 0,5$ мМЕ/л), 18% – ТТГ в пределах нормы и 7% – некомпенсированный послеоперационный гипотиреоз.

Группа сравнения была образована в результате сплошного скрининга жителей ряда населенных пунктов Брестской, Гомельской и Минской областей республики. Общее количество обследованных – 1813 человек, из них 1418 (78,2%) женщин и 396 (21,8%) мужчин. Средний возраст на момент обследования – $28,15 \pm 7,56$ года (18–43 года).

В основу скрининга патологии ЩЖ было положено ультразвуковое исследование (УЗИ). Гиперплазией считался объем ЩЖ более 18 мл у женщин и более 25 мл у мужчин. Как узел ЩЖ расценивали очаговое образование в проекции железы размером более 5 мм, независимо от его акустических характеристик (эхоструктура, экзогенность, наличие капсулы, качество контуров). В условиях скрининга ставили предварительный диагноз «АИТ» на основании характерной ультразвуковой картины: неравномерное диффузное снижение экзогенности ткани ЩЖ, присутствие гиперэхогенной тяжистости, утолщение капсулы независимо от объема ЩЖ [16, 17]. (Впоследствии диагноз верифицировали с учетом наличия антител к ТПО и/или ТГ.) Нами представлены первичные данные, полученные на основе УЗИ-скрининга.

В соответствии с протоколом мониторинга пациентов с ДРЩЖ [18] обследование включало клинический осмотр эндокринологом, УЗИ области шеи и регионарных лимфатических узлов, определение показателей тиреоидного статуса: тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (св. Т4), свободного трийодтиронина (св. Т3), ТГ и АТ-ТГ в сыворотке крови. Дополнительно, с учетом задач данного исследования, методом случайных чисел была сформирована выборка (50% от общего числа пациентов) для определения АТ-ТПО.

При скрининге населения всем обследованным проводили определение показателей, обязательных для дифференциальной диагностики заболеваний ЩЖ: ТТГ, св. Т4 и АТ-ТПО. Дополнительные показатели – уровни ТГ, АТ-ТГ и содержание йода в моче – определяли у 50% от общего числа обследованных, включая здоровых и больных (выборка сформирована методом случайных чисел).

УЗИ области шеи и регионарных лимфатических узлов у прооперированных пациентов и ЩЖ и регионарных лимфатических узлов у лиц в группе сравнения проводили с помощью прибора Hitachi EUВ-405 (датчик 7,5 МГц) по общепринятым методикам в положении лежа.

Содержание йода в моче определяли спектрофотометрическим церий-арсенитным методом, рекомендованным ВОЗ и ICCIDD [19].

Уровень ТГ в сыворотке крови оценивали радиоиммунным методом с использованием наборов ХОП ИБОХ НАН Беларуси. Референтные анализы выборочно дублировали на закрытых автоматических анализаторах Roche Elecsys (Швейцария) и Beckman Coulter Access (США). Уровни ТТГ, св. Т4, АТ-ТГ и АТ-ТПО определяли ИФА-методом с использованием наборов DRG (США); св. Т3 – с использованием комплекта оборудования для ИФА-анализа фирмы «Диалаб» (Австрия). Значения АТ-ТГ и АТ-ТПО свыше 100 МЕ/мл учитывали как диагностические, исходя из нормативов, указанных в наборах.

Статистический анализ [20] был выполнен в приложении Microsoft Office Excel 2003. Применялись непараметрические методы исследований, поскольку в одних случаях была большая разница дисперсий, в других – распределение было отлично от нормального. Для сравнения двух выборок использовали *t*-критерий Манна–Уитни с применением поправки Йейтса для обеспечения более точного результата; для сравнения нескольких – критерий Крускала–Уоллиса; при непараметрическом множественном сравнении для выборок с различным объемом – критерий Даннета с использованием поправки при большом числе совпадающих рангов. Проводили корреляционно-регрессионный анализ. Для сравнительной оценки долей использовали непараметрический критерий χ^2 с применением поправки Йейтса. Результаты представлены в виде долей отклонений (%), медиан и перцентилей [25; 75].

Результаты и их обсуждение. Скрининговое обследование населения Брестской, Гомельской и Минской областей выявило (по данным УЗИ) узловую патологию у 10,8% жителей, АИТ – у 11,7%. Как показано на рис. 1, распространенность диагностических титров АТ-ТГ в популяционных исследованиях составляла в среднем 22,0%, при этом 25,0% – среди женщин и 12,0% – среди мужчин. Распространенность диагностических значений АТ-ТПО составляла соответственно 8,0; 9,0 и 7,0%. У лиц с диагнозом «АИТ» (по данным УЗИ) частота повышенных значений АТ-ТГ составляла в среднем 62,0%, АТ-ТПО – 42,0%. У лиц с диагнозом «узловой зоб» частота встречаемости аутоантител не отличалась от популяционной. Группа условного контроля была

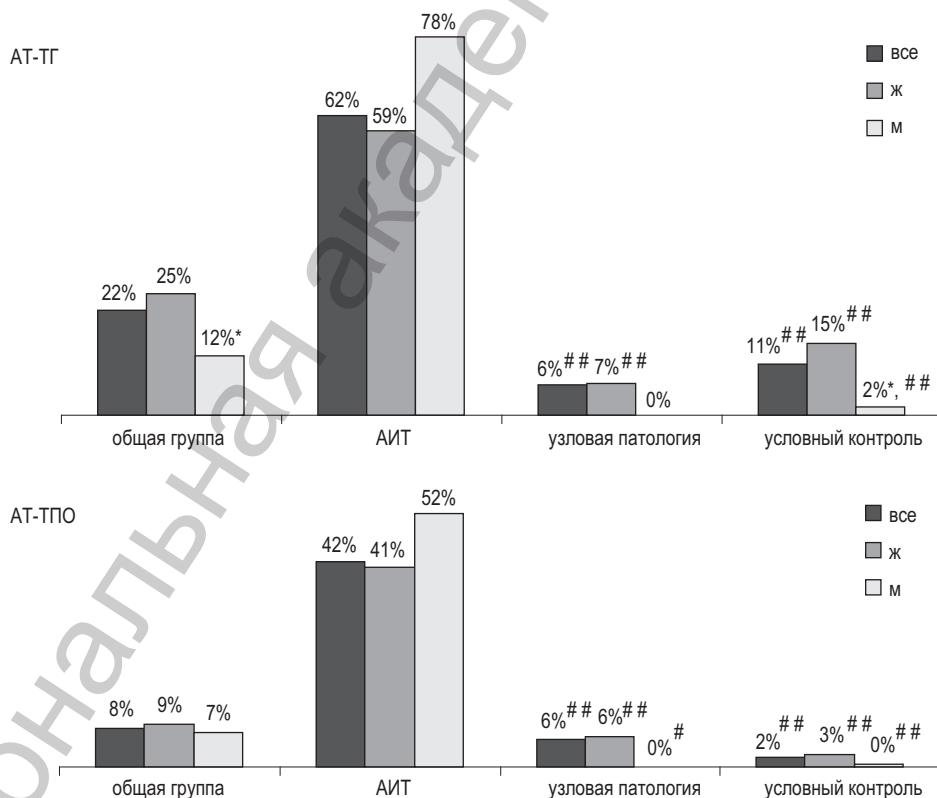


Рис. 1. Частота встречаемости диагностических титров тиреоидных аутоантител у лиц, обследованных на скрининге (Гомельская, Брестская и Минская области). Достоверность отличий: между мужчинами и женщинами (* – $P < 0,05$); от группы АИТ (# – $P < 0,05$; ## – $P < 0,0001$)

сформирована после исключения из общей когорты тех пациентов, у которых по данным УЗИ были диагностированы заболевания ЩЖ. В этой группе частота диагностических значений АТ-ТГ составила в среднем 11,0%, АТ-ТПО – 2,0%. Установлены достоверные отличия между мужчинами и женщинами по частоте диагностических значений АТ-ТГ в общей группе обследованных, а также в группе условного контроля ($P < 0,05$). Показано, что у обследованных с диагнозом «АИТ» достоверно чаще встречаются повышенные уровни АТ-ТГ и АТ-ТПО по сравнению с практически здоровыми лицами (условный контроль) и лицами с узловой патологией (рис. 1).

Далее по результатам скрининга был проведен анализ взаимосвязи между уровнем тиреоидных аутоантител и другими показателями тиреоидного статуса (табл. 1). Информация по йодной обеспеченности (йод в моче) была включена в исследование в связи с тем, что этот фактор может существенно влиять на особенности тиреоидного статуса, включая антителообразование [19].

Т а б л и ц а 1. Показатели тиреоидного статуса и содержание йода в моче у лиц из общей группы обследованных на скрининге (Гомельская, Брестская и Минская области) (медиана [25; 75])

Группа	АТ-ТГ, МЕ/мл	АТ-ТПО, МЕ/мл	ТТГ, мМЕ/л	ТГ, нг/мл	Йод, мкг/л
1. Общая	30,90 [14,0; 121,6] (n = 906)	6,94 [2,9; 19,6] (n = 1813)	1,61 [0,95; 2,57] (n = 1813)	6,95 [3,18; 13,40] (n = 907)	178 [127; 260] (n = 906)
2. Женщины	33,58 [22,2; 99,7] (n = 709)	7,91 [3,2; 22,3] (n = 1418)	1,62 [0,94; 2,66] (n = 1418)	6,95 [3,06; 13,90] (n = 708)	175 [126; 260] (n = 708)
3. Мужчины	26,10 [0,7; 48,1] (n = 182)	4,63 [2,3; 10,5] (n = 395)	1,50 [0,94; 2,34] (n = 395)	7,29 [4,12; 11,60] (n = 183)	190 [140; 155] (n = 183)
4. АИТ	137,78 [59,1; 228,4] (n = 107)	84,90 [17,4; 231,9] (n = 213)	2,72 [1,42; 4,78] (n = 213)	5,01 [0,17; 13,98] (n = 107)	175 [135; 282] (n = 107)
5. Узловая патология	34,31 [12,3; 58,2] (n = 97)	6,82 [3,1; 17,1] (n = 195)	1,45 [0,89; 2,37] (n = 195)	7,98 [5,81; 10,67] (n = 97)	160 [120; 300] (n = 97)
6. Условный контроль	27,99 [10,7; 89,6] (n = 580)	5,90 [2,8; 19,9] (n = 1160)	1,54 [0,94; 2,40] (n = 1160)	7,45 [3,62; 13,12] (n = 580)	178 [135; 251] (n = 580)
Критерий Манна–Уитни	$P_{2,3} < 0,01$ (z = 2,69)	$P_{2,3} < 0,05$ (z = 5,43)			
Критерий Крускала–Уоллиса	$P_{4,5,6} < 0,0001$ (H = 70,47)	$P_{4,5,6} < 0,0001$ (H = 238,64)	$P_{4,5,6} < 0,0001$ (H = 87,19)	$P_{4,5,6} < 0,25$ (H = 2,10)	$P_{4,5,6} < 0,5$ (H = 0,61)
Критерий Даннета	$P_{2,3} < 0,01$ (Q = 2,69); $P_{4,5} < 0,001$ (Q = 15,93); $P_{4,6} < 0,001$ (Q = 9,28)	$P_{2,3} < 0,05$ (Q = 5,43); $P_{4,5} < 0,001$ (Q = 39,78); $P_{4,6} < 0,001$ (Q = 17,35)	$P_{4,5} < 0,001$ (Q = 28,66); $P_{4,6} < 0,001$ (Q = 10,31)		

Как видно из табл. 1, во всех обследованных группах отмечается удовлетворительная йодная обеспеченность, медиана содержания йода в моче более 100 мкг/л. Показано, что медианы АТ-ТГ и АТ-ТПО достоверно выше у женщин, чем у мужчин. Как и следовало ожидать, наиболее высокие медианы АТ-ТГ и АТ-ТПО наблюдаются при АИТ на фоне достоверно повышенного уровня ТТГ (по сравнению с группой узловой патологии и группой условного контроля). Медиана ТГ является наиболее низкой у пациентов с АИТ по сравнению с лицами с узловой патологией и группой условного контроля. При узловой патологии медиана содержания йода в моче несколько ниже, чем у лиц с АИТ и в группе условного контроля, но остается в пределах нормальной йодной обеспеченности.

Корреляционный анализ показывает достоверную взаимосвязь значений АТ-ТГ и АТ-ТПО с уровнями ТТГ и ТГ, что проявляется в общей группе и в группе пациентов с АИТ. Эти данные

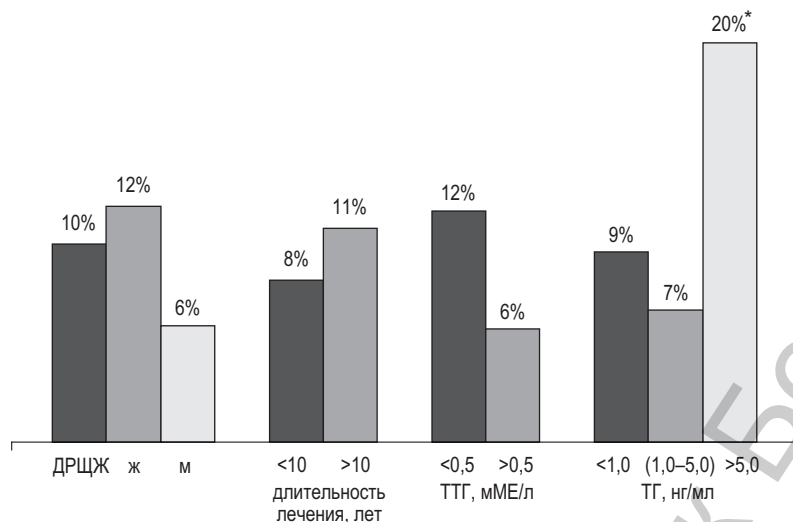


Рис. 2. Частота встречаемости диагностических значений АТ-ТГ у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ.
* – достоверность отличий ($P < 0,05$) от группы с ТГ (1,0–5,0 нг/мл)

подтверждают связь антителообразования с гипотиреозом при АИТ, а также роль ТГ как основного циркулирующего антигена для выработки аутоантител.

На рис. 2 показана частота диагностических уровней АТ-ТГ у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ. Следует отметить, что у пациентов этой группы не было выявлено диагностических уровней АТ-ТПО (> 100 МЕ/мл). Частота повышенных значений АТ-ТГ в общей группе пациентов с ДРЩЖ составляла 10,0%, у женщин – 12,0, у мужчин – 6,0%, что сопоставимо с распространенностью антител в группе условного контроля. Обнаружение антител в зависимости от длительности лечения (более 10 лет и менее 10 лет) не выявило достоверных отличий. В группе со стабильной супрессией ТТГ (ТТГ $< 0,5$ мМЕ/л) отмечена тенденция к повышению частоты антителоносительства – 12,0% по сравнению с 6,0% у лиц без супрессии ТТГ. Наиболее существенные отличия по частоте АТ-ТГ были отмечены в зависимости от уровня ТГ. Показано, что максимальная частота выявления диагностических значений АТ-ТГ (20%) наблюдается в группе пациентов с повышенными уровнями ТГ (> 5 нг/мл), что достоверно превышает частоту показателя у лиц с более низкими значениями ТГ (рис. 2).

Согласно руководствам Европейской тиреоидной ассоциации (ЕТА) и Американской тиреоидной ассоциации (АТА), посвященным мониторингу пациентов с карциномой ЩЖ, у лиц с удаленной тиреоидной тканью на фоне супрессивной терапии L-T4 уровень ТГ не должен превышать 1 нг/мл. Последнее свидетельствует об отсутствии метастазов и рецидивов основного заболевания [7, 21]. Принятый в Беларуси протокол мониторинга пациентов с карциномой ЩЖ, основанный на мировых стандартах, предусматривает необходимость проведения радиоiodдигностики для исключения возобновления опухолевого роста при ТГ > 2 нг/мл [18, 22].

У лиц с повышенными значениями ТГ ($> 5,0$ нг/мл) наблюдается существенное нарастание медианы АТ-ТГ (табл. 2). Данная тенденция подкрепляется наличием достоверной корреляционной связи между уровнями АТ-ТГ и ТГ. Медианы АТ-ТГ достоверно выше у пациентов с достигнутой супрессией ТТГ, а также с низкими ($< 1,0$ нг/мл) и повышенными значениями ТГ ($> 5,0$ нг/мл) по сравнению с лицами группы условного контроля (см. табл. 1, 2).

Таким образом, частота встречаемости диагностически значимых величин АТ-ТГ у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ, имеет тесную связь с уровнем циркулирующего в крови ТГ, что подтверждается данными литературы [6]. Очевидно, наличие высоких значений АТ-ТГ у пациентов с карциномой ЩЖ, так же как и наличие повышенных уровней ТГ, должно настораживать в плане возможного прогрессирования основного заболевания. Оценка риска рецидивов и метастазов рака ЩЖ на фоне носительства АТ-ТГ в отечественных работах не проводилась, однако обзор зарубежных публикаций показывает, что тенденция к повышению уровня АТ-ТГ свидетельствует об отсутствии ремиссии основного заболевания [6].

Т а б л и ц а 2. Показатели тиреоидного статуса у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ (медиана [25; 75])

Группа	АТ-ТГ, МЕ/мл	АТ-ТПО, МЕ/мл	ТТГ, мМЕ/л	ТГ, нг/мл
1. Общая	33,70 [22,7; 51,3] (n = 387)	7,09 [4,2; 11,5] (n = 193)	0,19 [0,14; 0,66] (n = 387)	0,65 [0,36; 1,70] (n = 387)
2. ТТГ < 0,5 мМЕ/л	34,50 [23,1; 55,5] (n = 279)	7,10 [4,2; 17,1] (n = 140)	0,17 [0,12; 0,19] (n = 279)	0,63 [0,32; 1,70] (n = 279)
3. ТТГ > 0,5 мМЕ/л	31,10 [21,6; 44,7] (n = 108)	7,40 [4,2; 8,8] (n = 54)	3,56 [1,21; 21,50] (n = 108)	0,66 [0,26; 1,50] (n = 108)
4. ТГ < 1,0 нг/мл	34,85 [23,2; 51,9] (n = 233)	6,63 [3,4; 8,8] (n = 117)	0,18 [0,14; 0,65] (n = 233)	0,42 [0,26; 0,60] (n = 233)
5. ТГ = 1,0–5,0 нг/мл	30,90 [20,5; 44,2] (n = 97)	9,47 [4,2; 17,3] (n = 48)	0,19 [0,16; 0,55] (n = 97)	1,70 [1,30; 2,70] (n = 97)
6. ТГ > 5,0 нг/мл	40,37 [17,4; 65,5] (n = 44)	6,93 [5,8; 11,8] (n = 22)	0,19 [0,14; 0,52] (n = 44)	8,51 [6,50; 12,69] (n = 44)
Критерий Крускала–Уоллиса	$P_{4,5,6} < 0,0001$ (H = 108,03)			
Критерий Даннета	$P_{4,5} < 0,05$ (Q = 2,10); $P_{4,6} < 0,0001$ (Q = 13,44); $P_{5,6} < 0,0001$ (Q = 20,50)			

В новейших зарубежных исследованиях с использованием высокочувствительных наборов для определения ТГ были продемонстрированы результаты динамического наблюдения за пациентами с ДРЩЖ, имевшими следующие исходные уровни ТГ: 1) < 0,1 нг/мл; 2) 0,11–0,5 нг/мл; 3) 0,51–1,0 нг/мл. Авторы пришли к выводу, что базальный уровень ТГ < 0,15 нг/мл является надежным предиктором отсутствия рецидивов в 98,6% случаев [23]. Показано также, что присутствие в крови АТ-ТГ при определении ТГ может давать ложноотрицательные результаты, частота которых в зависимости от используемых коммерческих систем варьируется от 35 до 62% [24]. Авторы подчеркивают, что ошибки могут приводить к неправильной оценке риска у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ. В нашей практике мы неоднократно убеждались в том, что коммерческие наборы имеют различную чувствительность и далеко не все из них подходят даже для определения концентраций ТГ < 1,0 нг/мл. Из числа доступных на рынке Беларуси наборов следует отметить достаточно высокую чувствительность «ТГ- ИРМА» производства ХОП ИБОХ. Наиболее адекватны закрытые автоматические системы, например Roche Elecsys или Beckman Coulter Access, однако эти анализы являются более дорогостоящими.

Обращает на себя внимание сопоставимая частота носительства диагностических значений АТ-ТГ в группе условного контроля (11,0%) и в группе пациентов с ДРЩЖ (10,0%). При этом в первой группе медиана уровня ТГ составляет 7,39 нг/мл, а во второй – 0,65 нг/мл, что существенно ниже. Резкое нарастание частоты АТ-ТГ (20,0%), наблюдающееся у пациентов с ДРЩЖ на фоне повышенных значений ТГ (> 5,0 нг/мл), вполне объяснимо с точки зрения ответной реакции иммунной системы на присутствие антигена в крови. Труднее объяснить наличие АТ-ТГ (9,0%) у лиц с минимальными уровнями ТГ (< 1,0 нг/мл). В литературе есть упоминания о том, что после тиреоидэктомии носительство АТ-ТГ может наблюдаться многие годы без убедительных доказательств персистенции заболевания. Это можно объяснить тем, что сохранившиеся после операции цервикальные лимфатические узлы инициируют аутоиммунный ответ на ТГ или долговременный рефлекс – «память» о ТГ в антиген-компетентных клетках [25, 26].

Безусловно, носительство тиреоидных аутоантител – это лишь частный вопрос в рамках проблемы сенсibilизации иммунной системы у пациентов с ДРЩЖ. В работе Т. В. Воронцовой и др. [27] было показано влияние комплексного лечения карциномы ЩЖ на состояние иммунной системы детей и подростков, заключающееся преимущественно в снижении всех популяций Т-лимфоцитов. Существуют сведения о семейной предрасположенности к носительству АТ-ТГ, а также о влиянии на этот процесс факторов радиационной природы [28]. Несомненно, что затронутая проблема носит сложный характер и требует более детальных исследований.

Выводы

1. Скрининговые исследования у жителей РБ показали, что частота диагностических значений АТ-ТГ составляет в среднем 22,0%, при этом – 25% среди женщин, 12,0% – у мужчин. Распространенность АТ-ТПО составляет в среднем 8,0% (9,0% у мужчин и 7,0% у женщин).

2. У лиц с диагнозом «АИТ» (по критериям УЗИ) частота повышенных уровней АТ-ТГ составляла в среднем 62,0%, АТ-ТПО – 42,0%, что достоверно превышало данный показатель в группе лиц с узловой патологией и в группе условного контроля.

3. Частота диагностических значений АТ-ТГ в общей группе пациентов с ДРЩЖ составила 10,0%, у женщин – 12,0, у мужчин – 6,0%. Диагностические уровни АТ-ТПО у пациентов с ДРЩЖ обнаружены не были.

4. Наиболее высокая частота диагностически значимых величин АТ-ТГ (20%) была отмечена в группе пациентов с ДРЩЖ, у которых были выявлены повышенные значения ТГ (> 5 нг/мл).

Литература

1. Клиническая эндокринология: руководство / Под ред. проф. Н. Т. Стариковой. СПб., 2002.
2. Chiavato L., Pinchera A. // Autoimmunity. 1991. Vol. 10. P. 319–331.
3. Hollowell J. G., Staehling N. W., Flanders W. D. et al. // J. Clin. Endocrin. Metabol. 2002. Vol. 87. P. 489–499.
4. McLachlan S. M., Rapoport B. // Thyroid. 2004. Vol. 14. P. 510–520.
5. Nordice R. A., Gilbert Jr. F. L., Miyamoto I. A. et al. // Arch. Intern. Med. 1993. Vol. 153. P. 862–865.
6. Spencer C. A. // J. Clin. Endocrin. Metab. 2011. Vol. 96 (12). P. 3615–3627.
7. Schlumberger M., Pacini F., Wiersinga W. M. et al. // Eur. J. Endocrin. 2004. Vol. 151. P. 539–548.
8. Pagano I., Klain M., Pulcrano M. et al. // Minerva Endocrin. 2004. Vol. 29, N 4. P. 161–174.
9. Mazzaferri E. L., Robbins R. S., Spencer C. A. et al. // J. Clin. Endocrin. Metab. 2003. Vol. 88. P. 1433–1441.
10. Spencer C., Bergoglio L. M., Kazarosyan M. et al. // J. Clin. Endocrin. Metab. 2005. Vol. 90. P. 5566–5575.
11. Kim W. G., Yoon J. H., Kim W. B. et al. // J. Clin. Endocrin. Metab. 2008. Vol. 93. P. 4683–4689.
12. Tuttle R. M., Tala H., Shah J. et al. // Thyroid. 2010. Vol. 20. P. 1341–1349.
13. Кучинская Э. А., Воронцова Т. В., Шаврова Е. Н. // Экологическая антропология. Минск, 1999. С. 233–235.
14. Воронцова Т. В., Мохорт Т. В., Карлович Н. В. // Актуальные проблемы патологии щитовидной железы. Гомель, 2005. С. 36–41.
15. Парамонова Н. С. // Мед. журн. 2007. № 1. С. 75–77.
16. Клиническое руководство по ультразвуковой диагностике / Под ред. В. В. Митькова. М., 1998. Т. 2.
17. Эпштейн Е. В., Матяшук С. И. Ультразвуковое исследование щитовидной железы: атлас-руководство. М., 2004.
18. Леонова Т. А., Дрозд В. М., Митюкова Т. А. и др. // Современные аспекты комплексного лечения пациентов с дифференцированным раком щитовидной железы (Инструкция по применению метода). Минск, 2009. Пер. № 153–1108.
19. Dunn J. T., Crutchfield H. E., Gutekunst R. et al. Methods for measuring iodine in urine / Inter. Council for Control of Iodine Deficiency Disorders (ICCIDD). 1993.
20. Стентон Г. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ.; под ред. Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. М., 1999.
21. Cooper D. S., Doherty G. M., Haugen B. R. et al. // Thyroid. 2009. N 19. P. 1167–1214.
22. Леонова Т. А. // Ранняя диагностика, лечение и реабилитация пациентов с раком щитовидной железы. Минск, 2009. С. 53–61.
23. Malandrino P., Latina A., Marescalo S. et al. // Clin. Thyroid. 2011. Vol. 23. P. 15–16.
24. Spencer C., Petrovic I., Fatemi S. // Clin. Thyroid. 2011. Vol. 23. P. 4–5.
25. Chiovato L., Latrofa F., Braverman L. E. et al. // Ann. Intern. Med. 2003. Vol. 139. P. 346–351.
26. Weetman A. P., McGregor A. M. // Endocrin. Rev. 1994. Vol. 15. P. 788–830.
27. Воронцова Т. В., Шаврова Е. Н., Кучинская Э. А. и др. // Иммунопатология, аллергология, инфектология. 2001. № 2. С. 38–45.
28. Парамонова Н. С. // Мед. панорама. 2006. № 8. С. 53–55.

*T. A. MITYUKOVA, T. A. LEONOVA, T. Yu. PLATONOVA, N. M. OKULEVICH, M. L. LUSHCHIK,
V. M. DROZD, S. S. KORYTKO*

**FREQUENCY OF DETECTING THYROID AUTOANTIBODIES IN PATIENTS OPERATED FOR THYROID
GLAND CARCINOMA**

Summary

The frequency of diagnostic level of antibodies to thyroglobulin (AB-TG) and antibodies to thyreoperoxidase (AB-TPO) in patients operated for differential thyroid gland carcinoma (DTGC) is estimated, and the antibody carriage of the patients of this group is compared with the screening data. It is shown that the frequency of diagnostic values of AB-TG in the total group of DTGC patients was 10%, in women – 12, in men – 6%, which is comparable with the occurrence of antibodies in the conditional control group. Diagnostic titers of AB-TP in DTGC patients were not detected. It is found that the generation of AT-TG in patients operated for DTGC is closely connected with the level of TG circulating in blood.

Национальная академия наук Беларуси

УДК 616.314-76-026.569:004.925.8

И. К. ЛУЦКАЯ, А. В. ШМЕЛЕВ, В. П. КАВЕЦКИЙ

КОМПЬЮТЕРНОЕ МОДЕЛИРОВАНИЕ АДГЕЗИВНЫХ ВОЛОКОННЫХ КОНСТРУКЦИЙ В ЭСТЕТИЧЕСКОЙ СТОМАТОЛОГИИ

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

(Поступила в редакцию 02.01.2012)

Введение. Невзирая на успехи профилактической стоматологии, революционное развитие материаловедения и расширение арсенала восстановительных методик, рациональное и полноценное восстановление целостности зубного ряда остается по-прежнему актуальной и одновременно сложной для решения задачей современной стоматологии [1–3]. Высокая распространенность дефектов зубного ряда оказывает негативное влияние на качество жизни пациентов, включая как функциональный, так и эстетический аспект данной проблемы [4, 5]. Наличие малого дефекта зубного ряда может не вызывать значительного нарушения функции откусывания или пережевывания пищи, но, тем не менее, служит этиологическим фактором развития зубочелюстных аномалий и деформаций у 28,8–55,0% взрослого населения [6].

Разработка современных методов анализа, обоснования применяемого лечения и его прогнозирования у пациентов с дефектами зубных рядов требует тесной взаимосвязи теоретических и технологических аспектов [3, 7–9]. Проведение исследований по усовершенствованию замещающих конструкций предусматривает использование фундаментальных теоретических разработок в области высшей математики и вычислительной техники [10–12]. Так, применение методов математического и компьютерного моделирования существенно расширяет возможности экспериментальной и клинической практики [13, 14]. Теоретические разработки позволяют обосновать пути оптимизации конструкций замещающих протезов, прогнозировать сроки их эксплуатации, функциональное состояние опорных зубов и прилежащих к ним тканей [15, 16].

Для замещения малых дефектов зубных рядов современная стоматология располагает большим арсеналом восстановительных методик, в который наряду с классическими конструкциями входят и достаточно новые, перспективные, динамично развивающиеся технологии. Одной из них является изготовление адгезивных конструкций на основе волоконного армирующего каркаса и композиционной облицовки. Данная малоинвазивная методика обладает рядом преимуществ, о чем свидетельствуют публикации научных исследований по данной тематике и большой интерес к ней практикующих врачей. Дискуссионными остаются вопросы, связанные с прочностными характеристиками адгезивных волоконных конструкций (АВК), прогнозом результатов лечения в отдаленные сроки и показаниями к выбору конструкции данных протезов [2, 17, 18].

В опубликованных научных работах представлены ограниченные данные о влиянии расположения армирующего каркаса на показатели прочности адгезивных конструкций, что затрудняет разработку показаний к выбору средств и методов реставрации дефектов зубного ряда [16, 19].

Цель исследования – проведение компьютерного моделирования напряженно-деформированного состояния (НДС) АВК в зависимости от расположения армирующего каркаса с обоснованием оптимального варианта лечения, который позволяет снизить нагруженность адгезивных конструкций в различных условиях.

Материалы и методы исследования. Для проведения расчетного определения НДС геометрически сложной биомеханической системы зуб–протез, которая образуется при фиксации АВК

на опорных зубах, был использован численный математический анализ на основе метода конечных элементов. Объектом исследования служили разработанные математические модели, отражающие функциональные особенности и строение системы зуб–протез, включающей естественные опорные зубы, а также искусственные зубы, коронковая часть которых воссоздана с помощью АВК с различными вариантами расположения армирующего каркаса.

Построение геометрических и конечно-элементных моделей, задание граничных условий, приложение нагрузок и расчет НДС АВК выполняли в программном комплексе конечно-элементного анализа ANSYS (ANSYS Inc., США). Поставленную задачу решали в трехмерной постановке. Рассматривали два вида нагружения моделей, отличающихся количеством и направлением действующих сил. Искомыми результатами расчета служили максимальные значения узловых растягивающих и эквивалентных (по Мизесу) напряжений, возникающих в конструкциях, а также графические материалы, отражающие картину НДС системы зуб–протез в виде изолиний полей напряжений для каждого режима нагружения. Результаты расчета НДС АВК являлись исходными данными для проведения сравнительного анализа напряжений материала конструкций и выявления оптимального варианта расположения армирующего каркаса.

Исследование включало три этапа.

1. Построение трехмерных геометрических моделей АВК с различными вариантами расположения армирующего каркаса в системе зуб–протез.

2. Разработка конечно-элементных моделей АВК с различными вариантами расположения армирующего каркаса и задание граничных условий для расчета.

3. Расчет НДС АВК с различными вариантами расположения армирующего каркаса и анализ полученных результатов.

При разработке математической конечно-элементной модели АВК в системе зуб–протез были приняты следующие допущения: материалы компонентов модели считали изотропными, а для описания их свойств было достаточно таких механических характеристик, как модуль Юнга и коэффициент Пуассона, т. е. нелинейные свойства материалов не учитывали. Исследования проводили только в линейной области.

В качестве исходных данных для построения моделей и их численной обработки была использована следующая информация: морфометрические параметры зубов и прилежащих к ним тканей; классическая методика изготовления адгезивных волоконных конструкций; механические характеристики зубных и прилежащих к ним тканей, светоотверждаемого композиционного материала и армирующей волоконной системы.

На первом этапе на основании морфометрических параметров зубов и прилежащих к ним тканей проводили построение объемных геометрических моделей АВК в системе зуб–протез. Данные модели разработаны на основе строения клинических моделей АВК, для создания которых был определен вариант отсутствия второго премоляра, с двухсторонней фиксацией протезов на опорных зубах: мезиально – на первом премоляре, дистально – на первом моляре (рис. 1).

Коронку отсутствующего зуба моделировали в соответствии с усредненными морфометрическими параметрами второго премоляра, при условии отсутствия в данной области зубочелюстных деформаций.

Условия закрепления при расчетах были максимально приближены к условиям фиксации естественного зуба в окружающих тканях. Для этого моделировали слой периодонта вокруг корня зуба. Предполагалось, что внешняя граница периодонта жестко прикреплена к костной ткани, которая считалась неподвижной. Принято допущение, что толщина периодонта равномерна и составляет 0,3 мм

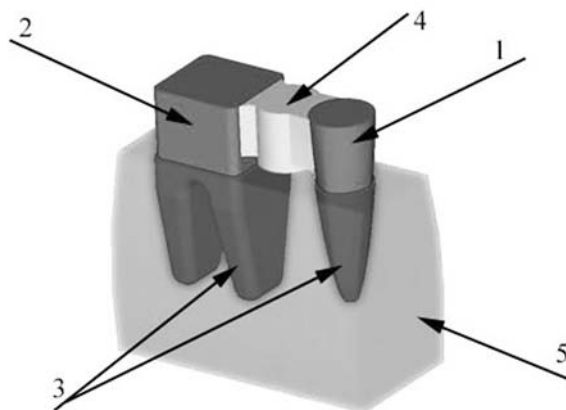


Рис. 1. Общий вид трехмерной геометрической модели АВК: 1 – зуб 1; 2 – зуб 2; 3 – периодонт зубов 1 и 2; 4 – тело протеза; 5 – сегмент альвеолярного отростка челюсти



Рис. 2. Конечно-элементная модель АВК

а также размер, занимаемый на жестком диске, – 224 Мб (рис. 2) [20].

Приводим описание рассматриваемых моделей биомеханической системы АВК.

Модель 1. АВК в системе зуб–протез с одним армирующим элементом, который расположен в вертикальной плоскости (перпендикулярно по отношению к альвеолярному отростку челюсти) в межзубном пространстве (теле протеза) и закреплен в той же плоскости на твердых тканях опорных зубов.

Модель 2. АВК в системе зуб–протез с одним армирующим элементом, который расположен в горизонтальной плоскости (параллельно по отношению к альвеолярному отростку челюсти) в межзубном пространстве и закреплен в той же плоскости на твердых тканях опорных зубов.

Модель 3. АВК в системе зуб–протез с двумя армирующими элементами, которые расположены в вертикальной плоскости (перпендикулярно по отношению к альвеолярному отростку челюсти) в межзубном пространстве и закреплены в той же плоскости на твердых тканях опорных зубов. При этом элементы каркаса между собой не контактируют, проходя параллельно друг другу.

Модель 4. АВК в системе зуб–протез с двумя армирующими элементами, один из которых расположен в вертикальной (перпендикулярно по отношению к альвеолярному отростку челюсти), а второй – в горизонтальной (параллельно по отношению к альвеолярному отростку челюсти) плоскости (взаимно перпендикулярно) в межзубном пространстве, закрепленными в тех же плоскостях на твердых тканях опорных зубов.

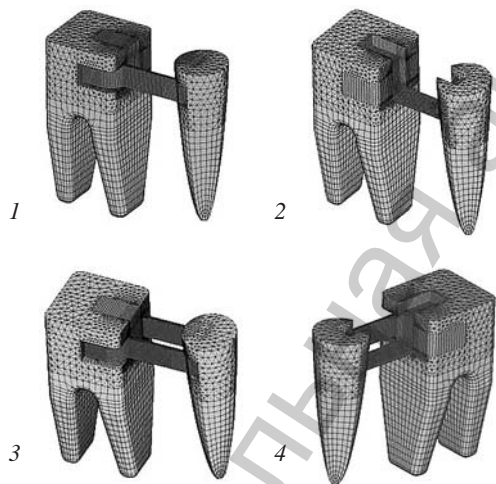


Рис. 3. Структурные особенности конечно-элементных моделей (1–4) АВК

[16], а ширина альвеолярного отростка в проекции вершин корней зубов достигает $(12,4 \pm 0,4)$ мм [16].

На втором этапе исследования на основе построенных геометрических моделей АВК были разработаны четыре конечно-элементные модели. Для обеспечения возможности проведения сравнительного анализа НДС рассматриваемой биомеханической системы при разработке как геометрических, так и конечно-элементных моделей АВК требовалось идентичность их геометрии и схемы разбиения конечно-элементной сетки. Таким образом, исключалось влияние этих факторов на расчетные значения механических напряжений, возникающих в наиболее нагруженных зонах моделей. В результате все разработанные конечно-элементные модели АВК имели одинаковые количественные характеристики: 245 933 элемента, 411 141 узел,

На рис. 3 приведены фрагменты конечно-элементных моделей (показаны только опорные зубы и варианты расположения армирующего волокна).

При исследованиях были использованы характеристики следующих составляющих комплексной биомеханической системы зуб–протез: дентина и периодонта зубов, альвеолярной кости, композиционного материала Filtek™ Z-250 (3M ESPE, Германия), армирующего волокна Ribbond (Ribbond, США) (табл. 1) [13, 16, 21].

В зависимости от принадлежности к той или иной пространственной области модели рассматриваемой

Т а б л и ц а 1. Механические характеристики материалов

Параметр \ Материал	Волокно Ribbond	Композит Filtek™ Z-250	Дентин	Периодонт	Костная ткань
Модуль упругости, МПа	$1,7 \cdot 10^5$	$1,77 \cdot 10^4$	$1,83 \cdot 10^4$	1,18	$4,9 \cdot 10^2$
Коэффициент Пуассона ν	0,3	0,25	0,3	0,45	0,4

биомеханической системы конечным элементам присваивали соответствующие механические свойства. Затем проводили описание внешних воздействий и граничных условий. НДС всех элементов АВК при прочих равных условиях зависит от характера и места приложения нагрузки. С учетом этого факта нагрузка прилагалась к верхней центральной части волоконной конструкции, так как только в этом случае достигается максимальное напряжение между зубом и протезом [22]. Нагрузка, по данным Rus, принята равной 150 Н (нижний предел силы, возникающей во время пережевывания твердой пищи в области второго премоляра) [13]. Необходимо также отметить, что полученные нами показатели нагрузки имеют достаточно формальное значение, так как задачей нашего исследования является проведение сравнительного анализа различных вариантов армирования. Рассматривалось два вида нагружения моделей АВК, отличающихся количеством и направлением действующих на центральную часть протеза сил. Первый заключался в приложении к промежуточной части конструкции (телу протеза) только вертикальной силы ($F_1 = 150$ Н), второй – в комбинированном действии вертикальной F_1 и горизонтальной F_2 (в вестибуло-оральном направлении) сил одновременно, каждая из которых составляла 150 Н. Нагрузки на протез моделировали сосредоточенными силами. Далее для всех четырех моделей выполняли численный расчет НДС. Данный этап работы благодаря применению программного комплекса конечно-элементного анализа ANSYS был полностью автоматизирован [7, 23–26].

Результаты и их обсуждение. Анализ графических и численных данных, полученных при проведении исследования НДС АВК, показал, что для всех рассматриваемых расчетных случаев наибольшие растягивающие и эквивалентные напряжения возникали в композиционном материале конструкций в зоне приложения нагрузки, локализуемой в центре окклюзионной поверхности промежуточной части протеза. Данный факт обусловлен локальным характером приложения нагрузки. Кроме того, концентрация напряжений в зоне приложения действующих сил не позволяла определить изучаемые свойства биомеханической системы АВК. Растягивающие и эквивалентные напряжения для всех четырех моделей в этой зоне были одинаковы и составили 38,2 и 132,0 МПа соответственно при первом варианте нагружения и 454,0 и 453,0 МПа при втором. Поэтому зону приложения нагрузки из дальнейшего рассмотрения исключали.

Следующая по величине развивающихся во всех конструкциях растягивающих и эквивалентных напряжений зона располагалась также в композиционном материале конструкций, в крайней нижней (пришеечной) точке области соединения промежуточной части протеза и моляра. Эта зона показана на рис. 4, 5 на примере модели 4 при действии вертикальной и комбинированной нагрузки соответственно.

Полученные в результате проведенного исследования максимальные значения растягивающих и эквивалентных (по Мизесу) напряжений, возникающих в композиционном материале конструкций моделей АВК под действием двух видов нагрузок, представлены в табл. 2.

Т а б л и ц а 2. Значения максимальных напряжений в материале конструкций, МПа

Модель	Вертикальная нагрузка		Комбинированная нагрузка	
	Растягивающее напряжение	Эквивалентное напряжение	Растягивающее напряжение	Эквивалентное напряжение
1	16,0	15,1	45,4	42,8
2	12,8	12,1	52,2	49,2
3	13,5	12,7	42,6	40,1
4	12,6	11,9	41,7	39,4

Анализ результатов расчета НДС рассматриваемой биомеханической системы АВК показывает, что наименьшие значения механических напряжений в материале конструкции характерны для модели 4, которой соответствует вариант расположения двух отрезков армирующего волокна во взаимно перпендикулярных областях (см. рис. 3, модель 4). При действии вертикальной нагрузки максимальные напряжения возникали в композиционном материале конструкции в крайней нижней (пришеечной) точке области соединения промежуточной части протеза и моляра (рис. 4). При действии комбинированной нагрузки зоны возникновения максимальных напряжений не изменялись (рис. 5).

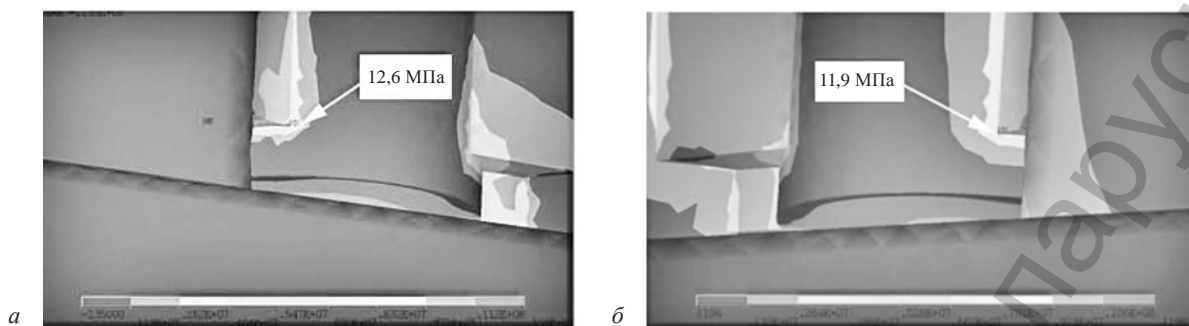


Рис. 4. Максимальные напряжения в материале конструкции при действии вертикальной нагрузки (модель 4):
а – растягивающие; *б* – эквивалентные

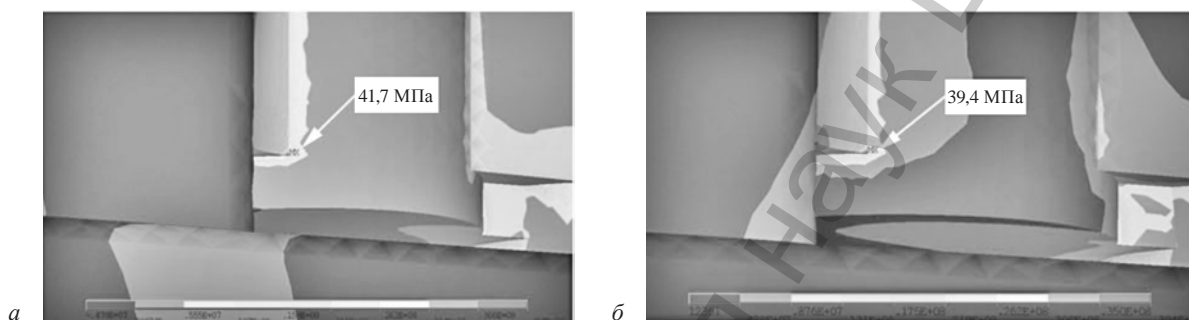


Рис. 5. Максимальные напряжения в материале конструкции при действии комбинированной нагрузки (модель 4):
а – растягивающие; *б* – эквивалентные

Для изучения и сопоставления данных расчета НДС биомеханической системы АВК проведен их сравнительный анализ (табл. 2). Задача этого анализа – определить численные значения, позволяющие отразить преимущество применения варианта расположения армирующего волокна, соответствующего модели 4. С этой целью предложено использовать удельный показатель, характеризующий относительное снижение величины механических напряжений $\Delta\sigma$ в рассматриваемой биомеханической системе АВК, вызванное применением армирующего каркаса модели № 4, по сравнению с остальными вариантами. Данный показатель рассчитывали с использованием следующей зависимости:

$$\Delta\sigma = \frac{\sigma_c - \sigma_6}{\sigma_c} \cdot 100\% ,$$

где σ_c – максимальные напряжения в материале конструкции сравниваемого варианта расположения армирующего волокна (модели 1–3) с моделью 4; σ_6 – максимальные напряжения в материале конструкции модели 4.

Полученные в результате расчета удельные показатели представлены в табл. 3.

Т а б л и ц а 3. Относительное снижение нагруженности материала конструкции $\Delta\sigma$, %

Модель	Вертикальная нагрузка		Комбинированная нагрузка	
	Растягивающие напряжения	Эквивалентные напряжения	Растягивающие напряжения	Эквивалентные напряжения
1	21,2	21,2	8,1	7,9
2	1,5	1,6	20,1	19,9
3	6,7	6,3	2,1	1,7

Результаты сравнительного анализа нагруженности АВК показали, что применение варианта с расположением двух отрезков армирующего волокна во взаимно перпендикулярных областях, соответствующего модели 4, позволяет снизить механические напряжения в наиболее нагруженных зонах материала конструкции на 20% по сравнению с применением для укладки одного во-

локна с различной его пространственной ориентацией и на 6,3% по сравнению с применением для армирования двух отрезков волокна, расположенных в вертикальной плоскости. Необходимо отметить, что полученные результаты соответствуют двум наиболее часто встречающимся в клинической практике случаям нагружения АВК – действию вертикальной, а также комбинированной (вертикальной и горизонтальной) нагрузки. При этом следует отметить, что вариант с расположением двух армирующих волокон во взаимно перпендикулярных плоскостях является наиболее эффективным, так как ориентация волокон в нем способствует снижению нагруженности материала конструкций при действии как одиночной нагрузки, так и сил, приложенных в двух взаимно перпендикулярных направлениях.

Выводы

1. Применение варианта с расположением двух армирующих волокон во взаимно перпендикулярных плоскостях при действии как вертикальной, так и комбинированной нагрузки позволяет снизить механические напряжения в наиболее нагруженных зонах материала АВК до 20% по сравнению с применением одного волоконного каркаса с различной его пространственной ориентацией и до 6,3% по сравнению с применением двух отрезков волокна, расположенных в вертикальной плоскости.

2. Концентрация максимальных значений растягивающих и эквивалентных напряжений во всех конструкциях происходит в крайней нижней (пришеечной) точке области соединения промежуточной части протеза и первого моляра.

3. При действии изолированной вертикальной нагрузки наибольшие значения растягивающих и эквивалентных напряжений фиксируются в конструкциях с вертикальным вариантом расположения как одного, так и двух армирующих волокон.

4. При действии комбинированной нагрузки наибольшие значения растягивающих и эквивалентных напряжений определяются в конструкциях с различными вариантами расположения одного армирующего волокна.

5. При изменении направления действующих на АВК сил фиксируется увеличение значений узловых растягивающих и эквивалентных (по Мизесу) напряжений во всех видах конструкций.

Литература

1. Наумович С. С., Наумович С. А. // Современная стоматология. 2011. № 1. С. 38–42.
2. Ряховский А. Н., Кузнецова Е. А. // Институт стоматологии. 2000. Т. 1, № 6. С. 52–54.
3. Чумаченко Е. Н., Арутюнов С. Д., Лебедево И. Ю. Математическое моделирование напряженно-деформированного состояния зубных протезов. М., 2003. – 271 с.
4. Леус П. А. // Стоматол. журн. 2005. № 4. С. 2–6.
5. Луцкая И. К. Основы эстетической стоматологии. Минск, 2005. – 333 с.
6. Шварцман В. А. // Новое в стоматологии. 2003. № 8. С. 26–28.
7. Каплун А. Б., Морозов Е. М., Олферьева М. А. ANSYS в руках инженера: практ. руководство. М., 2003. – 272 с.
8. Toms S. R., Dakin G. J., Lemons J. E., Eberhardt A. W. // J. Biomech. 2002. Vol. 35, N 10. P. 1411–1415.
9. Tajima K. et al. // Dent. Materials J. 2009. Vol. 28, N 2. P. 219–226.
10. Наумович С. А., Крушевский В. Е. Биомеханика системы зуб–периодонт. Минск, 2009.
11. Provatidis C. G. // Comput. Meth. Biomech. Biomed. Engin. 2003. Vol. 6, N 5–6. P. 347–352.
12. Clement R., Schneider J., Geiger M. et al. // Comput. Meth. and Programs in Biomed. 2004. Vol. 73, N 2. P. 135–144.
13. Чуйко А. Н., Вовк В. Е. Особенности биомеханики в стоматологии. Харьков, 2006. – 304 с.
14. Jaroslav M. // Comput. Meth. Biomed. Engin. 2004. Vol. 7. P. 277–303.
15. Меликян Г. М. Клинико-лабораторное обоснование реставрации дефектов режущего края передней группы зубов с применением сеточно-армирующего элемента: дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21. М., 2008. – 157 с.
16. Ряховский А. Н., Баничук Н. В., Саурин В. В., Кузнецова Е. А. // Стоматология. 2002. № 1. С. 58–62.
17. Петрикас О. А. Клинико-экспериментальное обоснование применения адгезивных методик при протезировании больных: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.21/ СГМА, 2002. – 39 с.
18. Чернявский Ю. П., Кавецкий В. П. // Современная стоматология. 2006. № 3. С. 54–55.
19. Кавецкий В. П. // Современная стоматология. 2010. № 2. С. 82–85.
20. ANSYS Help system: Element reference. Part I: Element Library: SOLID186 [Electronic resource]. – Electr. text data and progr. – ANSYS, Inc. 2009.
21. Акулович А. В. // Пародонтология. 2009. № 2. С. 26–33.

22. Мышковац Н. А., Полонейчик Н. М., Блинов И. Н., Стагурова О. В. // Современ. стоматология. 2001. № 4. С. 53–54.
23. Галлагер Р. Метод конечных элементов: основы. М., 1984. – 215 с.
24. Деклу Ж. Метод конечных элементов. М., 1976. – 95 с.
25. Зенкевич О. К. Метод конечных элементов в технике. М., 1975. – 541 с.
26. Шабров Н. Н. Метод конечных элементов в расчетах тепловых двигателей. Л., 1983. – 212 с.

I. K. LUTSKAYA, A. V. SHMELEV, V. P. KAVETSKY

COMPUTER MODELING OF ADHESIVE FIBER STRUCTURES IN AESTHETIC STOMATOLOGY

Summary

The analysis of the stress results of dental prosthesis fiber adhesive structures with the use of the finite-element method is discussed in the article. Computer models of dental prosthesis with different reinforcing frame layouts were developed. Reinforcing fiber positioning impact on the appearance and distribution of tensile and equivalent (von Mises) stresses in the prosthesis structure was analyzed. The carried out analysis made it possible to find and substantiate the rational reinforcing fiber frame layout for the prosthesis adhesive structure providing stress reduction.

Национальная академия наук Беларуси

УДК 615.27-06:616.155.3-008.13

Н. А. БИЗУНОК

**ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ
N-ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ L-ПРОЛИНА И КЛЕТОЧНЫХ МОДУЛЯТОРОВ
РАЗНОГО ТИПА ДЕЙСТВИЯ НА МОДЕЛИ FcγR-ЗАВИСИМОГО ФАГОЦИТОЗА**

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

(Поступила в редакцию 22.02.2012)

Введение. Настоящее исследование базируется на результатах изучения метаболического цикла аминокислоты L-пролина и ее производных, полученных в последнее десятилетие. С одной стороны, эти данные открывают не известные до сих пор аспекты иммунного реагирования при воспалении и туморогенезе и подтверждают важнейшее регуляторное значение активных форм кислорода (АФК) в их развитии. С другой стороны, они тесно переплетаются с результатами нашей экспериментальной работы, представленными в настоящей статье, и с позиций фармакологии интересны тем, что, раскрывая механизмы противовоспалительного и цитопротекторного действия производных L-пролина, позволяют предложить новый подход к разработке лекарственных средств иммуномодулирующего типа действия.

Современные представления о метаболизме L-пролина и его производных блестяще изложены группой исследователей из Национального института Фредерика в статье «The Metabolism of Proline as Microenvironmental Stress Substrate» [16] и в соответствии с задачами нашего исследования требуют краткого обсуждения во вступительной части работы.

То, что пролин является не просто протеогенной аминокислотой, но обладает рядом уникальных свойств, известно с середины 1950-х годов. Поскольку у пролина атом азота, находящийся в α-положении, заключен внутри пирролидинового кольца молекулы, он не может быть субстратом для классических ферментов-метаболизаторов аминокислот – декарбоксилаз, аминотрансфераз, рацемаз. Семейство ферментов, метаболизирующих пролин, является тканеспецифическим, имеет особое внутриклеточное распределение и уникальные механизмы регуляции. Эти отличия уже на первых этапах изучения пролина позволили предположить особую регуляторную роль аминокислоты.

Пролиновый цикл. Ключевым ферментом цикла метаболического превращения пролина (пролинового цикла) является фермент пролин оксидаза (пролин дегидрогеназа – POX/PRODH; EC 1.5.99.8), локализованный на внутренней мембране митохондрий (рис. 1). Каталитический механизм включает перенос электронов от пролина на цитохром c, вследствие чего пролин может служить субстратом для синтеза аденозинтрифосфата (АТФ) [6]. В качестве альтернативы POX/PRODH способна восстанавливать кислород с образованием супероксидного аниона [7], что доказано работами Т. А. White и соавт. [17].

Когда пролиновый цикл впервые был предложен как один из источников АТФ, его вклад в клеточную биоэнергетику считали малозначительным, поскольку количе-

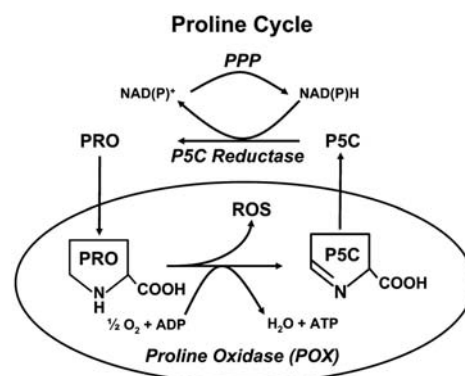


Рис. 1. Пролиновый цикл (редокс-челнок) (цит. по J. M. Phang [9]). PRO – пролин, P5C – Δ¹-пирролин-5-карбоксилат, PPP – пентозофосфатный путь (ПФП)

ственно он явно проигрывал по сравнению с циклом трикарбоновых кислот (ЦТК) и даже гликолизом. Интерес к нему возобновился недавно, после того как было показано, что в опухолевых клетках, где нарушены окислительное фосфорилирование и ЦТК, он приобретает главное биоэнергетическое значение. Стало понятным, что пролиновый цикл как источник АТФ может играть ведущую роль при отдельных патологических процессах. Экспериментальные исследования подтвердили это предположение, установив, что апрегуляция POX/PRODH (фермента, лимитирующего скорость разрушения пролина) имеет место при трех стрессовых состояниях: генотоксическом стрессе с участием p53 [10], воспалительном стрессе через PPAR γ и его лиганды [15] и нутриентном стрессе через mTOR [16].

Источник мобильного пролина. Наиболее вероятным источником мобильной фракции пролина при стрессе является коллаген. Последний составляет 80% межклеточного вещества и 90–95% соединительной ткани и органической части костной ткани, в то время как пролин и гидроксипролин составляют более 25% аминокислот коллагена. По приблизительным оценкам в организме человека массой 70 кг содержится около 0,7 кг пролина/гидроксипролина. Разрушение коллагена с высвобождением пролина и гидроксипролина катализируется MMP, семейством металлосодействующих ферментов, индуцируемых при условиях, соответствующих генотоксическому, воспалительному и нутриентному стрессу [16].

Специальные функции пролинового цикла. В реализации специальных функций пролинового цикла важнейшее значение отводится генерации супероксид-аниона, происходящей при активации POX/PRODH. Одним из последствий этой генерации является инициация апоптоза с участием внутренних и внешних механизмов, как это представлено на рис. 2. Этот апоптоз подавляется ко-экспрессией супероксиддисмутазы второго типа SOD2 (MnSOD), локализованной в митохондриях. Предполагается, что POX/PRODH может быть контролируемым метаболическим источником супероксида, являющегося частью специального механизма апоптотического сигналинга.

Другой важнейшей функцией пролина как стрессорного субстрата является перестройка биоэнергетики клетки. С одной стороны, пролиновый цикл может метаболически поддерживать ЦТК, с другой стороны, благодаря связи с пентозофосфатным путем метаболизма глюкозы (ПФП) пролиновый цикл усиливает генерацию НАДФН·H⁺. Индукция POX/PRODH ведет к многократному увеличению активности ПФП и продукции НАДФН·H⁺, являющегося ко-фактором ряда важнейших ферментных комплексов, ответственных за стресс-реагирование.

Наличие этих двух метаболических функций у цикла метаболизма пролина, а именно обеспечение биоэнергетики для выживания клеток – с одной стороны и генерация супероксида как

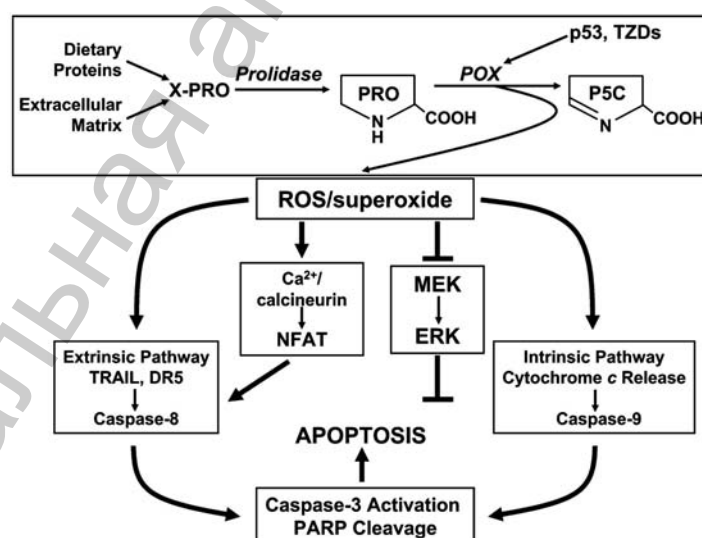


Рис. 2. Пролин дегидрогеназа (пролин оксидаза) продуцирует супероксид-анион, который активирует механизмы апоптоза (цит. по J. M. Phang [9]). PRO – пролин, P5C – D1-пирролин-5-карбоксилат, POX – пролин дегидрогеназа (пролин оксидаза), TRAIL – ФНО-подобный проапоптотический лиганд, DR5 – рецептор смерти 5, PARP – полиаденирибозил полимеразы; MEK – киназа MAP киназы; ERK – MAP киназа, управляемая внеклеточным сигналом

сигнальной молекулы для программируемой клеточной гибели – с другой, является, на первый взгляд, парадоксом. Ответ заключается в особенностях структуры POX/PRODH. Кристаллографические исследования фермента показали, что в зависимости от пространственных модификаций его активного центра возможны либо генерация супероксида, либо переключение потока электронов в транспортную цепь с образованием АТФ [17].

Отсюда проистекает интерес к управлению активностью POX/PRODH, ключевого фермента пролинового цикла, с использованием, в частности, его ингибиторов – N-замещенных производных пролина [16]. Изучение этих соединений чрезвычайно актуально и с позиций управления активностью других структурно и функционально подобных POX/PRODH ферментов, участвующих в развитии генотоксического и воспалительного стресса через генерацию супероксидного аниона, таких как ферменты семейства NOX и прежде всего NOX2 фагоцитов (EC 1.6.3.1).

Цель настоящего исследования – изучить действие N-замещенных производных L-пролина на клеточную генерацию супероксида, ассоциированную с активностью NOX2, а также выяснить потенциал фармакодинамического взаимодействия этих соединений с модуляторами активности NOX2 разного типа действия.

Материалы и методы исследования. *Среды и реагенты.* В работе использовали N-ацетил-L-пролин (АЦП), 4-гидрокси-L-пролин (ГП), N-ацетил-4-гидрокси-L-пролин (ГАЦП) – НИИ физико-органической химии НАН Беларуси; колхицин, АТФ, ацетилсалициловую кислоту (АСК), салициловую кислоту (СК), мелоксикам (МКМ) – Sigma-Aldrich, Германия; нифедипин – Kraemer & Martin, Pharma Handels-GmbH, Германия; люминесцентный зонд люминол (5-амино-2,3-дигидро-1,4-фталазиндион) – Sigma-Aldrich, Германия; среду Хенкса без индикатора – ОАО «Диалек», Беларусь; диметилсульфоксид – ООО «Фармтехнология», Беларусь; гепарин – РУП «Белмедпрепараты», Беларусь; зимозан (сухие пекарские дрожжи); сыворотку крови крупного рогатого скота – ОАО «Диалек», Беларусь.

Комбинаторные сочетания. На первом этапе исследования изучали индивидуальное действие производных L-пролина, колхицина, нифедипина, АТФ, МКМ, СК и АСК в диапазоне концентраций от 10^{-9} до 10^{-3} М. Второй этап исследования включал испытания следующих молярных комбинаторных сочетаний: АЦП и АТФ – АЦП/АТФ1 и АЦП10/АТФ1 (10^{-6} – 10^{-3} М АЦП + 10^{-7} – 10^{-3} М АТФ); АЦП и колхицина – АЦП/К1, АЦП10/К1 и АЦП100/К1 (10^{-7} – 10^{-3} М АЦП + 10^{-7} – 10^{-3} М колхицина); АЦП и нифедипина – АЦП/Н1, АЦП10/Н1, АЦП100/Н1 (10^{-7} – 10^{-3} М АЦП + 10^{-7} – 10^{-4} М нифедипина); АЦП и АСК – АЦП/АСК1, АЦП10/АСК1 (10^{-7} – 10^{-3} М АЦП + 10^{-7} – 10^{-3} М АСК); АЦП и СК – АЦП/СК1, АЦП10/СК1 (10^{-7} – 10^{-3} М АЦП + 10^{-7} – 10^{-3} М СК); АЦП и МКМ – АЦП/МКМ1, АЦП10/МКМ1 (10^{-7} – 10^{-3} М АЦП + 10^{-7} – 10^{-3} М МКМ).

Получение клеток. Исследования выполнены на изолированных перитонеальных макрофагах-резидентах крыс линии Вистар массой 200–250 г. Клетки получали путем промывания брюшной полости 20 мл среды Хенкса с гепарином (10 ЕД/мл), отмывали и ресуспендировали в бесцветной среде Хенкса. Полученная суспензия содержала более 98% жизнеспособных клеток по результатам теста с трипановым синим (0,1%), при дифференцированном подсчете которых в окрашенных мазках макрофаги составляли около 90%.

Изучение респираторного взрыва. Макрофагальную продукцию оксидантов исследовали методом люминолзависимой хемилюминесценции (ХЛ) в условиях взрывной (ИХЛ) генерации АФК на люминометре LKB-Wallac 1251–002 (Финляндия).

Генерацию АФК оценивали после 10-минутной инкубации клеток с изучаемыми соединениями и их композициями при температуре 20–25 °С; контрольные пробы содержали эквивалентное количество среды. Каждый опыт проводился на клетках одного животного и включал весь изучаемый диапазон концентраций агента (комбинаторного сочетания). При исследовании ИХЛ проба содержала в 1 мл бесцветной среды Хенкса: 10^6 жизнеспособных макрофагов; люминол ($7 \cdot 10^{-5}$ М); опсонизированный зимозан ($5 \cdot 10^7$ частиц), который вносили непосредственно перед регистрацией свечения; изучаемый агент (комбинацию агентов). В контрольные пробы добавляли эквивалентное количество среды.

Люминесценцию регистрировали поочередно в пробах, содержащих изучаемые соединения (композиции), и в контрольных, при постоянной температуре (37 °С), в дискретном режиме с ин-

тервалом 2–3 мин, на протяжении 30 мин. Продукцию АФК оценивали по площади под кривой ХЛ (AUC) и площади под кривой ХЛ, исключая фоновое свечение клеток (DAUC). Последний показатель отражает вклад Nox2 в продукцию общего пула АФК, генерируемых клеткой. Показатели ХЛ проб, содержавших изучаемые соединения (композиции), выражали в процентах по отношению к контрольным значениям. Количество повторных опытов варьировалось от 5 до 10.

Статистический анализ. Статистическую обработку первичных результатов внутри серии проводили с использованием парного *t*-критерия, межсерийные сравнения выполняли по *t*-критерию Стьюдента, различия считали достоверными при вероятности ошибки менее 5% ($P < 0,05$).

Антиоксидантную активность соединений оценивали по степени подавления ХЛ, вычисляя эффективные ингибирующие концентрации ($IC_{16}-IC_{84}$) методом регрессионного анализа с использованием программного пакета Statistica 6.1 и математических преобразований по Chou [8] при помощи специально разработанного алгоритма в программной оболочке MS Excel.

Анализ взаимодействия. Результат взаимодействия тестируемых соединений оценивали по значению комбинаторного индекса (CI), который рассчитывали по формуле

$$CI = \sum_{j=1}^n \frac{(D)_j}{(D_x)_j},$$

где $(D)_j$ – доза (концентрация) агента, оказывающая эффект определенной силы при комбинированном применении; $(D_x)_j$ – доза (концентрация) агента, оказывающая аналогичный эффект при индивидуальном применении.

Значения CI трактовали в соответствии со следующей шкалой [8]: CI < 0,1 – очень сильный синергизм (5+); CI = 0,1–0,3 – сильный синергизм (4+); CI = 0,3–0,7 – синергизм (3+); CI = 0,7–0,85 – умеренный синергизм (2+); CI = 0,85–0,90 – слабый синергизм (1+); CI = 0,90–1,10 – аддитивный эффект (0); CI = 1,10–1,20 – слабый антагонизм (1–); CI = 1,20–1,45 – умеренный антагонизм (2–); CI = 1,45–3,3 – антагонизм (3–); CI = 3,3–10,0 – сильный антагонизм (4–); >10 – очень сильный антагонизм (5–).

Индекс снижения дозы (DRI) компонентов комбинации рассчитывали по формуле

$$DRI_j = \frac{(D_x)_j}{(D)_j}.$$

Значение DRI показывает, во сколько раз можно снизить дозу каждого компонента в комбинации для достижения эффекта, сопоставимого с индивидуальным действием компонента.

Результаты представлены графически в виде распределений комбинаторного индекса (Fa-CI-plot) и индекса снижения дозы. (Fa-DRI-plot) как функция фракции Fa (фракции подавления ХЛ по отношению к контрольным значениям) в диапазоне $E_{10}-E_{95}$ (0,1–0,95). Показатели CI < 1, CI = 1 и CI > 1 – синергизм, аддитивный эффект и антагонизм соответственно.

Результаты и их обсуждение. *Индивидуальное действие L-пролина и его производных.* L-Пролин и L-гидроксипролин не оказывают существенного влияния на генерацию АФК в макрофагах при Fc γ -индуцированном фагоцитозе (табл. 1). Ацетилирование атома азота пирролидинового цикла изменяет модулирующий потенциал производных. N-ацетил-L-пролин и N-ацетил-L-гидроксипролин в отличие от прототипов оказывают ингибирующее действие на макрофагальную продукцию АФК, демонстрируя выраженную линейную зависимость эффекта от концентрации. При этом в отношении совокупной генерации АФК активность соединений сопоставима. В отношении Nox2-зависимого пула несколько более активным ингибитором оказался N-ацетил-L-гидроксипролин, IC_{50} которого составила $10^{-5}-2 \cdot 10^{-4}$ М против $3 \cdot 10^{-5}-7 \cdot 10^{-4}$ М для N-ацетил-L-пролина. Предварительное изучение L-пролина и его производных на модели пероксид-индуцированной хемилюминесценции сыворотки крови [5] показало, что они не обладают прямой антиоксидантной активностью, и, следовательно, антиоксидантное действие в клеточном тесте обусловлено влиянием N-ацетилированных производных на активность Nox2. Блокирование активности Nox2 дифенилениодонием полностью нивелировало эффект обоих ацетилированных производных.

Т а б л и ц а 1. Эффективные ингибирующие концентрации (IC) L-пролина и его производных на модели респираторного взрыва макрофагов

Соединение		IC (-Log, M)					EC _{max} (-Log, M)	E _{max} , % (M ± m)
		16	30	50	70	84		
<i>AUC ХЛ – совокупная генерация АФК</i>								
АЦП	М	5,44	4,49	3,49	3,02	–	3,00	–72,6 ± 5,9*
	ДИ ₉₅	5,67÷5,21	4,72÷4,25	3,73÷3,27	3,25÷2,79			
АЦГП	М	5,41	4,64	3,82	3,03	–	3,00	–80,1 ± 6,3*
	ДИ ₉₅	6,07÷4,75	5,30÷3,98	4,50÷3,17	3,69÷2,37			
ГП	М	–	–	–	–	–	4,00	–19,2 ± 4,2
	ДИ ₉₅	–	–	–	–			
П	М	–	–	–	–	–	4,00	+ 9,3 ± 6,7
	ДИ ₉₅	–	–	–	–			
<i>DAUC ХЛ – Nox2-зависимая генерация АФК</i>								
АЦП	М	5,03	4,28	3,51	2,74	–	3,00	–70,3 ± 3,9*
	ДИ ₉₅	5,31÷4,75	4,57÷4,01	3,79÷3,23	3,02÷2,46			
АЦГП	М	5,64	5,02	4,37	3,72	3,09	3,00	–89,1 ± 8,9*
	ДИ ₉₅	6,30÷4,98	5,67÷4,36	5,03÷3,70	4,37÷3,05	3,75÷2,43		
ГП	М	–	–	–	–	–	4,00	+ 14,9 ± 1,1*
	ДИ ₉₅	–	–	–	–			
П	М	–	–	–	–	–	4,00	+ 10,6 ± 8,2
	ДИ ₉₅	–	–	–	–			

П р и м е ч а н и е. М – среднее значение; ДИ₉₅ – 95%-ный доверительный интервал. * – $P < 0,05$ в сравнении с контролем по парному t -критерию. П – L-пролин, ГП – L-гидроксипролин, АЦП – N-ацетил-L-пролин, АЦГП – N-ацетил-L-гидроксипролин.

Поскольку генерация супероксида с участием Nox2 макрофагов имеет важное значение для инициации ряда иммунных ответов, наработки провоспалительных и альгогенных медиаторов, а также для индукции апоптоза [12], ингибирование этого процесса N-ацетил-L-пролином может, по крайней мере частично, объяснить его противовоспалительное, анальгетическое и цитопротекторное действие, показанное на биологических моделях и подтвержденное при клиническом изучении [3, 4]. Определенный вклад в совокупное терапевтическое действие N-ацетил-L-пролина может вносить и подавление хемотаксиса лейкоцитов [11], а также ингибирование активности POX/PRODH [16]. Хотя в нашем исследовании последний механизм недоказуем из-за мизерного участия POX/PRODH в генерации АФК в ответ на стимуляцию Fcγ-R макрофагов-резидентов, он может вносить большой вклад в действие N-ацетил-L-пролина *in vivo*, обеспечивая его цитопротекторное, в том числе хондропротекторное, действие.

Оценивая ингибирующее действие N-ацетил-L-пролина в отношении Nox2, важно учитывать, что биодоступность и распределение N-ацетил-L-пролина не отличается существенным образом от прототипа (L-пролина), и назначение взрослому человеку дозы, равной 1,0 г, может создавать в биологических жидкостях, включая синовиальную жидкость и воспалительный экссудат, концентрацию N-ацетил-L-пролина, близкую к 10^{-4} М. Эта концентрация соответствует эффективному диапазону (E₃₀–E₅₀) в нашем исследовании. Важно и то, что N-ацетил-L-пролин является одним из продуктов ферментативной деградации коллагена и его концентрации в очаге тканевого повреждения могут быть выше расчетных.

Ингибирующее действие N-ацетил-L-пролина на активность Nox2 показано впервые. Этот эффект открывает новые аспекты действия и клинического применения N-ацетилированных производных L-пролина. Одновременно возникает вопрос о потенциале фармакодинамического взаимодействия N-ацетил-L-пролина с другими известными модификаторами активности Nox2. Ниже мы попытаемся найти ответы на эти вопросы.

Комбинирование N-ацетил-L-пролина. Первоочередное внимание в связи с парадигмой нашего исследования привлекли комбинации N-ацетил-L-пролина с соединениями, обладающими модифицирующим действием в отношении макрофагальной генерации супероксид-аниона и вместе с тем выраженными анальгезирующими и цитопротекторными свойствами при воспа-

лении различного генеза, – агонистом пуриновых рецепторов АТФ [9], блокатором кальциевых каналов нифедипином [18] и ингибитором сборки цитоскелета колхицином [14]. Результаты индивидуального и комбинированного (в сочетании с N-ацетил-L-пролином) действия этих соединений представлены в табл. 2, 3.

Т а б л и ц а 2. Индивидуальное и комбинированное действие N-ацетил-L-пролина (АЦП), АТФ, нифедипина и колхицина на окислительный взрыв макрофагов (по критерию АUC ХЛ) ($n = 5$)

Состав композиции	Ск	IC ₅₀ (-Log, M)		EC _{max} (-Log, M)	E _{max} , % (M ± m)
		Среднее значение	Доверительный интервал (95%)		
АЦП	–	3,49	3,73±3,27	3,00	-72,6 ± 5,9
АТФ	–	3,44	3,69±3,19	3,00	-92,3 ± 1,5
Колхицин	–	4,89	5,40±4,40	4,00	-63,2 ± 4,6
Нифедипин	–	5,00	5,28±4,70	4,00	-71,8 ± 3,4
<i>Композиция 1 (N-ацетил-L-пролин + АТФ)</i>					
АЦП	1	3,64	3,81±3,47	3,00	-78,5 ± 2,4 [#]
АТФ	1	3,64	3,81±3,47	3,00	
АЦП	10	3,04	3,24±2,84	3,00	
АТФ	1	4,04	4,24±3,84	4,00	-61,1 ± 5,1 ^{*#}
<i>Композиция 2 (N-ацетил-L-пролин + колхицин)</i>					
АЦП	1	3,30	3,43±3,17	4,00	-39,3 ± 1,7 ^{*¥}
Колхицин	1	3,30	3,43±3,17	4,00	
АЦП	10	3,20	3,43±2,97	3,00	-55,3 ± 7,2 ^{*¥}
Колхицин	1	4,20	4,43±3,97	4,00	
<i>Композиция 3 (N-ацетил-L-пролин + нифедипин)</i>					
АЦП	1	4,71	5,82±3,59	4,00	-79,4 ± 8,6
Нифедипин	1	4,71	5,82±3,59	4,00	
АЦП	10	3,70	4,55±2,84	3,00	-82,8 ± 7,4
Нифедипин	1	4,70	5,55±3,84	4,00	

П р и м е ч а н и е. Ск – соотношение компонентов; IC₅₀ – концентрация испытуемого соединения, ингибирующая респираторный взрыв макрофагов на 50% по отношению к контролю при индивидуальном или комбинированном применении (представлена в виде отрицательного десятичного логарифма молярной концентрации); EC_{max} – максимальная эффективная концентрация; E_{max} – максимальный эффект, в % подавления ХЛ, указано среднее значение и ошибка среднего. $P < 0,05$ в сравнении с изолированным действием АЦП (*), АТФ (#), колхицина (¥). То же для табл. 3.

Т а б л и ц а 3. Индивидуальное и комбинированное действие N-ацетил-L-пролина, АТФ, нифедипина и колхицина на Nox2-зависимую генерацию АФК в макрофагах (по критерию DAUC ХЛ) ($n = 5$)

Состав композиции	Ск	IC ₅₀ (-Log, M)		EC _{max} (-Log, M)	E _{max} , % (M ± m)
		Среднее значение	Доверительный интервал (95%)		
АЦП	–	3,51	3,79±3,23	3,00	-70,3 ± 3,9
АТФ	–	3,53	4,12±4,95	3,00	-96,7 ± 1,0
Нифедипин	–	5,85	6,36±5,34	4,00	-99,9 ± 2,9
Колхицин	–	4,89	5,29±4,50	4,00	-66,8 ± 4,9
<i>Композиция 1 (N-ацетил-L-пролин + АТФ)</i>					
АЦП	1	4,81	5,28±4,33	3,00	-99,0 ± 0,9 ^{*#}
АТФ	1	4,81	5,28±4,33	3,00	
АЦП	10	3,66	3,86±3,46	3,00	-78,4 ± 7,3 [#]
АТФ	1	4,66	4,86±4,46	4,00	
<i>Композиция 2 (N-ацетил-L-пролин + колхицин)</i>					
АЦП	1	4,30	4,38±4,22	4,00	-55,8 ± 3,8 [*]
Колхицин	1	4,30	4,38±4,22	4,00	
АЦП	10	3,46	3,57±3,35	3,00	-68,7 ± 6,0
Колхицин	1	4,46	4,57±4,35	4,00	
<i>Композиция 3 (N-ацетил-L-пролин + нифедипин)</i>					
АЦП	1	5,12	6,21±4,03	4,00	-99,6 ± 1,3 [*]
Нифедипин	1	5,12	6,21±4,03	4,00	
АЦП	10	4,32	5,29±3,35	3,00	-99,9 ± 3,1 [*]
Нифедипин	1	5,32	6,29±4,35	4,00	

Комбинация N-ацетил-L-пролина и АТФ интересна тем, что последний накапливается в очагах клеточных повреждений, обладает анальгетическим действием и может, как и N-ацетил-L-пролин, угнетать активность Nox2. Изучение нескольких комбинаторных сочетаний в диапазоне молярных соотношений от 10:1 до 1:1 показало, что в отношении совокупной генерации АФК соединения работают как антагонисты, тогда как на Nox2-зависимую продукцию они оказывают синергичное ингибирующее действие (табл. 4).

Т а б л и ц а 4. Значения комбинаторного индекса (СІ) для двухкомпонентных комбинаций N-ацетил-L-пролина (АЦП) с АТФ, нифедипином и колхицином

Состав композиции		Ск	СІ для [С _{16...84%}]					М [СІ] ₃₀₋₇₀	Степень синергизма
			16	30	50	70	84		
АУС ХЛ (совокупная генерация АФК)	АЦП	1	22,605	5,117	1,352	0,489	–	2,319	3–
	АТФ	1							
	АЦП	10	8,012	4,957	3,117	–	–	4,037	4–
	АТФ	1							
	АЦП	1	0,803	5,202	–	–	–	5,202	4–
	Колхицин	1							
	АЦП	10	10,323	7,399	6,966	–	–	7,183	4–
Колхицин	1								
АЦП	1	9,872	4,469	2,026	0,936	0,451	2,477	3–	
Нифедипин	1								
АЦП	10	23,833	7,593	2,650	1,034	0,446	3,759	4–	
Нифедипин	1								
ДАУС ХЛ (Nox2-зависимая генерация АФК)	АЦП	10	1,175	0,948	0,771	0,648	–	0,789	2 +
	АТФ	1							
	АЦП	1	0,380	0,183	0,093	0,053	0,033	0,110	4 +
	АТФ	1							
	АЦП	1	0,296	1,065	4,075	–	–	2,570	3–
	Колхицин	1							
	АЦП	10	3,073	3,383	3,827	–	–	3,605	4–
Колхицин	1								
АЦП	1	7,277	6,249	5,465	4,817	4,278	5,510	4–	
Нифедипин	1								
АЦП	10	6,173	4,301	3,530	3,107	2,809	3,646	4–	
Нифедипин	1								

П р и м е ч а н и е. Ск – соотношение компонентов; СІ для [16...84%] – значения комбинаторного индекса на уровне E₁₆–E₈₄; М [СІ]₃₀₋₇₀ – средневзвешенное значение, рассчитанное как $M[CI_{30-70}] = [CI_{30} + CI_{50} + CI_{70}]/3$.

Ингибирующее действие АТФ (вопрос обсуждался ранее в работе [1]) можно объяснить экспрессией на макрофагах P2Y₁₁ рецепторов, обладающих высоким сродством к АТФ и ассоциированных с Gs-протеином, ответственным за подавление активности Nox2. Синергичное ингибирующее действие N-ацетил-L-пролина и АТФ на Nox2-зависимую генерацию АФК объяснимо, учитывая, что эти модуляторы имеют в макрофагах разные, независимые мишени, управляющие активностью ферментного комплекса. Что касается антагонизма в отношении совокупной генерации АФК, то, вероятно, он обусловлен умеренным стимулирующим влиянием АТФ в отношении базовой (спонтанной) генерации АФК в фагоцитах [1].

Комбинация АЦП с нифедипином и колхицином. Нифедипин и колхицин обладают сильным ингибирующим действием на генерацию в макрофагах АФК при изолированном применении (табл. 2, 3). Сочетание обоих с N-ацетил-L-пролином (в соотношении от 10:1 до 1:1) проявлялось выраженным антагонизмом в отношении совокупного и Nox2-зависимого пула АФК (табл. 4). Этот антагонизм закономерен, если учесть, что ингибирующее действие и нифедипина и колхицина на макрофагальную генерацию АФК обусловлено нарушением сборки Nox2, тогда как мишенью N-ацетил-L-пролина является сам ферментный комплекс. Любые соединения, нарушающие его формирование, должны проявлять антагонизм к N-ацетил-L-пролину, что и зафиксировано в нашем исследовании.

Полученные данные показывают, что, комбинируя противовоспалительные и цитопротекторные соединения между собой, следует учитывать их фармакодинамические взаимодействия на уровне главных мишеней во избежание антагонистических влияний *in vivo*.

Комбинации N-ацетил-L-пролина и ингибиторов синтеза простагландинов. Учитывая, что фармакодинамический профиль N-ацетил-L-пролина, обладающего противовоспалительным и анальгезирующим действием, не связан с ингибированием синтеза простагландинов – главным механизмом действия нестероидных противовоспалительных средств (НПВС), представляло интерес изучить потенциал фармакодинамического взаимодействия N-ацетил-L-пролина с соединениями этой фармакологической группы. В исследование были включены неизбирательные ингибиторы циклооксигеназ (ЦОГ1 и ЦОГ2) – салицилаты (кислота салициловая (СК) и ацетилсалициловая (АСК)) и мелоксикам (МКМ), избирательно блокирующий ЦОГ2.

Исследование показало, что СК обладает слабой ингибирующей активностью в отношении Nox2-зависимой генерации АФК в макрофагах с $E_{max} = 28\%$ при концентрации 10^{-3} моль/л. Комбинирование СК и N-ацетил-L-пролина в молярном соотношении 1:1 проявляется фармакодинамическим антагонизмом в отношении совокупной генерации АФК и синергизмом в отношении Nox2-зависимого процесса (табл. 5, 6).

Таблица 5. Индивидуальное и комбинированное действие N-ацетил-L-пролина (АЦП) и салициловой кислоты (СК) на окислительный взрыв макрофагов ($n = 5$)

Состав композиции	СК	IC ₅₀ (-Log, M)		EC _{max} (-Log, M)	E _{max} , % (M ± m)
		Среднее значение	Доверительный интервал (95%)		
<i>1. Совокупная генерация АФК</i>					
АЦП	–	3,50	3,73±3,30	3,00	-72,6 ± 5,9
СК	–	–	–	3,00	-23,9 ± 8,4
<i>Комбинация АЦП + СК</i>					
АЦП	1	2,34	2,55±2,13	4,00	-29,8 ± 6,6
СК	1	2,34	2,55±2,13	4,00	
<i>2. Nox2-зависимая генерация АФК</i>					
АЦП	–	3,51	3,83±3,19	3,00	-70,1 ± 6,7
СК	–	–	–	3,00	-28,0 ± 10,8
<i>Комбинация АЦП + СК</i>					
АЦП	1	3,25	3,46±3,05	4,00	-38,6 ± 7,2
СК	1	3,25	3,46±3,05	4,00	

Примечание. Обозначения как в табл. 1.

Таблица 6. Значения комбинаторного индекса (CI) для комбинаций N-ацетил-L-пролина (АЦП) и салициловой кислоты (СК)

Состав композиции		СК	CI для [IC _{16...50%}]			M [CI] ₃₀	Степень синергизма
			16	30	50		
AUC ХЛ (Совокупная генерация АФК)	АЦП	1	1,741	4,896	–	4,896	4–
	СК	1					
DAUC ХЛ (Nox2-зависимая генерация АФК)	АЦП	1	0,264	0,689	–	0,689	3+
	СК	1					

Примечание. Обозначения как в табл. 1.

Действие АСК и МКМ отличается тем, что в диапазоне концентраций, соответствующих терапевтическим, они оказывают умеренное стимулирующее действие на респираторный взрыв фагоцитов. Этот эффект, показанный нами и для других ингибиторов ЦОГ [2], может иметь двойное значение в реализации их терапевтических эффектов. С одной стороны, увеличение генерации АФК может усиливать тканевые повреждения при воспалении, ослабляя противовоспалительный и анальгетический эффекты НПВС. С другой стороны, в серии исследований, выполненных А. Куга и соавт. [9], показано, что усиление макрофагальной генерации АФК подавляет

функцию Т-хелперов, замедляя прогрессирование некоторых форм артрита. Можно предположить, что этот механизм вносит определенный вклад в терапевтическое действие ингибиторов ЦОГ при таких патологических состояниях.

Добавление N-ацетил-L-пролина к АСК и МКМ в молярном соотношении 1:1 не оказывало влияния на стимулирующий эффект этих соединений в отношении макрофагальной генерации АФК, тогда как десятикратное превалирование N-ацетил-L-пролина полностью устраняло стимулирующее действие обоих ингибиторов ЦОГ (табл. 7).

Т а б л и ц а 7. Индивидуальное и комбинированное действие N-ацетил-L-пролина (АЦП), ацетилсалициловой кислоты (АСК) и мелоксикама (МКМ) в отношении макрофагальной генерации АФК ($M \pm m$, % к контролю) ($n = 6$)

ЕС (-Log, M)	AUC ХЛ (совокупная генерация АФК)		DAUC ХЛ (Nox2-зависимая генерация АФК)	
	АСК	МКМ	АСК	МКМ
6,0	–	+ 19,2 ± 4,3*	–	+ 32,2 ± 4,6*
5,0	-7,1 ± 4,6	+ 31,0 ± 5,5*	-7,6 ± 5,6	+ 57,3 ± 8,4*
4,0	+ 19,4 ± 4,1*	+ 1,9 ± 5,9	+ 18,7 ± 3,8*	-6,2 ± 8,3
3,0	+ 35,6 ± 4,9*	-36,1 ± 3,9*	+ 41,3 ± 5,7*	-42,4 ± 3,1*
2,0	-31,7 ± 6,1*	–	-25,7 ± 2,9*	–
Ск 10/1	АЦП 10/АСК1	АЦП 10/МКМ1	АЦП 10/АСК1	АЦП 10/МКМ1
5,0/6,0	-24,5 ± 2,3*	+ 3,8 ± 6,8 [¥]	-18,1 ± 7,3	+ 6,5 ± 4,7 [¥]
4,0/5,0	-21,7 ± 2,1* #	-9,2 ± 7,3	-24,8 ± 4,7* #	-17,3 ± 5,5* [¥]
3,0/4,0	-47,3 ± 3,5* #	-64,1 ± 9,8* [¥]	-52,8 ± 5,6* #	-67,4 ± 4,4* [¥]
Ск 1/1	АЦП 1/АСК1	АЦП 1/МКМ1	АЦП 1/АСК1	АЦП 1/МКМ1
6,0/6,0	-14,0 ± 0,8*	+ 24,3 ± 5,8*	-22,0 ± 5,5*	+ 40,1 ± 7,2*
5,0/5,0	-20,9 ± 3,5*	+ 18,6 ± 6,2*	-21,7 ± 5,5* #	+ 27,9 ± 7,6* [¥]
4,0/4,0	+ 21,3 ± 3,4*	-12,4 ± 8,9 [¥]	+ 33,3 ± 6,1* #	-17,5 ± 1,9*

П р и м е ч а н и е. Ск – соотношение компонентов; ЕС – диапазон эффективных концентраций (представлен в виде отрицательного десятичного логарифма молярной концентрации); эффект представлен в % подавления ХЛ, указано среднее значение и ошибка среднего. $P < 0,05$ в сравнении с контролем (*), индивидуальным действием АСК (#), индивидуальным действием МКМ (¥).

Результаты исследования дают основание предполагать, что концентрации N-ацетил-L-пролина, которые образуются при разрушении соединительной ткани, не изменяют терапевтических эффектов ингибиторов ЦОГ, ассоциированных с макрофагальной генерацией АФК, тогда как назначение N-ацетил-L-пролина в качестве лекарственного средства может существенно модифицировать их действие. Это предположение подтвердили дальнейшие исследования комбинаций N-ацетил-L-пролина и МКМ. На модели острого адьювантного артрита, индуцированного карагеном, N-ацетил-L-пролин усиливал противовоспалительный эффект МКМ (результаты не опубликованы).

Очевидно, ингибиторы $COX/PRODH$ (включая производные L-пролина) и ингибиторы ЦОГ обладают мощным потенциалом фармакодинамического взаимодействия, изучение которого представляет интерес с позиции комбинированной фармакотерапии патологических состояний, ассоциированных с оксидантным стрессом.

Выводы

1. N-ацетил-L-пролин и N-ацетил-L-гидроксипролин оказывают ингибирующее действие на продукцию АФК в макрофагах с EC_{50} 0,32 и 0,15 мМ соответственно.

2. В отношении Nox2-зависимой макрофагальной продукции АФК N-ацетил-L-пролин демонстрирует синергизм в комбинации с АТФ и антагонизм в комбинации с нифедипином и колхицином.

3. N-ацетил-L-пролин при 10-кратном молярном превалировании нивелирует стимулирующее действие ацетилсалициловой кислоты и мелоксикама на респираторный взрыв фагоцитов в условиях *in vitro*.

Литература

1. Бизунок Н. А. // Мед. журн. 2011. № 3. С. 9–13.
2. Бизунок Н. А. // Белорус. мед. журн. 2002. № 2. С. 56–58.
3. Волчек А. В., Бокова М. Б., Романовский Д. И., Дубовик Б. В. // Рецепт. 2007. № 5. С. 25–34.
4. Волчек А. В., Романовский Д. И., Дубовик Б. В. // Рецепт. 2007. № 6. С. 33–38.
5. Шестаков В. А., Бойчевская Н. О., Шерстнев М. П. // Биофизика. 1978. № 4. С. 132–137.
6. Adams E., Frank L. // Ann. Rev. Biochem. 1980. Vol. 49. P. 1005–1061.
7. Baban B. A., Vinod M. P., Tanner J. J., Becker D. F. // Biochim. Biophys. Acta. 2004. Vol. 1701. P. 49–59.
8. Chou T.-Ch. // Pharm. Rev. 2006. Vol. 58. P. 621–681.
9. Chow S. C., Kass G. E., Orrenius S. // Neuropharmacology. 1997. Vol. 36, N 9. P. 1149–1156.
10. Donald S. P. // Cancer Res. 2001. Vol. 61. P. 1810–1815.
11. Haddox J. L. // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 1999. Vol. 40, N 10. P. 2427–2429.
12. Jones D. P. // Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2008. Vol. 295. P. C849–C868.
13. Kyra A. // J. Clin. Invest. 2007. Vol. 117, N 10. P. 3020–3028.
14. Osebold J. W. // J. Am. Vet. Med. Assoc. 1982. Vol. 181. P. 983–987.
15. Pandhare J., Cooper S. K., Phang J. M. // J. Biol. Chem. 2006. Vol. 281. P. 2044–2052.
16. Phang J. M., Pandhare J., Liu Y. // J. Nutr. 2008. Vol. 138. P. 2008S–2015S.
17. White T. A., Krishnan N., Becker D. F., Tanner J. J. // J. Biol. Chem. 2007. Vol. 282. P. 14316–14327.
18. Yamagishi S., Nakamura K., Matsui T. // Curr. Med. Chem. 2008. Vol. 15, N 2. P. 172–177.

N. A. BIZUNOK

PHARMACODYNAMIC INTERACTIONS OF N-SUBSTITUTED L-PROLINE DERIVATIVES AND DIFFERENT-ACTION CELL MODULATORS UPON FcγR-DEPENDENT PHAGOCYTOSIS MODELS

Summary

N-acetyl-L-proline and N-acetyl-L-hydroxyproline act as inhibitors upon the ROS generation in macrophages with EC₅₀ 0.32 mM and 0.15 mM, respectively. In relation to Nox2-dependent ROS generation N-acetyl-L-proline acts in a synergistic manner with ATP and in an antagonistic manner with nifedipine and colchicine; at a 10-fold excess, N-acetyl-L-proline levels the acetylsalicylic acid and meloxicam inducible action upon the respiratory burst.

УДК 616:612.017.1

А. Е. ГОНЧАРОВ¹, Л. П. ТИТОВ¹, С. В. КОШЕЛЕВ², Л. А. ПУТЫРСКИЙ²

ИММУННЫЙ СТАТУС И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫЙ ИММУННЫЙ ОТВЕТ У ПАЦИЕНТОК, СТРАДАЮЩИХ РАКОМ МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии, Минск, Беларусь,

²Республиканский научно-практический центр онкологии и медицинской радиологии, Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 13.03.2012)

Введение. Проблема профилактики и лечения онкологических заболеваний, занимающих по причине смертности второе место в мире, затрагивает значительное количество населения. Данные ВОЗ демонстрируют, что в 2008 г. зарегистрированная смертность от рака составила 7,6 млн случаев в год с тенденцией к увеличению в ближайшие десятилетия [1]. Рак молочной железы (РМЖ) – самое распространенное злокачественное новообразование у женщин индустриально развитых стран. В Республике Беларусь рак этой локализации у женщин занимает первое место, а в структуре смертности – второе. В 2008 г. заболеваемость РМЖ составила 70,3 случая на 100 000 населения [2].

В настоящее время не вызывает сомнений важность и необходимость применения хирургического, лучевого и химиотерапевтического лечения как классической триады в терапии рака. Однако даже у пациенток на ранних клинических стадиях злокачественного процесса стандартная жесткая схема традиционного лечения не может полностью решить одну из главных проблем онкологии – предотвращение рецидивов болезни [3, 4].

Роль иммунной системы индивидуума в предрасположенности к возникновению атипичных клеток и контроле злокачественного роста и метастазирования чрезвычайно велика [5]. Попытки стимуляции иммунной системы для лечения рака предпринимались неоднократно. Однако лишь в последнее десятилетие благодаря открытию молекулярных основ иммуномодулирующих воздействий удалось добиться определенных успехов в восстановлении и поддержании на высоком уровне специфической противоопухолевой иммунной защиты [6]. Во многих странах мира проходят клинические испытания способа иммунотерапии рака, основанного на использовании дендритных клеток (ДК) и антигенспецифических Т-лимфоцитов. Так, в настоящее время проходят клинические испытания метода иммунотерапии пациенток с РМЖ с использованием ДК, праймированных различными антигенами [7–10]. Результаты большинства исследований обнадеживающие: показана безопасность применения ДК и хороший клинический эффект. Убедительные доказательства безопасности и эффективности лечения рака простаты с использованием ДК, показанные на 512 пациентах, позволили Управлению по контролю за качеством пищевых продуктов и лекарственных препаратов США в 2010 г. одобрить использование данного метода терапии для широкого применения [11].

В Республике Беларусь научные исследования с целью использования аутологичных ДК для иммунотерапии хронических инфекций и рака начаты в 2005 г. [12–18]. В настоящее время на базе РНПЦ онкологии и медицинской радиологии в рамках задания ГНТП проводятся клинические испытания «Метода противорецидивной аутоиммунотерапии пациентов с первичным агрессивным раком молочной железы с использованием аутологичных дендритных клеток, праймированных опухоли-ассоциированными антигенами», разработанного совместными усилиями сотрудников РНПЦ эпидемиологии и микробиологии и РНПЦ онкологии и медицинской

радиологии. Программа испытаний утверждена решением Комиссии по способам профилактики, диагностики, лечения, реабилитации и организационным формам работы Министерства здравоохранения РБ (протокол от 6 мая 2010 г.).

Цель работы – оценка показателей иммунного статуса и опухолеспецифического иммунного ответа у пациенток с РМЖ, включенных в клинические испытания нового метода адъювантной иммунотерапии РМЖ.

Объекты и методы исследования. Объектами исследований служили образцы периферической крови 28 пациенток с РМЖ I–II клинической стадии (РНПЦ онкологии и медицинской радиологии). Группа здоровых лиц включала 24 человека (сотрудники РНПЦ эпидемиологии и микробиологии). Иммуногистохимический статус пациенток характеризовался высокой экспрессией мутантного p53-протеина и маркера пролиферации Ki-67.

Исследовали следующие субпопуляции лимфоцитов периферической крови: CD3⁺ Т-лимфоциты, TCRαβ⁺ Т-лимфоциты, TCRγδ⁺ Т-лимфоциты, CD3⁺CD4⁺ Т-хелперы, CD3⁺CD8⁺ Т-цитотоксические лимфоциты, CD4⁺CD25^{high} Т-регуляторные клетки, CD3⁻CD16⁺CD56⁺ естественные киллеры, CD3⁺CD45R0⁺ Т-клетки памяти, CD3⁺HLA-DR⁺ Т-лимфоциты активированные, CD19⁺ В-лимфоциты, CD19⁺CD5⁺ В1-лимфоциты, CD19⁺CD5⁻CD27⁺ В-лимфоциты памяти, CD3⁺CD69⁺ Т-лимфоциты активированные, CD28⁺ Т-лимфоциты [19]. Для определения иммунофенотипа лимфоцитов венозную гепаринизированную кровь в количестве 50 мкл инкубировали с соответствующими моноклональными антителами (CD3, CD4, CD5, CD8, CD16, CD19, CD25, CD27, CD28, CD45, CD45R0, CD56, CD69, HLA-DR, TRCαβ и TRCγδ) производства Beckman-Coulter, Vестon-Dickinson и Invitrogen (США) в течение 15 мин при температуре 4 °С. Эритроциты лизировали раствором хлорида аммония на протяжении 15 мин при температуре 18–25 °С, затем осаждали путем центрифугирования, удаляли супернатант и суспендировали в DPBS [19, 20].

Определение внутриклеточных цитокинов и антигенспецифических клеток. К крови в количестве 500 мкл добавляли: 1) DPBS; 2) форбол-12-миристат-13-ацетат (25 нг/мл) и иономицин (1 мкг/мл); 3) синтетические короткоцепочечные пептиды мутантного протеина p53: p53_{65–73} RMPEAAPPV, p53_{264–272} LLGRNSFEV, p53_{139–147} KLCPVQLWV, p53_{103–111} YLGSYGFRL в количестве 10 мкг/мл каждого, доводили объем средой RPMI-1640 до 1 мл и культивировали 2 ч при температуре 37 °С. Затем добавляли монензин (10 мкг/мл) и дополнительно инкубировали в течение 4 ч. Активированную кровь в количестве 100 мкл инкубировали с моноклональными антителами к CD3 15 мин при температуре 4 °С. Эритроциты лизировали 15 мин раствором хлорида аммония, а затем осаждали путем центрифугирования и удаляли супернатант. Клетки фиксировали в 4%-ном растворе параформальдегида 10 мин, объем клеточной взвеси доводили фосфатным буфером до 3 мл и центрифугировали пробирки для осаждения клеток. Удалив супернатант, клетки ресуспендировали в 0,1%-ном растворе сапонина для пермеабиллизации и инкубировали 15 мин, после чего отмывали в 3 мл DPBS. Надосадочную жидкость удаляли, клетки инкубировали с моноклональными антителами к внутриклеточным цитокинам (интерферон-(ИНФ)-γ, интерлейкин(ИЛ)-17A) и соответствующими изотипическими контролями 30 мин при 4 °С. По истечении времени инкубации клетки отмывали от несвязавшихся антител, суспендировали в DPBS и исследовали на проточном цитофлуориметре FACSCalibur (BD, США) [21–25]. Данные анализировали при помощи программы Weasel, версия 3 (WENI, Австралия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием программного обеспечения Statistica, версия 8 (StatSoft, США). Значения показателей представлены в виде Me (25–75), где Me – медиана, а 25 и 75 – интерквартильный размах в виде 25-й и 75-й процентилей. Нормальность распределения величин оценивали с использованием W-критерия Шапиро–Вилка. Учитывая отсутствие в большинстве исследованных выборок нормального распределения, для сравнения двух независимых выборок использовали U-критерий Манна–Уитни. Для определения зависимостей между показателями использовали коэффициент корреляции Спирмана (R). В качестве критерия достоверности различий между показателями принимали уровень значимости P < 0,05 [26, 27].

Результаты и их обсуждение. С целью контроля иммунологической эффективности проводимой терапии ДК исследовали показатели иммунного статуса у пациенток с РМЖ до начала и в процессе иммунотерапии.

Лейкопения (число лейкоцитов ниже $4 \cdot 10^6/\text{мл}$ [28–31]) была выявлена у 3 ($10,7 \pm 5,8\%$) из 28 пациенток с РМЖ. Несмотря на то что содержание лейкоцитов у остальных пациентов было выше минимальной границы нормальных показателей, число лейкоцитов было статистически достоверно снижено в группе пациенток с РМЖ по сравнению с контролем (РМЖ – $4,8 (4,3–6,1) \cdot 10^6/\text{мл}$, контроль – $6,5 (5,3–6,9) \cdot 10^6/\text{мл}$; $P = 0,0003$). Показатели относительного числа лимфоцитов у пациенток исследованных групп не имели достоверных различий (РМЖ – $30,0 (23,0–35,0)\%$, контроль – $33,3 (24,3–39,2)\%$; $P = 0,12$), в то время как абсолютное число лимфоцитов было ниже (РМЖ – $1,4 (1,1–1,7) \cdot 10^6/\text{мл}$, контроль – $2,0 (1,4–2,5) \cdot 10^6/\text{мл}$; $P = 0,003$). Указанные выше изменения в гемограмме показали, что, несмотря на отсутствие явных признаков вторичного иммунодефицита, у пациенток наблюдалось угнетение клеточных резервов иммунной системы.

Известно, что CD3^+ Т-лимфоциты по типу Т-клеточного рецептора разделяют на $\text{TCR}\alpha\beta^+$ клетки, основную субпопуляцию Т-лимфоцитов, и $\text{TCR}\gamma\delta^+$ лимфоциты, связывающие суперантигены без обязательной презентации вместе с молекулами ГКС [10, 22]. У пациенток с РМЖ относительное число как $\text{TCR}\alpha\beta^+$, так и $\text{TCR}\gamma\delta^+$ клеток было сравнимо с таковым в группе здоровых лиц (табл. 1). Абсолютное же содержание CD3^+ Т-лимфоцитов и их $\text{TCR}\alpha\beta^+$ и $\text{TCR}\gamma\delta^+$ субпопуляций было достоверно снижено.

Т а б л и ц а 1. Содержание Т-лимфоцитов и их субпопуляций у пациенток с РМЖ

Группа	Субпопуляция, %				
	Т-клетки, CD3^+	$\text{CD3}^+\text{TCR}\alpha\beta^+$	$\text{CD3}^+\text{TCR}\gamma\delta^+$	Т-хелперы, $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$	Т-цитотокс., $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$
РМЖ ($n = 28$)	71,1 (65,5–76,1)	67,0 (62,8–70,9)	3,4 (2,2–5,2)	43,0 (34,8–45,1)	30,0 (25,2–33,4)
Контроль ($n = 24$)	72,7 (68,4–80,1)	68,0 (63,6–74,5)	5,4 (2,3–6,9)	46,3 (42,5–53,8)	27,1 (22,4–33,7)
<i>P</i>	0,18	0,27	0,19	0,004	0,14
Группа	Субпопуляция, $10^6/\text{мл}$				
	Т-клетки, CD3^+	$\text{CD3}^+\text{TCR}\alpha\beta^+$	$\text{CD3}^+\text{TCR}\gamma\delta^+$	Т-хелперы, $\text{CD3}^+\text{CD4}^+$	Т-цитотокс., $\text{CD3}^+\text{CD8}^+$
РМЖ ($n = 28$)	0,99 (0,82–1,17)	0,92 (0,78–1,1)	0,04 (0,03–0,08)	0,55 (0,49–0,68)	0,45 (0,32–0,53)
Контроль ($n = 24$)	1,43 (1,05–1,83)	1,29 (0,99–1,68)	0,1 (0,04–0,15)	0,95 (0,73–1,19)	0,52 (0,42–0,7)
<i>P</i>	0,0001	0,0001	0,022	0,00001	0,07

У 64% пациенток с РМЖ было снижено абсолютное число CD4^+ Т-хелперов, а показатели, характеризующие количественное содержание CD8^+ цитотоксических лимфоцитов, находились в пределах физиологической нормы [19].

Снижение абсолютного числа лимфоцитов, безусловно, отражает существующие отклонения в нормальном функционировании иммунной системы. Однако для полноценного иммунного ответа не менее важным являются стабильные соотношения между субпопуляциями реагирующих на опухоль клеток иммунной системы. Расчет индексов между популяциями и субпопуляциями позволяет получить новую информацию о функциональном состоянии иммунокомпетентных клеток и дает возможность выявить повреждения молекулярно-клеточных механизмов функционирования системы иммунитета [32, 33].

Соотношение $\text{CD4}/\text{CD8}$ клеток является одним из традиционно используемых показателей, который позволяет охарактеризовать состояние клеточного иммунитета. Данное соотношение было статистически достоверно снижено у пациенток с РМЖ по сравнению с аналогичным показателем у здоровых лиц (РМЖ – $1,4 (1,1–1,7)$, здоровые лица – $1,8 (1,5–2,1)$; $P = 0,004$), что указывает на дисбаланс Т-системы иммунитета. Расчет соотношения $\text{TCR}\alpha\beta^+$ и $\text{TCR}\gamma\delta^+$ CD3^+ лимфоцитов позволил установить отсутствие достоверных различий между данными показателями у пациенток исследованных групп (РМЖ – $19,7 (12,7–31,1)$, контроль – $12,5 (9,9–31,0)$; $P = 0,22$).

У пациенток с РМЖ выявлено достоверное увеличение содержания естественных киллерных (ЕК)-клеток (РМЖ – $17,4 (11,3–23,0)\%$, контроль – $13,1 (9,0–16,6)\%$; $P = 0,008$). Соотношение Т-лимфоциты/ЕК-клетки было снижено у пациенток с РМЖ (РМЖ – $4,1 (2,9–6,7)$, контроль – $5,7 (4,2–8,7)$; $P = 0,01$), что указывает на увеличение доли ЕК-клеток среди лимфоцитов и их вовлеченность в противоопухолевый иммунитет.

Одной из важнейших молекул, экспрессированных на поверхности Т-лимфоцитов, является костимуляторная молекула CD28. Она является лигандом для молекул CD80 и CD86 на поверхности антигенпредставляющих клеток и наряду с ГКС II класса, Т-клеточным рецептором и рядом адгезивных молекул формирует иммунологический синапс, обеспечивая костимуляцию [31]. Снижение экспрессии молекулы CD28 и, следовательно, презентация антигена без сопутствующего костимуляторного сигнала приводит к формированию анергии Т-лимфоцитов [33]. Не удивительно, что содержание CD28⁺CD3⁺ лимфоцитов было снижено у пациенток с РМЖ, что, вероятно, отражает уровень процессов иммуносупрессии (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Показатели Т-клеточного звена иммунитета пациенток с РМЖ

Группа	Субпопуляция, %				
	Активированные Т-клетки CD3 ⁺ HLA ⁺	Активированные Т-клетки (ранняя активация) CD3 ⁺ CD69 ⁺	Т-регуляторные клетки CD4 ⁺ CD25 ^{high}	CD28 ⁺ Т-лимфоциты CD3 ⁺ CD28 ⁺	Т-клетки памяти CD3 ⁺ CD45R0 ⁺
РМЖ (n = 28)	7,2 (4,8–12,7)	5,1 (3,3–7,1)	4,5 (2,9–5,6)	48,8 (43,3–55,0)	50,2 (41,2–53,7)
Контроль (n = 24)	5,8 (4,8–7,8)	4,7 (3,7–7,4)	4,0 (3,1–5,0)	59,1 (51,8–61,4)	45,5 (41,3–48,7)
<i>P</i>	0,35	0,97	0,21	0,003	0,08
Группа	Субпопуляция, 10 ⁶ /мл				
	Активированные Т-клетки CD3 ⁺ HLA ⁺	Активированные Т-клетки (ранняя активация) CD3 ⁺ CD69 ⁺	Т-регуляторные клетки CD4 ⁺ CD25 ^{high}	CD28 ⁺ Т-лимфоциты CD3 ⁺ CD28 ⁺	Т-клетки памяти CD3 ⁺ CD45R0 ⁺
РМЖ (n = 28)	0,11 (0,07–0,16)	0,07 (0,05–0,11)	0,06 (0,04–0,08)	0,66 (0,55–0,89)	0,61 (0,53–0,82)
Контроль (n = 24)	0,1 (0,08–0,2)	0,12 (0,04–0,17)	0,09 (0,04–0,12)	1,13 (0,78–1,43)	0,87 (0,66–1,08)
<i>P</i>	0,34	0,08	0,13	0,00004	0,01

Количественные показатели, характеризующие состояние активированных и регуляторных Т-клеток, у пациенток с РМЖ и у здоровых лиц не имели существенных различий. В связи с этим был проведен расчет соотношений между популяциями этих клеток, которые в ряде случаев позволяют более точно выявить их долю среди общего пула Т-лимфоцитов. У пациенток с РМЖ выявлено увеличение соотношения Т-лимфоциты/Т-лимфоциты памяти (РМЖ – 1,6 (1,5–1,8), контроль – 1,4 (1,4–1,7); *P* = 0,03), что указывает на снижение содержания у них Т-клеток памяти. В то же время соотношения Т-клетки/Т-клетки регуляторные (РМЖ – 16,1 (11,5–23,4), контроль – 17,9 (14,9–26,5); *P* = 0,14) и Т-клетки/Т-клетки активированные (РМЖ – 9,6 (5,4–14,7), контроль – 12,8 (8,9–15,2); *P* = 0,13) у пациенток исследованных групп не имели достоверных различий. Снижение содержания Т-клеток памяти, возможно, обусловлено формированием анергии, на что также указывает снижение пула CD28⁺ лимфоцитов.

В-лимфоциты, как известно, разделяют на две основные популяции: CD19⁺CD5⁺ В1-лимфоциты и CD19⁺CD5⁻ В2-лимфоциты. В1-лимфоциты, продуцирующие «естественные» низкоаффинные полиреактивные антитела, не формируют клеток памяти. Показана ассоциация В1-лимфоцитов с продукцией аутоантител [19, 34]. У пациенток с РМЖ выявлено достоверное уменьшение относительного и абсолютного количества В-лимфоцитов в периферической крови (табл. 3).

Относительное количество В1-лимфоцитов достоверно не отличалось от аналогичного показателя у здоровых лиц, а абсолютное число В1-клеток было снижено у пациенток с РМЖ. В результате у больных РМЖ нарушается соотношение между В2- и В1-клетками (больные РМЖ –

Т а б л и ц а 3. Содержание субпопуляций В-лимфоцитов у пациенток с РМЖ

Группа	Субпопуляция, %		
	В-клетки, CD19 ⁺	В1-клетки, CD19 ⁺ CD5 ⁺	В-клетки памяти CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁺
РМЖ (n = 28)	8,8 (4,6–11,0)	2,7 (1,6–3,4)	1,1 (0,6–1,6)
Контроль (n = 24)	11,4 (8,4–13,3)	2,7 (2,1–3,3)	0,9 (0,5–1,3)
<i>P</i>	0,02	0,95	0,16
Группа	Субпопуляция, 10 ⁶ /мл		
	В-клетки, CD19 ⁺	В1-клетки, CD19 ⁺ CD5 ⁺	В-клетки памяти CD19 ⁺ CD5 ⁻ CD27 ⁺
РМЖ (n = 28)	0,12 (0,08–0,16)	0,03 (0,02–0,05)	0,015 (0,009–0,026)
Контроль (n = 24)	0,21 (0,14–0,30)	0,05 (0,04–0,07)	0,022 (0,006–0,028)
<i>P</i>	0,0002	0,01	0,53

2,2 (1,7–2,7), контроль – 3,1 (2,4–4,1); $P = 0,01$), преимущественно за счет снижения числа В1-клеток. Несмотря на уменьшение числа всех В-лимфоцитов, у больных РМЖ не выявлено уменьшения пула В-клеток памяти, хотя соотношение между этими популяциями (В-клетки/В-клетки памяти) существенно менялось (пациентки с РМЖ – 7,8 (4,8–11,0), контроль – 14,3 (7,1–24,3); $P = 0,001$).

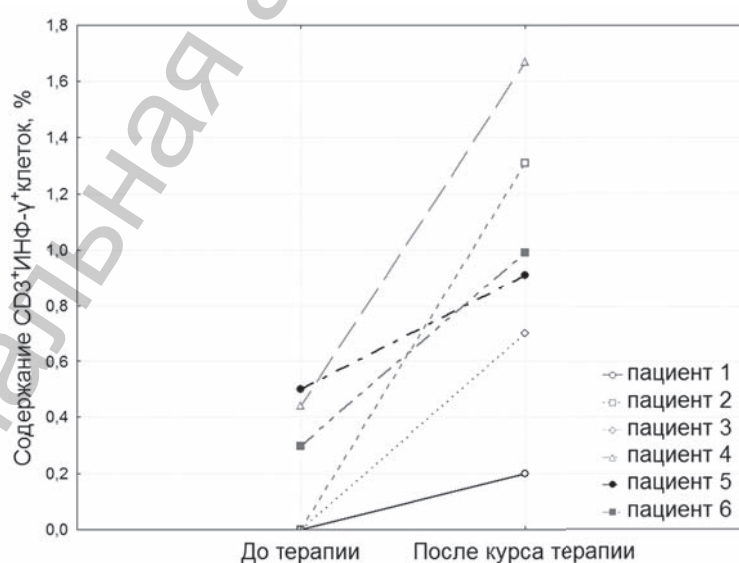
Учитывая, что основные иммунофенотипические показатели пациенток с РМЖ находятся в пределах физиологической нормы, более важным представляется анализ иммунофенотипа до и после проведенной иммунотерапии, что позволит выявить направленность реагирования иммунной системы на введение ДК.

Относительное количество лимфоцитов, продуцирующих те или иные цитокины в ответ на стимуляцию антигенами или неспецифическими активаторами, не только отражает количественное распределение субпопуляций клеток (ИФН- γ^+ Th1, ИЛ-17 $^+$ Th17), но и дает представление об их функции. Установлено, что у пациенток с РМЖ значительно увеличен пул ИЛ-17 $^+$ лимфоцитов (РМЖ – 0,53 (0,20–0,71)%, контроль – 0,1 (0,05–0,17)%; $P = 0,0002$), что указывает на дисбаланс провоспалительных цитокинов у больных РМЖ. В то же время число CD3 $^+$ ИФН- γ^+ у пациенток с РМЖ не отличалось достоверно от такового у здоровых лиц (РМЖ – 11,1 (8,0–15,1)%, контроль – 7,1 (5,1–14,0)%; $P = 0,157$).

Как показали исследования разных авторов, для оценки динамики формирования специфического иммунного ответа на терапию ДК можно использовать следующие методы: кожные тесты с антигеном, применяемым для праймирования ДК; определение антигенспецифических Т-лимфоцитов в крови при помощи тетрамерных антител; определение цитокин-продуцирующих клеток после сокультивирования с антигеном и последующей детекцией внутриклеточных цитокинов (в основном ИФН- γ) методом проточной цитометрии или при помощи метода ELISPOT; выявление цитотоксического эффекта CD8 $^+$ Т-лимфоцитов на клетки-мишени, экспрессирующие антиген; определение пролиферативного ответа Т-лимфоцитов на антиген до и после терапии; исследование экспрессии генов цитокинов [35, 36]. Предпочтительным методом является выявление Т-лимфоцитов, отвечающих продукцией цитокинов Th1-спектра в ответ на стимуляцию антигенами [21–25].

Оценка специфического иммунного ответа показала, что у 21 (75,0 \pm 8,2%) из 28 пациенток выявлены в крови антигенспецифические Т-лимфоциты. Их количество сильно варьировалось, составляя в среднем 0,75 (0,44–1,18)%.

Получены предварительные результаты исследования динамики накопления антигенспецифических Т-клеток до и после проведения иммунотерапии у 6 пациенток, прошедших полный курс иммунотерапии. Число антигенспецифических Т-лимфоцитов составило 0,15 (0,0–0,44)%



Динамика содержания антигенспецифических Т-клеток в процессе иммунотерапии дендритными клетками

в начале лечения и 0,95 (0,7–1,31)% после курса иммунотерапии ($P = 0,028$) (см. рисунок). Существенный прирост числа антигенспецифических клеток выявлен у 5 ($83,3 \pm 15,2\%$) из 6 пациенток, что является благоприятным прогностическим признаком. У одной пациентки с изначально неопределяемым количеством антигенспецифических клеток число последних практически не увеличилось в течение курса иммунотерапии и составило 0,2%, что расценивается как неблагоприятный прогностический признак и требует дополнительного курса стимуляции ДК.

Схожие результаты, указывающие на увеличение содержания антигенспецифических клеток в процессе иммунотерапии ДК, были получены и в других исследованиях [37–39].

Заключение. Иммунный статус пациенток с РМЖ характеризуется снижением абсолютного числа Т- и В-лимфоцитов, CD28⁺ Т-лимфоцитов и наличием дисбаланса в соотношении популяций Т- и В-лимфоцитов, в частности В1/В2-клеток и Т- и В-лимфоцитов памяти. Тем не менее, отсутствие явных признаков вторичного иммунодефицита у обследованных пациенток, безусловно, является благоприятным прогностическим фактором, указывающим на успешность проведения клеточной иммунотерапии у данной категории пациенток и высокую вероятность развития клеточного ответа достаточной силы на стимуляцию ДК. Оценка показателей специфического иммунного ответа показала, что у $75,0 \pm 8,2\%$ пациенток выявлены в крови антигенспецифические лимфоциты. При этом установлено увеличение числа антигенспецифических лимфоцитов в периферической крови у $83,3 \pm 15,2\%$ пациенток в процессе иммунотерапии, что свидетельствует о формировании иммунного ответа. Полученные данные позволяют надеяться на клиническую эффективность применения данного метода терапии РМЖ.

Литература

1. Информационный бюллетень ВОЗ. 2012. № 297.
2. Савицкий С. Э., Бобко Ю. И., Бобко И. Н. и др. // Онкол. журн. 2010. Т. 4, № 4. С. 35–39.
3. Goldhirsch A., Wood W. C., Gelber R. D. et al. // Ann. Oncol. 2007. Vol. 18, N 7. P. 1133–1144.
4. Goldhirsch A., Coates A. S., Gelber R. D. et al. // Ann. Oncol. 2006. Vol. 17. P. 1772–1776.
5. Тумов Л. П. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед.-біял. навук. 2002. № 2. С. 103–116.
6. Palucka K., Ueno H., Banchereau J. // J. Immunol. 2011. Vol. 186. P. 1325–1331.
7. Dees E. C., McKinnon K. P., Kuhns J. J. et al. // Cancer Immunol. Immunother. 2004. Vol. 53. P. 777–785.
8. Svane I. M., Pedersen A. E., Johansen J. S. et al. // Cancer Immunol. Immunother. 2007. Vol. 56. P. 1485–1499.
9. Czerniecki B. J., Koski G. K., Koldovsky U. et al. // Cancer Res. 2007. Vol. 67, N 4. P. 1842–1852.
10. Cellular Immunotherapy Study with Autologous Dendritic Cells Loaded with Oncofetal Antigen/iLRP in Patients with Metastatic Breast Cancer // U. S. National Institutes of Health Clin. Trials. 2009.
11. Cheever M. A., Higano C. S. // Clin. Cancer Res. 2011. Vol. 17. P. 3520.
12. Гончаров А. Е., Тумов Л. П., Янович О. О. // Мед. иммунология. 2006. Т. 8, № 2–3. С. 131–132.
13. Гончаров А. Е., Тумов Л. П., Жмуровская Л. С. // Здоровоохранение. 2007. № 11. С. 28–32.
14. Гончаров А. Е., Тумов Л. П. // Докл. НАН Беларуси. 2008. Т. 52, № 1. С. 92–96.
15. Тумов Л. П., Гончаров А. Е., Путьрский Л. А. и др. // Здоровоохранение. 2010. Т. 10. С. 52–55.
16. Titov L. P., Hancharou A. Y., Zhmurovskaya L. S. et al. // J. Allergy Clin. Immunol. 2010. Vol. 125, N 2. P. AB13.
17. Titov L. P., Hancharou A. Y., Putyrski L. et al. // Allergy. 2010. Vol. 65. Suppl. 99. P. 505.
18. Titov L. P., Hancharou A. Y., Skrahina A. M. // Allergy. 2011. Vol. 66. Suppl. 94. P. 513.
19. Хайдуков С. В., Зурочка А. В., Толоян А. А. и др. // Мед. иммунология. 2009. Т. 11, № 2–3. С. 227–238.
20. Пинегин Б. В., Ярилин А. А., Симонова А. В. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека. М., 2001.
21. Rezvani K., Yong A. S., Mielke S. et al. // Blood. 2008. Vol. 111. P. 236–242.
22. Babel N., Brestich G., Gondek L. P. et al. // Am. Soc. Nephrol. 2009. Vol. 20. P. 344–352.
23. Widmann T., Sester U., Gärtner B. C. et al. // PLoS ONE. 2008. Vol. 3, N 11. P. e3634.
24. Sester M., Sester U., Köhler H. et al. // AIDS. 2000. Vol. 14. P. 2653–2660.
25. Kiecker F., Stréitz M., Ay B. et al. // Human Immunol. 2004. Vol. 65. P. 523–536.
26. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. М., 2008.
27. Genser B., Cooper P. J., Yazdanbakhsh M. et al. // BMC Immunol. [Электронный ресурс]. 2007. Vol. 8, N 27. Режим доступа: <http://www.biomedcentral.com/1471-2172/8/27>. Дата доступа: 12.03.2012.
28. Караулов А. В. Клиническая иммунология и аллергология. М., 2002.
29. Новиков Д. К. Медицинская иммунология. Минск, 2005.
30. Земсков А. М. Клиническая иммунология: учебник. М., 2008.
31. Тумов Л. П. Иммунология: терминологический словарь. М., 2008.

32. *Титов Л. П., Тарасюк В. В., Черношей Д. А., Жмуровская Л. С.* Метод оценки состояния Т-системы иммунитета у больных гепатитом С и микст-гепатитом С+С с использованием индексов активации и апоптоза: утв. Мин-вом здравоохран. Респ. Беларусь, рег. № 184–1205. Минск, 2005.
33. *Тарасюк В. В., Титов Л. П.* // *Здравоохранение*. 2005. № 8. С. 55–58.
34. *LeBien T. W., Tedder T. F.* // *Blood*. 2008. Vol. 112. P. 1570–1580.
35. *Curigiano G., Spitaleri G., Pietri E.* et al. // *Ann. Oncol.* 2006. Vol. 17. P. 750–762.
36. *Svane I. M., Pedersen A. E., Nikolajsen K., Zocca M. B.* // *Vaccine*. 2008. Vol. 26. P. 4716–4724.
37. *Brossart P., Wirths S., Stuhler G.* et al. // *Blood*. 2000. Vol. 96. P. 3102–3108.
38. *Svane I. M., Pedersen A. E., Johnsen H. E.* // *Cancer Immunol. Immunother.* 2004. Vol. 53. P. 633–641.
39. *Czerniecki B. J., Koski G. K., Koldovsky U.* // *Cancer Res.* 2007. Vol. 67, N 4. P. 1842–1852.

A. Y. HANCHAROU, L. P. TITOV, S. V. KOSHALEU, L. A. PUTYRSKI

**IMMUNE STATUS AND ANTITUMORAL IMMUNE RESPONSE IN PATIENTS
WITH BREAST CANCER**

Summary

The aim of the current research was to assess the immune status and tumor specific immune response in patients with breast cancer included into the trials of a new method of dendritic cell-based adjuvant breast cancer immunotherapy.

Immune status and specific immune response parameters were studied in 28 patients with breast cancer. It was shown that immunophenotypic parameters of patients ranged within normal physiological values. Antigen-specific cells were not detected in the blood of $25.0 \pm 8.2\%$ patients. The increase of antigen-specific lymphocytes in peripheral blood of $83.3 \pm 15.2\%$ patients during the course of immunotherapy was shown, indicative of the formation of immune response.

УДК 612.014.464:612.014.1-092.4

И. Л. КОТОВИЧ, Ж. А. РУТКОВСКАЯ, А. Д. ТАГАНОВИЧ

**ПРОДУКЦИЯ АКТИВНЫХ ФОРМ КИСЛОРОДА И АЗОТА КЛЕТКАМИ
БРОНХОАЛЬВЕОЛЯРНОЙ ЖИДКОСТИ В УСЛОВИЯХ
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ГИПЕРОКСИИ**

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

(Поступила в редакцию 11.01.2012)

Введение. Интерес к проблеме влияния на организм гипероксии обусловлен, главным образом, использованием кислорода в терапевтических целях. В частности, сравнительно высокая концентрация кислорода содержится в воздухе, заполняющем легкие во время искусственной вентиляции легких (ИВЛ) при выхаживании глубоконедоношенных детей с экстремально низкой массой тела при рождении. Для недоношенных детей характерны несформированность альвеолярного отдела легких, утолщение и отек стенок воздухопроводящих путей [1, 2]. Поэтому для обеспечения эффективного газообмена у них длительно применяют ИВЛ с высокой концентрацией кислорода во вдыхаемой смеси. Одним из распространенных последствий данной процедуры является повреждение легких и формирование бронхолегочной дисплазии. Механизм ее возникновения в таких условиях неизвестен, что объясняет отсутствие на сегодняшний день эффективных подходов, позволяющих предотвратить или ослабить ее развитие.

Согласно одной из гипотез, условия гипероксии провоцируют развитие окислительного стресса. При этом основное действие активных форм кислорода (АФК) направлено на индукцию процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) в биологических мембранах, повреждение мембраносвязанных белков, ферментов и ДНК клеток. Тем не менее, в ряде исследований не было обнаружено стимуляции процесса ПОЛ и накопления продуктов липопероксидации в легких под действием высоких доз кислорода [3]. Кроме того, легкие имеют мощную систему антиоксидантной защиты, представленную внутри- и внеклеточными формами ферментов (супероксиддисмутазой – СОД, глутатионпероксидазой, каталазой), а также неферментативными антиоксидантами, важнейшим из которых является восстановленный глутатион [4]. В норме эти антиоксиданты позволяют эффективно обезвреживать свободные радикалы.

В физиологических условиях основными продуцентами активных форм кислорода в легких являются альвеолярные макрофаги. Вклад других клеток (эндотелиальных, гладкомышечных, альвеолоцитов II типа, фибробластов) обычно расценивается как незначительный [5]. При патологии генерацию активных форм кислорода осуществляют не только «резидентные» клетки легких, но и нейтрофилы, эозинофилы, лимфоциты, моноциты крови, принимающие участие в развитии воспалительной реакции. При разных патологических процессах установить основной клеточный источник свободных радикалов в легких обычно не представляется возможным [6], тем не менее роль АФК в развитии ряда заболеваний (астма, муковисцидоз, идиопатический легочный фиброз, саркоидоз) является общепризнанной [4, 7]. Важно отметить, что кислород-активирующая способность имеет значение не только для фагоцитирующих клеток при развитии противоинфекционного ответа, но и в процессах межклеточной сигнализации [8, 9].

Важная роль в продукции АФК принадлежит сложному мембранному комплексу – НАДФН-оксидазе [10, 11]. При соответствующей активации происходит сборка цитозольных и мембранных субъединиц фермента, который катализирует реакцию окисления НАДФН до НАДФ⁺ и одно-

временно способствует одноэлектронному восстановлению O_2 до O_2^- (супероксидного анион-радикала). Супероксидный анион-радикал спонтанно или в результате ферментативных превращений преобразуется в пероксид водорода, который разрушается с участием каталазы. Функционирование НАДФН-оксидазного комплекса тесно связано с рецепторным аппаратом плазматических мембран [10]. Определенный вклад в продукцию АФК могут вносить и другие ферментные системы – миелопероксидаза, присутствующая в нейтрофилах и эозинофилах, ксантиоксидаза, электрон-транспортирующие цепи митохондрий и микросом, а также ферменты, участвующие в метаболизме арахидоновой кислоты.

Не менее важная роль в поддержании легочного гомеостаза принадлежит оксиду азота NO. Он участвует в регуляции тонуса сосудов легких и препятствует развитию легочной гипертензии, что является одним из патогенетических факторов в повреждении легких. Синтез монооксида азота в легких осуществляют три формы NO-синтаз – две конститутивные (eNOS, nNOS) и индуцибельная (iNOS), которые вносят свой вклад в продукцию монооксида азота как в физиологических условиях, так и при стимуляции различными факторами [12, 13].

Длительность воздействия высоких концентраций кислорода на легкие в проводившихся ранее исследованиях обычно не превышала 3 сут. При этом динамику продукции АФК и оксида азота в легких в условиях продолжительного воздействия высоких доз кислорода не изучали.

Цель настоящего исследования – изучение динамики продукции активных форм кислорода и азота клетками легких новорожденных морских свинок, подвергшихся длительному воздействию гипероксии.

Материалы и методы исследования. Эксперимент проводили на новорожденных морских свинках с соблюдением этических норм и правил проведения работ с лабораторными животными. В течение суток после рождения животных опытной группы помещали в плексигласовую камеру, в которой в течение всего времени инкубации поддерживали концентрацию кислорода не менее 70% (температура 20–25 °С, относительная влажность 50–80%). Концентрацию кислорода в камере контролировали с помощью анализатора кислорода ПГК-06–100Р (ЗАО «Инсовт», Россия). Длительность инкубации в условиях гипероксии составляла 1, 3, 7 и 14 сут. Контрольные животные в течение такого же периода времени дышали обычным воздухом. Каждая экспериментальная группа включала 4–5 животных. Приводимые данные – результат двух независимых экспериментов для каждого из изучаемых сроков воздействия.

По окончании инкубации животных обеих групп наркотизировали (тиопентал натрия в дозе 15 мг/кг интраперитонеально), а затем с помощью эндотрахеального зонда трижды промывали легкие 8 мл раствора 0,9%-ного NaCl. Полученную бронхоальвеолярную лаважную жидкость (БАЛЖ) центрифугировали (900 об/мин, 4 °С) для осаждения клеток. Осадок использовали для подсчета общего количества клеток и определения клеточного состава БАЛЖ. Подсчет общего количества клеток в БАЛЖ проводили в камере Горяева.

Состав клеток БАЛЖ определяли после приготовления мазков и окраски по Романовскому–Гимзе. С использованием иммерсионного объектива (увеличение 7×90) подсчитывали не менее 100 клеток и определяли относительное содержание альвеолярных макрофагов, лимфоцитов, полиморфноядерных нейтрофилов.

Способность клеток БАЛЖ к генерации АФК изучали методом люминол-зависимой хемилюминесценции (ЛЗХЛ) [14]. Люминол легко окисляется в присутствии АФК (супероксидного анион-радикала, синглетного кислорода, перекиси водорода и гидроксильного радикала), переходит в возбужденное состояние и разлагается, испуская квант света. Интенсивность свечения при этом значительно увеличивается. Осадок клеток БАЛЖ ресуспендировали в среде Эрла; 1 мл суспензии ($2,0 \cdot 10^6$ /мл) с добавлением 50 мкл 0,1 М $CaCl_2$ и 50 мкл 0,5 мМ люминола вносили в кварцевую кювету для регистрации хемилюминесценции. В качестве стимуляторов клеточной активности применяли липополисахарид (5 мкг/мл) – рецептор-опосредованный стимулятор, латекс (50 мкл суспензии 1/50) – сильный стимулятор фагоцитоза, не требующий специфического связывания с клеточными рецепторами. Генерацию АФК регистрировали с помощью биохемилюминометра БХЛ-1 (Минск, Беларусь), запись и анализ кинетических кривых – с использованием компьютерной программы NAS UniChrom.

Для определения содержания нитрит-ионов (одного из конечных стабильных метаболитов NO) в БАЛЖ использовали стандартную методику с реактивом Грисса [15]. Определение проводили после депротеинизации БАЛЖ добавлением сульфата цинка в конечной концентрации 15 г/л [16]. Количество нитритов выражали в мкмоль/л. Для оценки интенсивности продукции NO клетки, выделенные из БАЛЖ животных опытных и контрольных групп, культивировали в концентрации $1,0 \cdot 10^6$ /мл в среде DMEM, содержащей 1% эмбриональной телячьей сыворотки, в течение 1 ч (37 °С, 5% CO₂, увлажненная атмосфера), без добавления стимуляторов. Концентрацию нитритов определяли в среде культивирования клеток, как указано выше.

Статистическую обработку данных проводили с использованием пакета программ Statistica 6.0. Для сравнительного анализа данных опытных и контрольных групп на первом этапе определяли нормальность распределения цифровых показателей с использованием критерия Колмогорова–Смирнова. Дальнейший статистический анализ проводили с помощью непараметрического U-теста Манна–Уитни для независимых выборок. Различия считали достоверными при уровне значимости $P < 0,05$. Данные представлены в виде медианы и интерквартильных размахов, охватывающих 50% наблюдений.

Результаты и их обсуждение. Поскольку практически все клеточные элементы, обнаруживаемые в лаважной жидкости, способны к генерации АФК, при измерении интенсивности ЛЗХЛ использовали суммарную суспензию клеток БАЛЖ. Как показали результаты анализа клеточного состава БАЛЖ, у новорожденных морских свинок при гипероксии преобладали фагоцитирующие клетки – альвеолярные макрофаги и нейтрофилы (табл. 1). Причем относительное содержание альвеолярных макрофагов уменьшалось по мере увеличения длительности воздействия гипероксии, а доля нейтрофилов возрастала и составила 16% в опытной группе «14 сут» по сравнению с контролем (1%). Различия статистически достоверны.

Т а б л и ц а 1. Клеточный состав БАЛЖ новорожденных морских свинок в условиях гипероксии

Группа	Общее количество клеток, $10^5 \cdot \text{мл}^{-1}$	АМ, %	Нейтрофилы, %	Лимфоциты, %	
1 сут	Контроль	7,3 (6,7; 7,7)	95,0 (95,0; 96,0)	2,0 (1,0; 2,0)	3,0 (2,0; 3,0)
	Опыт	5,4 (4,8; 5,6)*	94,0 (94,0; 95,0)	3,0 (3,0; 4,0)*	2,0 (2,0; 3,0)
3 сут	Контроль	3,6 (2,7; 6,5)	96,0 (95,0; 98,0)	1,0 (1,0; 2,0)	2,0 (1,0; 4,0)
	Опыт	6,8 (6,7; 10,1)*	88,5 (86,0; 89,5)* ¹	8,5 (6,5; 11,0)* ¹	4,0 (3,0; 5,0)
7 сут	Контроль	6,3 (6,1; 6,8)	98,0 (99,0; 99,0)	0,0 (0,0; 1,0)	1,5 (1,0; 3,0)
	Опыт	4,3 (3,6; 4,8)*	85,5 (82,0; 87,0)* ¹	11,0 (10,0; 14,0)* ¹	3,5 (3,0; 4,0)
14 сут	Контроль	5,1 (2,9; 5,9)	95,0 (95,0; 98,0)	1,0 (0,0; 2,0)	3,0 (2,0; 4,0)
	Опыт	4,5 (3,8; 6,5)	80,0 (70,0; 85,0)* ^{1,2}	16,0 (12,0; 25,0)* ^{1,2}	4,0 (3,0; 5,0)

П р и м е ч а н и е. Достоверность различий ($P < 0,05$): * – по сравнению с контролем; ¹ – по сравнению с группой «1 сут»; ² – по сравнению с группой «3 сут». БАЛЖ – бронхоальвеолярная лаважная жидкость, АМ – альвеолярные макрофаги.

На рис. 1 представлены типичные кинетические кривые, полученные при изучении продукции АФК клетками БАЛЖ методом ЛЗХЛ. Первая фаза кривой соответствует продукции АФК клетками при адгезии к стеклянной поверхности кюветы. Вторую и третью фазы регистрировали после добавления стимуляторов – липополисахарида и латекса. Нами оценивались: форма кинетических зависимостей, интегральная интенсивность хемилюминесценции (рассчитывалась как площадь под кривой за установленный период времени), интенсивность ответа на стимуляторы.

Обращала на себя внимание более быстрая реакция клеток опытных животных на адгезию (рис. 1). У контрольных клеток регистрировали латентную фазу продолжительностью 4–6 мин,

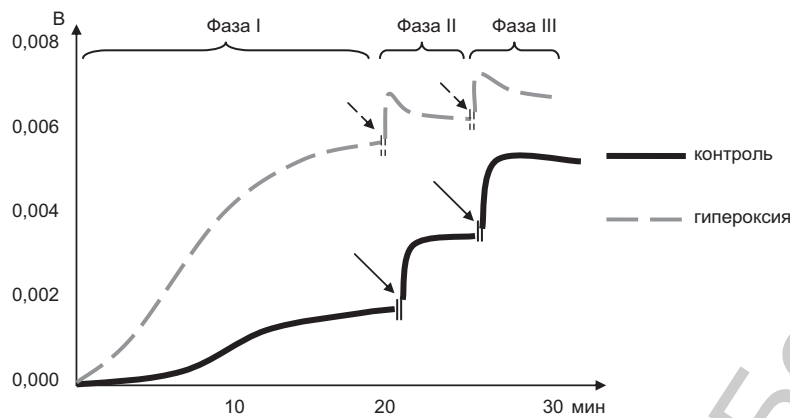


Рис. 1. Типичные кинетические кривые люминолзависимой хемиллюминесценции, полученные при изучении клеток БАЛЖ новорожденных морских свинок: фаза I – адгезия к стеклу, фаза II – + ЛПС, фаза III – + латекс. Стрелками указано внесение стимуляторов

которая необходима для сборки комплекса НАДФН-оксидазы на мембране неактивированных фагоцитов. Отсутствие такой фазы у клеток опытных животных объясняется, скорее всего, наличием на их мембранах НАДФН-оксидазы уже в активном состоянии.

При количественной оценке полученных кривых установлено, что относительно кратковременное воздействие высоких доз кислорода (в течение суток) не оказывало выраженного влияния на суммарную продукцию АФК (рис. 2). Клетки животных, находившихся в течение 3 сут в условиях гипероксии, имели увеличенную (в среднем на 167%) интегральную интенсивность хемиллюминесценции ($P < 0,05$). Удлинение воздействия гипероксии до 7 и 14 сут сопровождалось достоверным уменьшением интенсивности продукции АФК клетками БАЛЖ по сравнению с аналогичным показателем в группе «3 сут», которая, однако, оставалась выше контрольных значений на 132% на 7-е сутки ($P < 0,05$) и на 51% на 14-е сутки ($P < 0,05$).

Длительное воздействие гипероксии приводило к изменению интенсивности ответа клеток на стимуляцию ЛПС и латексом (рис. 3). При гипероксии более 3 сут интенсивность стимулированной хемиллюминесценции была статистически достоверно ниже, чем в группах «1 сут» и «3 сут», а в группе «14 сут» оказалась даже меньше, чем в контроле, на 36,2 и 17,4% при действии ЛПС и латекса соответственно (различия статистически достоверны). Полученные результаты свидетельствуют о постепенном истощении кислород-активирующей способности клеток, что может способствовать развитию инфекционных осложнений при длительном использовании высокой концентрации кислорода для ИВЛ.

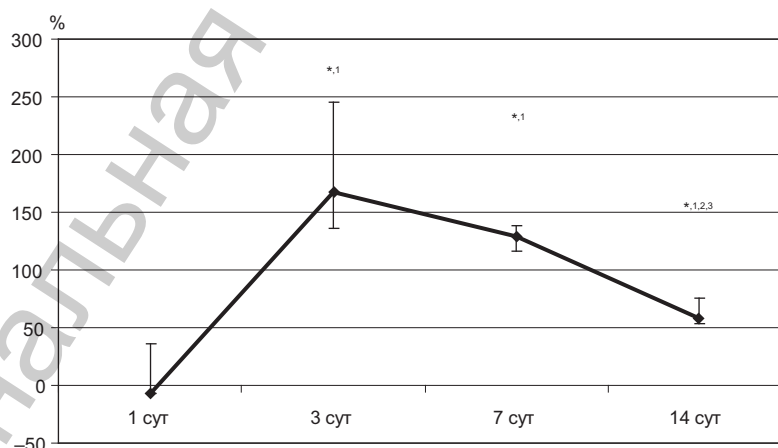


Рис. 2. Динамика изменения интегральной интенсивности люминолзависимой хемиллюминесценции клеток БАЛЖ под влиянием гипероксии. Нулевой уровень соответствует контрольным значениям. Достоверность различий ($P < 0,05$): * – по сравнению с контролем, 1 – по сравнению с группой «1 сут»; 2 – по сравнению с группой «3 сут»; 3 – по сравнению с группой «7 сут»

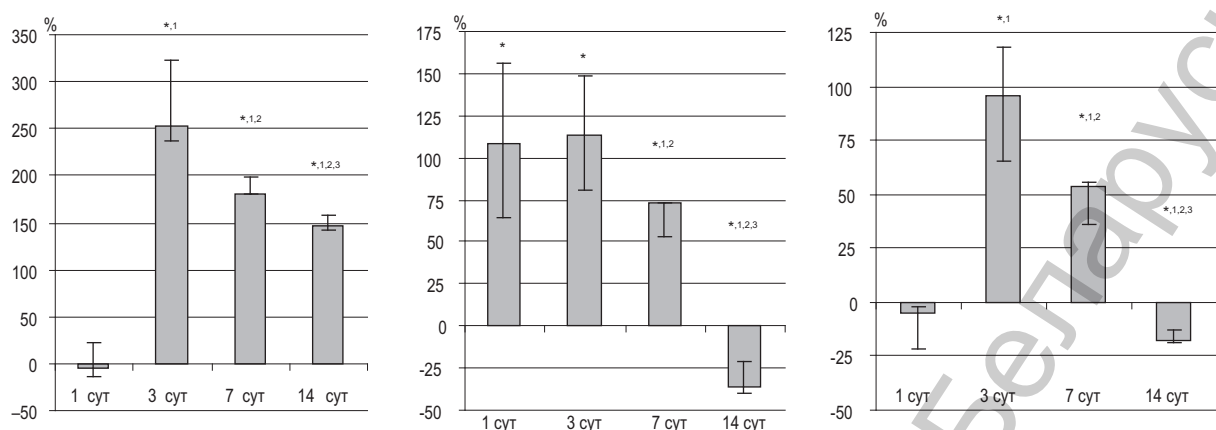


Рис. 3. Интенсивность люминолзависимой хемилюминесценции клеток в ответ на адгезию к стеклу (а), стимуляцию липополисахаридом (б) и латексом (в). Нулевой уровень соответствует контрольным значениям. Достоверность различий ($P < 0,05$): * – по сравнению с контролем; 1 – по сравнению с группой «1 сут»; 2 – по сравнению с группой «3 сут»; 3 – по сравнению с группой «7 сут»

Количество нитрит-ионов (стабильных конечных метаболитов NO) в БАЛЖ опытных животных в группе «3 сут» достоверно превышало контрольные значения, в среднем в 2,1 раза ($P < 0,05$) (табл. 2). У животных других опытных групп отмечалась выраженная тенденция к снижению концентрации нитритов в БАЛЖ, которая, однако, была статистически значима лишь на 14-е сутки воздействия гипероксии. Аналогичные результаты были получены относительно изменения уровня нитритов в среде культивирования клеток БАЛЖ.

Т а б л и ц а 2. Содержание нитрит-ионов в БАЛЖ и супернатанте культуры клеток БАЛЖ новорожденных морских свинок в условиях гипероксии

Группа		Содержание NO_2^- , мкмоль	
		в БАЛЖ	в супернатанте культуры клеток
1 сут	Контроль	0,82 (0,60; 1,21)	2,22 (1,67–2,88)
	Опыт	0,55 (0,50; 0,71)	1,05 (0,61–1,53)*
3 сут	Контроль	0,16 (0,10; 0,16)	1,93 (1,54–1,93)
	Опыт	0,35 (0,30; 0,49)*	3,12 (2,11–3,23)*
7 сут	Контроль	0,41 (0,22; 0,49)	2,62 (1,09–3,03)
	Опыт	0,16 (0,10; 0,32)	2,01 (1,81–2,75)
14 сут	Контроль	0,30 (0,19; 0,35)	3,08 (1,65–3,18)
	Опыт	0,11 (0,0; 0,11)*	1,86 (1,86–2,19)*

* $P < 0,05$ по сравнению с контролем.

Первоначальное повышение уровня катаболитов оксида азота в бронхоальвеолярном пространстве новорожденных морских свинок и последующее его снижение свидетельствует об изменении метаболизма оксида азота в условиях гипероксии. Если динамические изменения очевидны, то о возможных причинах этих изменений на данном этапе работы можно лишь догадываться. Они могут затрагивать как образование NO, так и его катаболические превращения. Например, известно, что повышение концентрации кислорода вызывает активацию NO синтаз [17]. Однако в условиях гиперпродукции супероксидного анион-радикала, напротив, наблюдается снижение их активности [18]. Образующаяся в клетках окись азота может вступать в реакцию с супероксидным анион-радикалом (с образованием высокоактивного оксиданта пероксинитрита) или с тиол-содержащими соединениями с образованием нитрозотиолов, уменьшая тем самым их количество [13]. Косвенным подтверждением этому является обнаруженное нами ранее выраженное снижение уровня небелковых SH-соединений в БАЛЖ новорожденных животных при гипероксии [19]. Однако в любом случае наблюдаемые колебания, как представляется, неблагоприятны для легких. Помимо участия в свободнорадикальных процессах NO является важнейшей сигнальной молекулой. Он опосредует регуляцию сосудистого тонуса в легких, по-

давляет агрегацию тромбоцитов, уменьшает экспрессию адгезивных молекул, участвует в иммунных реакциях [18, 20].

Полученные данные дополняют описанные нами ранее изменения системы антиоксидантов в легких новорожденных морских свинок, подвергнутых экспериментальной гипероксии [19]. В совокупности с представленными в настоящей работе данными эти результаты свидетельствуют о том, что относительно короткие сроки воздействия гипероксии (3 сут) характеризуются усилением продукции активных форм кислорода и монооксида азота в легких, в то время как активность антиоксидантных ферментов остается практически неизменной. В таких условиях вполне ожидаемо стимулируются окислительные процессы, что подтверждается снижением уровня небелковых SH-соединений и увеличением количества карбонильных производных в белках БАЛЖ. При более длительной гипероксии (на 14-е сутки воздействия) дисбаланс в системе оксиданты–антиоксиданты становится еще более выраженным за счет снижения уровня неферментативных антиоксидантов (SH-соединений, альфа-токоферола) и значительного угнетения ферментативного звена антиоксидантной защиты в клетках легких; при этом продукция активных форм кислорода остается усиленной по сравнению с контролем.

Состояние «респираторного взрыва», по мнению большинства исследователей, может рассматриваться как естественная реакция фагоцитов на стимуляцию и необходимый компонент антимикробной защиты [11, 21]. При этом степень повреждения тканей образующимися оксидантами зависит не только от интенсивности и длительности их образования, но и от состояния антиоксидантных систем. В этом плане обнаруженное нами снижение активности антиоксидантов в легких вследствие длительной гипероксии является неблагоприятным фактором, который может служить определяющим в повреждении легких в условиях оксидативного стресса, вызванного гипероксией. Заслуживает внимания также значительное снижение интенсивности генерации АФК клетками БАЛЖ по мере увеличения длительности гипероксии, особенно выраженное при стимуляции клеточной активности. Описанное в ряде работ подавление кислород-активирующей способности фагоцитирующих клеток при разных видах патологии связывают с высоким риском инфекционных осложнений и нарушением иммунной реактивности [22–24].

Выводы

1. В условиях гипероксии (3–14 сут) в составе БАЛЖ новорожденных морских свинок неуклонно нарастает относительное количество нейтрофилов и снижается доля альвеолярных макрофагов.

2. У новорожденных морских свинок количество метаболитов монооксида азота в БАЛЖ на 3-и сутки гипероксии повышается, а на 14-е – падает до 37% от контроля. Изменения уровня нитрит-ионов в среде культивирования клеток БАЛЖ носят аналогичный характер, что подтверждает клеточное происхождение метаболитов NO в БАЛЖ.

3. Генерация АФК клетками БАЛЖ в условиях гипероксии усиливается и через 3 сут воздействия превышает контроль на 167%. При более продолжительном воздействии гипероксии интенсивность продукции АФК снижается, особенно на 14-е сутки в условиях стимулированной функциональной способности клеток.

Выявленные изменения могут способствовать повреждению легких и развитию инфекционных осложнений у новорожденных при длительном использовании ИВЛ с высокой концентрацией кислорода во вдыхаемой смеси.

Выражаем глубокую благодарность сотрудникам кафедры биофизики БГУ за оказанную помощь в проведении исследования люминолзависимой хемилюминесценции клеток.

Литература

1. Post M., Copland I. // *Acta Pharmacol. Sin.* 2002. 23 suppl. P. 4–7.
2. Шуйко Г. А. Устинович Ю. А. Современные подходы к ранней диагностике и лечению бронхолегочной дисплазии: учеб.-метод. пособие для врачей. Минск, 2006.
3. Tölle A., Kolleck I., Schlame M. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 1997. Vol. 1346, N 2. P. 198–204.

4. *Comhair S. A. A., Erzurum S. C.* // *Am. J. Physiol. (Lung Cell. Mol. Physiol.)* 2001. Vol. 283. P. L246–L255.
5. *Piotrowski W. J., Marczak J.* // *Int. J. Occup. Med. Environ. Health.* 2000. Vol. 13. P. 369–385.
6. *Tkaczyk J., Vizek M.* // *Prague Med. Report.* 2007. Vol. 108, N 2. P. 105–114.
7. *Котович И. Л.* Особенности метаболической активности макрофагов и компоненты сурфактанта легких у больных саркоидозом: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.04. Минск, 2001.
8. *Beck-Schimmer B., Schwendener R., Pasch T.* et al. // *Respiratory Res.* 2005. Vol. 6. P. 61–74.
9. *Gosset P., Wallaert B., Tonnel A. B., Fourneau C.* // *Eur. Resp. J.* 1999. Vol. 14, N 1. P. 98–105.
10. *Клубин И. В., Гамалей И. А.* // *Цитология.* 1997. Т. 39, № 4–5. С. 320–340.
11. *Луговская С. А.* // *Клин. лаб. диагностика.* 1997. № 9. С. 10–16.
12. *Connelly L.* // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 26480–26487.
13. *Вознесенский Н. А., Чучалин А. Г., Антонов Н. С.* // *Пульмонология.* 1998. Т. 8, № 2. С. 6–10.
14. *Van Dyke K., Van Dyke C., Peden D.* et al. // *Microchem. J.* 1980. Vol. 25. P. 514–523.
15. *Tracey W. R.* // *Neuroprotocols.* 1992. Vol. 1, N 2. P. 125–131.
16. *Moshage H., Kok B., Hulzenga J., Jansen P.* // *Clin. Chem.* 1995. Vol. 46, N 6. P. 892–896.
17. *Dweik R. A., Laskowski D., Abu-Soud H. M.* et al. // *J. Clin. Invest.* 1998. Vol. 101, N 3. P. 660–666.
18. *Le Cras T. D., McMurtry I. F.* // *Am. J. Physiol. Lung Cell. Mol. Physiol.* 2001. Vol. 280. P. L575–L582.
19. *Котович И. Л., Рутковская Ж. А., Таганович А. Д.* // *Вестн. НАН Беларуси. Сер. мед. наук.* 2011. № 4. С. 16–23.
20. *Janssen Y. M. W., Soultanakis R., Steece K.* et al. // *Am. J. Physiol. (Lung Cell. Mol. Physiol.)* 1998. Vol. 275. P. L1100–L1109.
21. *Robinson J. M.* // *Histochem. Cell. Biol.* 2008. Vol. 130. P. 281–297.
22. *Parlesak A., Schafer C., Paulus S. B.* et al. // *Alcoholism: Clin. Exp. Res.* 2003. Vol. 27, N 3. P. 503–508.
23. *Steevels T., Meyaard L.* // *Eur. J. Immunol.* 2011. Vol. 41. P. 575–587.
24. *Martins P. S., Kallas E. G., Neto M. C.* et al. // *Shock.* 2003. Vol. 20, N 3. P. 208–212.

I. L. KOTOVICH, Zh. A. RUTKOVSKAYA, A. D. TAGANOVICH

PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN AND NITROGEN SPECIES BY BRONCHOALVEOLAR CELLS UNDER EXPERIMENTAL HYPEROXIA

Summary

The aim of the present research was to study the dynamics of the reactive oxygen and nitrogen species production by the lung cells of newborn guinea pigs exposed to prolonged hyperoxia. The cells were isolated from the bronchoalveolar lavage fluid (BALF). Under hyperoxia, the increase in the neutrophil content and the enhanced generation of reactive oxygen species by BALF cells were found. Following the exposure to hyperoxia over 3 days, the rate of stimulated reactive oxygen species production by cells decreased. The nitrite level in BALF and the cell culture medium elevated after 3 days exposure to hyperoxia, but later decreased to 37% of controls after 14 days exposure. The revealed changes may contribute to the lung injury in newborns exposed to prolonged ventilation with high oxygen supplementation.

УДК 612.62 + 618.179]-057.87:378.4

Т. П. ДЗЮБКОВА

РЭПРАДУКТЫЎНЫЯ ЎСТАНОЎКІ СТУДЭНТАЎ КЛАСІЧНАГА ЎНІВЕРСІТЭТА

Беларускі дзяржаўны ўніверсітэт, Мінск

(Паступіла ў рэдакцыю 01.02.2012)

Уводзіны. Апошнія два дзесяцігоддзі характарызуюцца ў Рэспубліцы Беларусь складанай медыка-дэмаграфічнай сітуацыяй, адметнымі рысамі якой сталі высокія паказчыкі агульнай смяротнасці, спад нараджальнасці і, як следства, значнае скарачэнне колькасці насельніцтва краіны. Сур'ёзны ўплыў на працэс дэпапуляцыі аказалі сацыяльна-эканамічныя пераўтварэнні, якія адбываліся на тэрыторыі краін постсавецкай прасторы з 1990-х гадоў. На працягу адносна кароткага гістарычнага перыяду нараджальнасць напрыканцы 1995 г. у параўнанні з узроўнем 1955 г. знізілася ў 2,5 разы і склала 24,9 на 1000 насельніцтва [1, с. 46]. Наступнае дзесяцігоддзе паказчык нараджальнасці ўтрымліваўся прыкладна на адным і тым жа ўзроўні (8,9–9,9 праміле). Зваротная тэндэнцыя пачала праяўляцца толькі з 2007 г.: нараджальнасць стала павольна расці і ў 2010 г. паказчык дасягнуў 11,4 на 1000 насельніцтва. Аднак, мяркуючы па тэмпах прыросту нараджальнасці, да ўзроўню 1950-х гадоў яшчэ вельмі далёка. Аб гэтым сведчыць і той факт, што сумарны каэфіцыент нараджальнасці складае толькі 1,49 у пераліку на адну жанчыну фертыльнага ўзросту, у той час як паказчык 2,15–2,16 адпавядае простамаў замяшчэнню пакаленняў [2, с. 4; 3, с. 4]. Для выйсця з дэмаграфічнага крызісу патрабуецца пашыранае ўзнаўленне, якое прадугледжвае нараджэнне ў сям'і трох і болей дзяцей. Вядомы расійскі навуковец Б. Б. Прохараў і суаўт. (2011) адзначаюць, што сумарны каэфіцыент нараджальнасці 1,5 адлюстроўвае працэс дэпапуляцыі, а для простага замяшчэння пакаленняў колькасць нараджэнняў на адну жанчыну фертыльнага ўзросту павінна складаць не менш 2,2–2,3 [4, с. 11].

Паводле даных апошняга перапісу насельніцтва, колькасць жанчын фертыльнага ўзросту ў Беларусі за апошняе дзесяцігоддзе скарацілася. Аднак доля беларусак ва ўзросце максімальнай пладавітасці, які складае ў цяперашні час 20–29 гадоў, павялічылася і склала амаль трэць (31,1%) ад агульнай колькасці жанчын фертыльнага ўзросту [5, с. 29]. Іх рэпрадуктыўныя паводзіны займаюць цэнтральнае месца ў механізме ўзнаўлення насельніцтва. Вылучаюць тры асноўныя тыпы рэпрадуктыўных паводзін – шматдзетныя (патрэба ў 5 і болей дзецях), сярэднедзетныя (патрэба ў 3–4 дзецях) і маладзетныя (патрэба ў 1–2 дзецях) [4, с. 9]. Аснову рэпрадуктыўных паводзін складаюць рэпрадуктыўная ўстаноўка і рэгуляванне нараджальнасці. Пад рэпрадуктыўнай устаноўкай разумеюць схільнасць індывіда з нармальнай пладавітасцю да нараджэння пэўнай колькасці дзяцей [6, с. 12]. Эталон ідэальнай рэпрадуктыўнай устаноўкі распрацаваны У. І. Кулаковым і суаўт. (2001) і прадстаўлены ў табл. 1.

Табліца 1. Асноўныя крытэрыі ідэальнай рэпрадуктыўнай устаноўкі [7, с. 41]

Крытэрыі	Характарыстыка крытэрыя (эталон)
Характар узнаўлення	Трое дзяцей
Тып стварэння сям'і	Афіцыйна зарэгістраваны шлюб
Зыход першай цяжарнасці	Роды
Тэрмін нараджэння першага дзіцяці	На працягу першых двух гадоў шлюбу
Інтэргенерацыйны інтэрвал	2–4 гады

Трэба адзначыць, што патрэба ў дзецях – самая інерцыйная частка рэпрадуктыўных паводзін. Яна ўяўляе сабой вынік засваення рэпрадуктыўных нормаў і традыцый, якія агульнапрыняты ў дадзенай суполцы людзей і ўнаследаваны ад папярэдніх пакаленняў [8, с. 68]. На сённяшні дзень стала тыповай беларуская сям'я, у якой нараджаецца і выхоўваецца толькі адно дзіця. Доля аднадзетных сем'яў перавысіла ў краіне 62,0%, у той час як сем'яў з трыма і болей дзецьмі налічваецца ў 10 разоў менш. Кожнае пятае дзіця нараджае жанчына, якая фарміруе адносіны з партнёрам у выглядзе пазашлюбнага сужыцця [2, с. 4–5].

Абгрунтаваную занепакоенасць і трывогу выклікае няўхільнае зніжэнне жаночай часткі насельніцтва ва ўзросце 10–19 гадоў, якая складае на сённяшні дзень толькі 71,6% ад агульнай колькасці жанчын ва ўзросце максімальнай пладавітасці і з'яўляецца «рэзервам родаў» [5, с. 28]. Праз дзесяцігоддзе гэта ўзроставая група ўступіць у найбольш актыўны дзетародны перыяд, але не зможа поўнаасцю папоўніць цяперашнюю кагорту жанчын узросту максімальнай пладавітасці.

На фоне спаду нараджальнасці звяртае на сябе ўвагу высокая ўдзельная вага штучных перарыванняў цяжарнасці ў жанчын фертыльнага ўзросту. Найбольш высокія ўзроўні абортаў рэгіструюцца ў краіне сярод жанчын 20–24 і 25–29 гадоў. Кожная шостая беларуска перарывае першую нежаданую цяжарнасць, а кожны дванаццаты аборт ажыццяўляецца ў маладой жанчыны ва ўзросце да 19 гадоў [1, с. 245]. Да моманту ўступлення ў позні дзетародны ўзрост (35 гадоў) пераважная большасць (79,05%) жанчын мае ў анамнезе адно або некалькі штучных перарыванняў цяжарнасці. Актуальнасць праблемы абортаў вызначаецца не толькі іх вялікай колькасцю, але і рызыкай развіцця цяжкіх ускладненняў і аддаленых наступстваў (запаленчыя захворванні органаў рэпрадуктыўнай сістэмы, наступная пазаматачная цяжарнасць, бясплоднасць, гарманальныя парушэнні і інш.). Страты рэпрадуктыўнага здароўя, абумоўленыя штучным перарываннем цяжарнасці, у большасці выпадкаў незваротныя. Для кожнай жанчыны, якая мае права на аборт, прыярытэтам павінна стаць прадухіленне незапланаванай цяжарнасці, а не яе перарыванне.

Негатыўны ўплыў на дзетародную функцыю аказвае таксама спажыванне жанчынай тытуню [9, с. 78]. З курэннем звязана павышаная рызыка жаночай бясплоднасці. Згодна з афіцыйнымі данымі Міністэрства аховы здароўя Рэспублікі Беларусь, у 2005 г. курцом была кожная пятая беларуска [10, с. 5]. Праведзеныя ў апошнія гады ў БДУ сацыялагічныя апытанні сведчаць аб распаўсюджанасці курэння тытуню сярод студэнтаў і аб існаванні ў іх тытунёвай залежнасці [11, с. 6]. Гэтыя абставіны прадвызначылі кірунак навуковага даследавання, яго метадалагічнае забеспячэнне і вывучаемы кантынгент (студэнткая моладзь). Менавіта дзяўчаты-студэнты, узрост якіх належыць да фертыльнага перыяду, складаюць «рэзерв родаў» і пры ўмове паспяховай рэалізацыі дзетароднай функцыі здольны забяспечыць пазітыўныя змяненні ў дэмаграфічнай сітуацыі ў краіне. Але паводле некаторых даных, маладыя жанчыны-курцы ў параўнанні з равесніцамі, якія ніколі не курылі тытуню, раней пачынаюць палавое жыццё, маюць, як правіла, больш аднаго сексуальнага партнёра, а пры нараджэнні нежаданага дзіцяці нярэдка адракаюцца ад яго ў радзільным доме [12, с. 12]. У той жа час надзея на захаванне генафонду нацыі звязана менавіта з моладдзю і яе рэпрадуктыўным патэнцыялам, таму набывае актуальнасць аналіз дэмаграфічных праблем у маладзёжным асяроддзі.

Мэта даследавання – прадставіць інтэгральную ацэнку і выявіць асаблівасці рэпрадуктыўных устаноў студэнтаў класічнага ўніверсітэта ў залежнасці ад іх гендарнай прыналежнасці і курэння тытуню.

Матэрыялы і метады даследавання. Фарміраванне выбарчай сукупнасці, метадалагічны падыход да яе канструявання і разлік аб'ёму ажыццяўлялі ў адпаведнасці з расійскімі рэкамендацыямі па маніторынгавым даследаванням паводзінных фактараў рызыкі сярод насельніцтва [13, с. 7]. Запланаваны аб'ём выбаркі склаў 1025 чалавек. Пры яе фарміраванні выкарастаны выпадковы беспасўторны адбор рэспандэнтаў. У сувязі з частковай адсутнасцю водгукаў (адмаўленне ад удзелу ў даследаванні, адсутнасць на момант апытання) фактычны аб'ём выбаркі склаў 875 рэспандэнтаў. Асноўныя дэтэрмінанты рэпрадуктыўных устаноў даследаваны ў дзвюх кагортах студэнтаў класічнага ўніверсітэта. У склад першай з іх увайшлі 526 юнакоў і дзяўчат з васьмі факультэтаў, якія навучаліся на розных спецыяльнасцях (падвыбаркі былі аднолькавымі па колькасці ўдзельнікаў). Сярэдні ўзрост рэспандэнтаў склаў $20,24 \pm 0,67$ гадоў. Дзяўчат было

407 (77,38%), юнакоў – 119 (22,62%). Доля рэспандэнтаў абодвух полаў адпавядала гендарным суадносінам на факультэтах, якія прадстаўлялі ўдзельнікі даследавання. Другая кагорта была прадстаўлена толькі дзяўчатамі-студэнткамі ($n = 275$). Сярэдні ўзрост студэнтак – $20,06 \pm 0,59$ гадоў. Для выяўлення асаблівасцей рэпрадуктыўных устаноў студэнтак-спажывацёў тытуню гэтую кагорту падзялілі на дзве падгрупы. Асноўную падгрупу склалі 107 дзяўчат-курцоў, падгрупу параўнання – 168 равесніц, якія ніколі не спажывалі тытуню. Рэспандэнты абедзвюх падгруп былі супастаўляльны па ўзросце, абранай спецыяльнасці і навучаліся на адных і тых жа факультэтах. З выбарчай сукупнасці былі выключаны студэнты, якія раней былі курцамі, а потым кінулі курыць ($n = 27$). Аналіз рэпрадуктыўных устаноў ажыццяўлялі па кожнай кагорце рэспандэнтаў асобна.

Інструментам даследавання была папярэдне апрабаваная ананімная анкета. Яна ўтрымлівала блок пытанняў, якія характарызувалі колькасны і якасны бакі рэпрадуктыўнай устаноўкі. Колькасны крытэры ўключаў плануюмую колькасць дзяцей у сям'і, тэрмін нараджэння першага дзіцяці, інтэргенератыўны інтэрвал (прамежак часу паміж нараджэннем першынца і другога дзіцяці). Якасны бок рэпрадуктыўнай устаноўкі адлюстроўваў матывацыі нараджэння дзяцей. Кожная анкета змяшчала кароткае пісьмо-суправаджэнне з гарантыяй канфідэнцыйнасці атрыманай персанальнай інфармацыі. Абавязковай умовай апытання была інфармаваная добраахвотная згода ўдзельнікаў даследавання. Усе студэнты былі папярэдне азнаёмы з мэтай апытання і правіламі запаўнення анкеты. Кожнае пытанне анкеты патрабавала толькі аднаго адказу з прапанаваных варыянтаў (рэспандэнты выбіралі яго самастойна). Анкеты, якія не адпавядалі правілам запаўнення, былі выключаны з выбарчай сукупнасці (выбракоўка склала 8,5%). Агульная колькасць анкет, прыдатных да статыстычнай апрацоўкі і аналізу, склала 801 адзінку. Для статыстычнай апрацоўкі вынікаў даследавання выкарастаны стандартны пакет прыкладных камп'ютарных праграм Statistica (версія 6.0). Аналіз якасных прыкмет ажыццяўлялі шляхам разліку выбарчай долі і яе памылкі. Для параўнання доляў пасля праверкі адпаведнасці пераменных стандартнаму нармальнаму размеркаванню выкарыстоўвалі крытэры z [14, с. 134]. Розніцу паміж групамі лічылі статыстычна значнай пры $P < 0,05$.

Вынікі і іх абмеркаванне. Праведзенае апытанне сведчыць аб тым, што абсалютная большасць юнакоў і дзяўчат – будучых бацькоў жадае мець дзяцей (табл. 2). Аднак звяртае на сябе ўвагу той факт, што рэспандэнты абодвух полаў аддаюць перавагу маладзетнай сям'і. Так, $83,21 \pm 1,89\%$ дзяўчат і $67,52 \pm 4,33\%$ юнакоў ($P < 0,001$) плануюць нараджэнне не больш двух дзяцей, што адпавядае толькі простамаў замяшчэнню пакаленняў і з'яўляецца сур'ёзнай перашкодай на шляху выйсця краіны з дэмаграфічнага крызісу. Кожная пятая дзяўчына-студэнтка і кожны дзесяты юнак маюць наогул нізкі ўзровень патрэбы ў дзецях у сувязі з прыняццем за норму нараджэння ў сям'і толькі аднаго дзіцяці. У. Ю. Альбіцкі і суаўт. (2001) падкрэсліваюць, што асноўныя прычыны адмаўлення маладой аднадзетнай сям'і ад нараджэння другога дзіцяці – нявырашаныя жыллёвыя праблемы і нізкі ўзровень даходу бацькоў [6, с. 37]. Відавочнай з'яўляецца наяўнасць супярэчнасці паміж рэпрадуктыўнымі інтарэсамі сям'і і грамадства. Сучаснай сям'і дастаткова рэалізацыі патрэбы ў адным дзіцяці або ў двух дзецях, а грамадству для захавання генафонду нацыі і далейшага развіцця патрабуецца значная доля сем'яў з трыма і болей дзецьмі. Мяркуючы па цяперашняй дэмаграфічнай сітуацыі ў краіне, гэтая супярэчнасць будзе вырашацца вельмі складана.

З цягам часу адбыліся гістарычныя змяненні структуры і функцыі сям'і ў беларускім грамадстве і, адпаведна, ролі і колькасці ў ёй дзяцей [15, с. 41]. У мінулым пры існаванні пераважна аграрнай эканомікі адносіны паміж членамі сям'і вызначаліся ў значнай ступені вытворчымі фактарамі. Традыцыйная патрыярхальная сям'я была шматдзетнай. Дзеці выконвалі ролі работнікаў, памочнікаў па гаспадарцы, воінаў-абаронцаў сваёй сям'і, гаспадаркі і грамады. Вялікая колькасць дзяцей спрыяла дабрабыту сям'і і роду, росту аўтарытэту бацькоў. Якаснае змяненне тыпу ўзнаўлення насельніцтва суправаджала новы скачок у развіцці вытворчых сіл і пераўтварэнне пераважна аграрнай эканомікі ў пераважна індустрыяльную. На змену патрыярхальнай сям'і паступова прыйшла сучасная нуклеарная. Эканамічныя матывацыі нараджэння дзяцей уступілі месца псіхалагічным рэпрадуктыўным стымулам, накіраваным на задавальненне ў ас-

Т а б л и ц а 2. Асноўныя дэтэрмінанты рэпрадуктыўных устаноў студэнтаў класічнага ўніверсітэта ў залежнасці ад іх гендарнай прыналежнасці

Паказчык	Колькасць рэспандэнтаў					
	Дзяўчаты (n = 407)		Юнакі (n = 119)		Усяго (n = 526)	
	абс.	p ± s _p , %	абс.	p ± s _p , %	абс.	p ± s _p , %
Жаданне мець дзяцей	393	96,56 ± 0,90	117	98,32 ± 1,18	510	96,96 ± 0,75
Характар узнёўлення:						
адно дзіця	78	19,85 ± 2,01*	12	10,26 ± 2,81	90	17,65 ± 1,69
адно дзіця–двое дзяцей	249	63,36 ± 2,43	67	57,26 ± 4,57	316	61,96 ± 2,15
трое дзяцей	45	11,45 ± 1,60*	23	19,66 ± 3,67	68	13,33 ± 1,51
больш трох дзяцей	21	5,34 ± 1,13*	15	12,82 ± 3,09	36	7,06 ± 1,13
Запланаваны тып стварэння сям'і:						
пазашлюбнае сужыццё	8	1,97 ± 0,69*	11	9,24 ± 2,65	19	3,61 ± 0,81
афіцыйны шлюб	223	54,79 ± 2,47*	41	34,45 ± 4,36	264	50,19 ± 2,18
пазашлюбнае сужыццё з наступнай рэгістрацыяй шлюбу	162	39,80 ± 2,43*	65	54,62 ± 4,56	227	43,16 ± 2,16
вагаюцца ў адказе	14	3,44 ± 0,90	2	1,68 ± 1,18	16	3,04 ± 0,75
Меркаваны зыход незапланаванай цяжарнасці пры рэгістрацыі шлюбу:						
роды	375	92,14 ± 1,33	114	95,80 ± 1,84	489	92,97 ± 1,11
штучнае перарыванне (аборт)	2	0,49 ± 0,35	0	0 ± 3,13	2	0,38 ± 0,27
вагаюцца ў адказе ці зробіць выбар у залежнасці ад абставін	30	7,37 ± 1,30	5	4,20 ± 1,84	35	6,65 ± 1,09
Меркаваны зыход незапланаванай цяжарнасці пры сужыцці:						
роды	254	62,41 ± 2,40*	56	47,06 ± 4,58	310	58,94 ± 2,14
штучнае перарыванне (аборт)	86	21,13 ± 2,02	34	28,57 ± 4,14	120	22,81 ± 1,83
вагаюцца ў адказе ці зробіць выбар у залежнасці ад абставін	67	16,46 ± 1,84	29	24,36 ± 3,93	96	18,25 ± 1,68
Плануемы тэрмін нараджэння жаданага першага дзіцяці:						
на працягу першага году шлюбу	112	28,50 ± 2,28	40	34,19 ± 4,39	152	29,80 ± 2,03
на працягу першых двух гадоў шлюбу	204	51,91 ± 2,52	69	58,97 ± 4,55	272	53,33 ± 2,21
праз два гады пасля рэгістрацыі шлюбу	77	19,59 ± 2,00*	8	6,84 ± 2,33	86	16,86 ± 1,66
Інтэргенератыўны інтэрвал:						
менш 2 гадоў	17	5,40 ± 1,27*	24	22,86 ± 4,10	41	9,76 ± 1,45
2–4 гады	213	67,62 ± 2,64	65	61,90 ± 4,74	278	66,19 ± 2,31
больш 4 гадоў	85	26,98 ± 2,50*	16	15,24 ± 3,51	101	24,05 ± 2,09

З а ў в а г а. * – розніца паміж групамі статыстычна значная ($P < 0,05$). Паказчык дзетнасці і плануемы тэрмін нараджэння першынца разлічаны ў працэнтах ад агульнай колькасці жадаючых мець дзяцей, інтэргенератыўны інтэрвал – ад ліку жадаючых мець двух і больш дзяцей.

ноўным эмацыянальных патрэб бацькоў, для чаго апошнім дастаткова мець адно дзіця або двое дзяцей. Гэта тая аптымальная колькасць дзяцей, якая дазваляе спалучаць ажыццяўленне бацькоўскіх функцый з развіццём пазасямейных інтарэсаў і ссоўваннем цэннасных арыентацый на асабістыя дасягненні і поспех (кар'ерны рост, рэалізацыя сябе ў творчасці, самаўдасканаленне і інш.). Узростаючая эмансіпацыя жанчын, імкненне іх заняць лідарскія пазіцыі ў палітыцы, бізнэсе, навуцы і іншых сферах жыцця змяншаюць запатрабаванасць у дзецях. Вынікі сацыялагічнага апытання студэнтаў класічнага ўніверсітэта пацвярджаюць вышэйпададзеныя факты.

Рэпрадуктыўная устаноўка на маладзетнасць (1–2 дзяцей) дамініруе сярод дзяўчат, у той час як сярод прыхільнікаў нараджэння трох і больш дзяцей, наадварот, пераважаюць прадстаўнікі мужчынскага полу ($32,48 \pm 4,33\%$ супраць $16,79 \pm 1,89\%$, $P < 0,001$). Доля юнакоў, якія плануюць рэалізаваць сваю патрэбу ў трох дзецях, амаль у 2 разы перавышае долю дзяўчат. Кожны восьмы будучы бацька жадае выхоўваць больш трох дзяцей, а $7,69 \pm 2,46\%$ юнакоў плануюць мець сям'ю з пяццю дзецьмі, што ў 4 разы перавышае долю дзяўчат. Разам з тым $19,85 \pm 2,01\%$ дзяўчат упэўнены, што хочуць нарадзіць і выхаваць не больш аднаго дзіцяці, а $3,44 \pm 0,90\%$ студэнтак на момант апытання наогул не маюць жадання мець дзяцей, але не выключаюць змяненне сваіх

поглядаў у будучыні. Сярод асноўных матывацый нараджэння дзяцей у студэнтаў – будучых бацькоў дамінаруюць псіхалагічныя фактары. Паводле даных апытання, удзельная вага эканамічных і сацыяльных матываў нараджэння дзяцей была нязначнай (адзінкавыя адказы рэспандэнтаў), таму ніжэй прааналізаваны толькі псіхалагічныя матывацыі і прадстаўлена іх структура (табл. 3).

Табліца 3. Гендарнае размеркаванне псіхалагічных матывацый нараджэння дзяцей студэнтамі – будучымі бацькамі

Псіхалагічныя матывы нараджэння дзяцей	Колькасць рэспандэнтаў			
	Дзяўчаты (n = 393)		Юнакі (n = 117)	
	абс.	p ± s _p , %	абс.	p ± s _p , %
Патрэба ў напаўненні жыцця сэнсам	182	46,31 ± 2,52*	34	29,06 ± 4,20
Патрэба ў прадаўжэнні свайго роду	95	24,17 ± 2,16*	66	56,41 ± 4,58
Патрэба ў любові і клопаце аб дзіцяці і перадачы яму свайго жыццёвага вопыту	51	12,98 ± 1,70*	6	5,13 ± 2,04
Жаданне пазбегнуць адзіноты ў старасці	62	15,78 ± 1,84	11	9,40 ± 2,70
Жаданне ўмацаваць шлюб	3	0,76 ± 0,44	0	0 ± 3,31

З а ў в а г а. * – розніца паміж групамі статыстычна значная ($P < 0,05$). Паказчыкі разлічаны ў працэнтах ад агульнай колькасці жадаючых мець дзяцей.

Амаль палова дзяўчат атаясамлівае нараджэнне дзіцяці з рэалізацыяй патрэбы ў напаўненні ўласнага жыцця сэнсам. Трэць рэспандэнтаў абодвух полаў плануе нараджэнне і выхаванне дзіцяці з мэтай прадоўжыць свой род. Гэты стымул займае прыярытэтнае месца сярод іншых псіхалагічных матывацый нараджэння дзяцей у юнакоў і саступае толькі рэалізацыі патрэбы ў напаўненні жыцця сэнсам у дзяўчат. Кожны дзесяты з будучых бацькоў адчувае патрэбу ў любові да дачкі ці сына, клопаце аб сваім дзіцяці і перадачы яму свайго жыццёвага вопыту, а кожны сёмы плануе нарадзіць дзіця з мэтай пазбегнуць адзіноты ў старасці. Цікава, што доля дзяўчат, для якіх характэрна апошняя матывацыя, у 1,7 разы перавышае долю юнакоў. Жаданне ўмацаваць шлюб праз нараджэнне аднаго дзіцяці або некалькіх дзяцей уласціва толькі прадстаўнікам жаночага полу.

Вынікі праведзенага даследавання не пацвярджаюць распаўсюджанае ў грамадстве меркаванне аб тым, што сучасная моладзь цалкам аддае перавагу пазашлюбнаму сужыццю. Абсалютная большасць студэнтаў класічнага ўніверсітэта ($93,35 \pm 1,09\%$) арыентавана на стварэнне традыцыйнай сям'і з афіцыйнай рэгістрацыяй шлюбу, найбольш прымальнай як з сацыяльна-эканамічнага, так і з маральна-псіхалагічнага пункту гледжання. Але трэба адзначыць, што частка рэспандэнтаў абодвух полаў, якія плануюць афіцыйную рэгістрацыю шлюбу, не выключае папярэдняга сужыцця. Доля юнакоў і дзяўчат, якія маюць намер адразу юрыдычна зарэгістраваць адносіны з партнёрам, перавышае долю рэспандэнтаў – прыхільнікаў пазашлюбнага сужыцця з наступным афіцыйным шлюбом ($50,19 \pm 2,18$ і $43,16 \pm 2,16\%$ адпаведна, $P < 0,05$). Згодна з меркаваннем студэнтаў, працягласць перыяду пазашлюбнага сужыцця можа вагацца ад некалькіх месяцаў да аднаго года і нават больш. Доля дзяўчат, якія ўпэўнены ў неабходнасці юрыдычнай рэгістрацыі шлюбных адносін без папярэдняга сужыцця, у 1,6 разы перавышае долю юнакоў ($54,79 \pm 2,47$ і $34,45 \pm 4,36\%$ адпаведна, $P < 0,001$). У той жа час амаль кожны дзесяты юнак-студэнт аддае перавагу сумеснаму жыццю без рэгістрацыі шлюбу. Наогул доля юнакоў, якія з'яўляюцца прыхільнікамі пазашлюбнага сужыцця, у 5 разоў перавышае долю дзяўчат. Фактар рэгістрацыі шлюбу іграе вызначальную ролю пры прыняцці рашэння аб захаванні або перарыванні першай незапланаванай цяжарнасці. Пераважная большасць рэспандэнтаў абодвух полаў ($92,97 \pm 1,11\%$) адхіляе магчымасць першага абарту пры юрыдычна зарэгістраваных адносінах нават у тым выпадку, калі цяжарнасць незапланаваная. Кожная пятая студэнтка мае намер перарваць нежаданую цяжарнасць, калі шлюб не зарэгістраваны. Трэба падкрэсліць, што доля рэспандэнтаў-юнакоў, якія плануюць ініцыяваць штучнае перарыванне цяжарнасці ў сваёй сужыцелькі пры адсутнасці афіцыйнай рэгістрацыі шлюбу, ў 1,4 разы перавышае долю дзяўчат – прыхільніц абарту. У выніку доля юнакоў і дзяўчат, якія маюць устаноўку на перарыванне

першай незапланаванай цяжарнасці пры пазашлюбным сужыцці, узрастае да $22,81 \pm 1,83\%$ (супраць $0,38 \pm 0,27\%$ на фоне шлюбу, $P < 0,001$). Хаця жанчына і мужчына карыстаюцца роўнымі правамі пры прыняцці рашэння аб уступанні ў інтымную блізкасць, менавіта першая з-за біялагічных асаблівасцей, абумоўленых прыналежнасцю да жаночага полу, у першую чаргу пакутуе фізічна і псіхічна ад ускладненняў і наступстваў штучнага перарывання незапланаванай цяжарнасці. Інакш кажучы, за свабоду дашлюбных сексуальных адносін жанчына «плаціць даніну» ўласным рэпрадуктыўным здароўем на працягу ўсяго далейшага жыцця [16, с. 65]. Стан яе агульнага і рэпрадуктыўнага здароўя не толькі прадвызначае здольнасць да зачатця жаданага дзіцяці, але і ўплывае на добразычлівыя адносіны з будучым мужам і маральна-псіхалагічны мікраклімат у сям'і.

Крыху больш паловы рэспандэнтаў абодвух полаў ($53,33 \pm 2,21\%$) плануюць нараджэнне першага дзіцяці на працягу першых двух гадоў шлюбу, што адпавядае ідэальнай рэпрадуктыўнай устаноўцы па гэтаму крытэрыю. Трэць юнакоў лічуць прымальным нараджэнне першынца ўжо на працягу года пасля рэгістрацыі шлюбу, што нязначна перавышае долю дзяўчат, якія хацелі б так хутка пазнаць радасць мацярынства. Пераважная большасць ($66,19 \pm 2,31\%$) студэнтаў – будучых бацькоў, якія жадаюць мець сям'ю з двума і болей дзецьмі, плануюць нараджэнне другога дзіцяці праз 2–4 гады пасля першынца. Адною з выразных тэндэнцый, якая назіраецца пры аналізе рэпрадуктыўных устаноў сучаснай студэнцкай моладзі, з'яўляецца жаданне прадстаўнікоў жаночага полу адкласці нараджэнне дзяцей на больш позні ўзрост. Так, доля дзяўчат, якія плануюць з'яўленне на свет першынца пазней чым праз два гады пасля рэгістрацыі шлюбу, у 3 разы перавышае долю равеснікаў-юнакоў. Амаль кожны чацвёрты будучы бацька хацеў бы скараціць інтэргенератыўны інтэрвал да двух гадоў. У той жа час доля рэспандэнтаў-дзяўчат, якія маюць намер нарадзіць другое дзіця пазней чым праз 4 гады пасля першынца, у 2 разы перавышае долю юнакоў. Асаблівасці рэпрадуктыўных устаноў прадстаўнікоў жаночага полу з'яўляюцца, магчыма, вынікам змянення ролі жанчын у сучасным грамадстве, павелічэннем як агульнай працягласці іх жыцця, так і даўжыні рэпрадуктыўнага перыяду. Яны могуць адлюстроўваць агульнасусветную тэндэнцыю пралангацыі тэрміну першых родаў, які складае ў цяперашні час у Англіі 30 гадоў, у скандынаўскіх краінах – 32 гады (цыт. па [17, с. 89]). Узнятае пытанне патрабуе далейшага вывучэння ў розных сацыяльных групах жаночага насельніцтва краіны і дэтальнага аналізу.

Асноўныя дэтэрмінанты рэпрадуктыўных паводзін студэнтак-курцоў і іх равесніц, якія ніколі не спажывалі тытуню, прадстаўлены ў табл. 4. Чвэрць рэспандэнтаў, якія кураць тытунь, плануюць нарадзіць і выхаваць толькі адно дзіця, што характарызуе звужанае ўзнаўленне. Рэпрадуктыўныя ўстаноўкі пераважнай большасці студэнтак-курцоў адпавядаюць простама замяшчэнню пакаленняў, але не забяспечваюць выйсце з дэмаграфічнага крызісу. Доля студэнтак – спажыўцоў тытуню, якія жадаюць мець трох і болей дзяцей, у 2 разы менш, чым іх равесніц-некурцоў ($13,59 \pm 3,38$ і $29,34 \pm 3,52\%$ адпаведна, $P < 0,002$). Трэба адзначыць, што нават дзяўчаты-курцы з'яўляюцца прыхільнікамі традыцыйнай сям'і з афіцыйнай рэгістрацыяй шлюбу. Аднак доля студэнтаў-курцоў, якія аддаюць перавагу папярэдняму сужыццю з наступнай юрыдычнай рэгістрацыяй адносін, у 2 разы перавышае долю іх равесніц. Больш паловы ($58,33 \pm 3,80\%$) студэнтак, якія ніколі не спажывалі тытуню, наадварот, маюць намер адразу зарэгістраваць свае адносіны з партнёрам. Толькі ў адзінкавых выпадках рэспандэнты абедзвюх груп (незалежна ад адносін да курэння тытуню) расцэньваюць афіцыйную рэгістрацыю шлюбу як простую фармальнасць і лічаць асабістай каштоўнасцю пазашлюбнае сужыццё. Асноўнай прычынай адмаўлення ад юрыдычнай рэгістрацыі шлюбу яны называюць жаданне праверыць свой выбар (ці адпавядае партнёр патрабаванням, якія да яго прад'яўляюцца) і магчымасць захаваць свабоду. Такая пазіцыя адзначае адыход ад асабістай адказнасці і перанос яе на іншую асобу, што, як правіла, асуджае міжпартнёрскія адносіны на недаўгавечнасць.

Студэнткі-курцы псіхалагічна ў большай ступені гатовы да абарту. Доля рэспандэнтаў, якія маюць намер перарваць першую незапланаваную цяжарнасць, вагаецца ў залежнасці ад тыпу адносін паміж партнёрамі процілеглага полу (зарэгістраваны шлюб або сужыццё). У абодвух падгрупах назіраецца тэндэнцыя ўзрастання долі дзяўчат, якія плануюць аборт пры пазашлюбным

Т а б л і ц а 4. Асноўныя дэтэрмінанты рэпрадуктыўных устаноўак студэтак-курцоў і іх равесніц, якія ніколі не спажывалі тытуню

Паказчык	Колькасць рэспандэнтаў			
	Курцы (n = 107)		Некурцы (n = 168)	
	абс.	p ± s _p , %	абс.	p ± s _p , %
Жаданне мець дзяцей	103	96,26 ± 1,83	167	99,40 ± 0,60
Характар узнáўлення:				
адно дзіця	25	24,27 ± 4,22*	23	13,77 ± 2,67
адно дзіця–двое дзяцей	64	62,14 ± 4,78	95	56,89 ± 1,52
трое дзяцей	9	8,74 ± 2,78*	35	20,96 ± 3,15
больш трох дзяцей	5	4,85 ± 2,12	14	8,38 ± 2,14
Запланаваны тып стварэння сям'і:				
пазашлюбнае сужыццё	1	0,93 ± 0,93	2	1,19 ± 0,84
афіцыйны шлюб	38	35,51 ± 4,63*	98	58,33 ± 3,80
пазашлюбнае сужыццё з наступнай рэгістрацыяй шлюбу	65	60,75 ± 4,72*	52	30,95 ± 3,57
вагаюцца ў адказе	3	2,80 ± 1,59*	16	9,52 ± 2,26
Меркаваны зыход першай незапланаванай цяжарнасці пры рэгістрацыі шлюбу:				
роды	78	72,90 ± 4,30*	165	98,21 ± 1,02
штучнае перарыванне (аборт)	5	4,67 ± 2,04	0	0 ± 2,23
вагаюцца ў адказе ці зробіць выбар у залежнасці ад абставін	24	22,43 ± 4,03*	3	1,79 ± 1,02
Меркаваны зыход першай незапланаванай цяжарнасці пры пазашлюбным сужыцці:				
роды	45	42,06 ± 4,77*	109	64,88 ± 3,68
штучнае перарыванне (аборт)	41	38,32 ± 4,70*	20	11,90 ± 2,50
вагаюцца ў адказе ці зробіць выбар у залежнасці ад абставін	21	19,63 ± 3,84	39	23,21 ± 3,26

З а ў в а г а. * – розніца паміж групамі статыстычна значная ($P < 0,05$). Паказчык дзетнасці разлічаны ў працэнтах ад агульнай колькасці жадаючых мець дзяцей.

зачаці. Але памер гэтай долі неаднолькавы сярод курцоў і іх равесніц, якія ніколі не спажывалі тытуню. Так, $38,32 \pm 4,70\%$ студэтак-курцоў з'яўляюцца прыхільнікамі абарту ў тым выпадку, калі адносіны з партнёрам афіцыйна не зарэгістраваны (супраць $11,90 \pm 2,50\%$ равесніц, якія ніколі не былі курцамі, $P < 0,001$). У той жа час доля дзяўчат – спажыўцоў тытуню, якія плануюць захаванне цяжарнасці і нараджэнне дзіцяці, у 1,5 разы менш долі некурцоў. Перарваць першую нежаданую цяжарнасць на фоне шлюбу маюць намер толькі студэнткі-курцы ($4,67 \pm 2,04\%$). Кожная пятая з іх вагаецца ў адказе або зробіць выбар (роды ці аборт) у залежнасці ад абставін, што ў рэальнай сітуацыі можа значна павялічыць долю жадаючых перарваць цяжарнасць. Безумоўна, кожная жанчына мае права на свабодны рэпрадуктыўны выбар і яго ажыццяўленне [18, с. 105]. Але гэта права павінна быць забяспечана поўнай інфармаванасцю аб ускладненнях і негатыўных аддаленых наступствах штучнага перарывання незапланаванай цяжарнасці. Устаноўка на аборт, асабліва пры пазашлюбным зачаці, і псіхалагічная гатоўнасць да яго сведчаць аб тым, што частка сучаснай сексуальна актыўнай моладзі не сфарміравала ў сябе адказныя адносіны да найвышэйшай жыццёвай каштоўнасці – уласнага здароўя, у тым ліку рэпрадуктыўнага.

Вывады

1. Абсалютная большасць студэнтаў класічнага ўніверсітэта жадае мець адна-, двухдзетную сям'ю. Паміж рэпрадуктыўнымі ўстаноўкамі студэнтаў існуе гендарная розніца: сярод дзяўчат дамінуе ўстаноўка на маладзетнасць, сярод прыхільнікаў сем'яў з трыма і болей дзецьмі пераважаюць прадстаўнікі мужчынскага полу. Доля дзяўчат-курцоў, якія плануюць нараджэнне трох і болей дзяцей, у 2 разы менш долі равесніц, якія ніколі не спажывалі тытуню.

2. Для сучаснай студэнцкай моладзі застаецца маральнай каштоўнасцю традыцыйны сацыяльны інстытут сям'і з афіцыйнай рэгістрацыяй шлюбу. Больш паловы дзяўчат і трэць юнакоў

плануюць адразу юрыдычна зарэгістраваць адносіны, другая частка моладзі абодвух полаў аддае перавагу папярэдняму сужыццю з наступным афіцыйным шлюбам. Доля студэнтаў-юнакоў, якія з'яўляюцца прыхільнікамі пазашлюбнага сужыцця, перавышае долю дзяўчат.

3. Больш паловы студэнтаў – будучых бацькоў плануюць нараджэнне першага дзіцяці на працягу першых двух гадоў шлюбу, што адпавядае ідэальнай рэпрадуктыўнай устаноўцы па гэтаму крытэрыю. Пераважная большасць рэспандэнтаў, якія жадаюць стварыць сям'ю з двума і болей дзецьмі, плануюць нараджэнне другога дзіцяці праз 2–4 гады пасля першынца. Для прадстаўнікоў жаночага полу характэрна тэндэнцыя адкладвання нараджэння першынца і другога дзіцяці на больш позні ўзрост.

4. Тып адносін паміж партнёрамі процілеглага полу (зарэгістраваны шлюб або пазашлюбнае сужыццё) іграе вызначальную ролю пры прыняцці рашэння аб захаванні (перарыванні) першай незапланаванай цяжарнасці. Пры пазашлюбным зачацці ўзрастае доля моладзі, якая мае ўстаноўку на аборт. Студэнткі-курцы характарызуюцца больш высокай псіхалагічнай гатоўнасцю да штучнага перарывання нежаданай цяжарнасці, чым іх ровесніцы, якія ніколі не спажывалі тытуню.

Літаратура

1. Здравоохранение в Республике Беларусь: офиц. стат. сб. за 2010 год. Минск, 2011. – 308 с.
2. Национальная программа демографической безопасности Республики Беларусь на 2011–2015 годы: Указ Президента Респ. Беларусь, 11 авг. 2011 г., № 357 [Электронный ресурс]. 2011. – Режим доступа: http://demoscope.ru/weekly/knigi/zakon/pdf/nac_prog.pdf. – Дата доступа: 01.01.2012.
3. Зимовский В. И. // Социология. 2002. № 1. С. 3–7.
4. Прохоров Б. Б. [и др.]. Медико-демографическое прогнозирование: учеб. пособие. М., 2011. – 360 с.
5. Щавелева М. В., Глинская Т. Н., Гулицкая Н. И. // Вопр. организации и информатизации здравоохранения. 2011. № 2. С. 26–30.
6. Альбицкий В. Ю. [и др.]. Репродуктивное здоровье и поведение женщин России. Казань, 2001. – 248 с.
7. Кулаков В. И. [и др.]. Руководство по охране репродуктивного здоровья. М., 2001. – 568 с.
8. Прохоров Б. Б. Экология человека: учебник для студентов высш. учеб. заведений. М., 2008. – 320 с.
9. Дюбкова Т. П. // Мед. панорама. 2006. № 4 (61). С. 77–81.
10. Постоялко Л. А. [и др.] // Вопр. организации и информатизации здравоохранения. 2005. № 3. С. 3–9.
11. Дюбкова Т. П. // Современные подходы в организации работы по сохранению и укреплению здоровья студентов, профилактике табакокурения и иного зависимого поведения: материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 31 мая 2011 г. / М-во образования Респ. Беларусь, Детский фонд ООН, ГУО «Республиканский институт высшей школы». Минск, 2011. С. 3–7.
12. Белокриницкая Т. Е. [и др.] // Репродуктивное здоровье детей и подростков. 2008. № 2. С. 9–12.
13. Потемкина Р. А. [и др.] // Профилактика заболеваний и укрепление здоровья. 2005. № 4. Ч. 1. С. 3–17.
14. Гланц С. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ. М., 1998. – 459 с.
15. Станишевская Л. С. // Белорусская экономика: анализ, прогноз, регулирование. 2005. № 5. С. 36–42.
16. Дюбкова Т. П. // Вопр. организации и информатизации здравоохранения. 2011. № 3. С. 59–68.
17. Прилепская В. Н. // Эффективная фармакотерапия. Акушерство и гинекология. 2011. № 2. С. 88–90.
18. Кралько А. А. Правовое регулирование охраны здоровья в Республике Беларусь. Минск, 2009. – 294 с.

T. P. DYUBKOVA

REPRODUCTIVE ORIENTATION OF CLASSIC UNIVERSITY STUDENTS

Summary

The reproductive orientation of classic university students was analyzed depending on their gender ($n = 526$) and smoking ($n = 275$). According to anonymous survey data, the majority of students would like to have 1–2 children. Girls are more likely to have few children. The number of those who would like to have 3 and more children is higher among young men. In the case of the illegitimate conception, the number of those who plans abortion is increasing. Smoking female students are characterized by higher readiness to induced abortion than girls who never smoked tobacco.

АГЛЯДЫ

УДК 576.3:616-006

Г. Г. МАРТИНОВИЧ¹, И. В. МАРТИНОВИЧ¹, Е. Н. ГОЛУБЕВА¹, С. Н. ЧЕРЕНКЕВИЧ¹,
Ю. Е. ДЕМИДЧИК², Ю. М. ГАИН², Т. Э. ВЛАДИМИРСКАЯ², М. Л. ЛУЩИК²

**РЕДОКС-БИОТЕХНОЛОГИИ КАК ОСНОВА ДЛЯ НОВОЙ СТРАТЕГИИ
В ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ ТЕРАПИИ**

¹Белорусский государственный университет, Минск,

²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

(Поступила в редакцию 08.12.2011)

Молекулярно-генетические механизмы регуляции свойств клеток опухолевых тканей. Поиск эффективных методов лечения и профилактики онкологических заболеваний является одной из наиболее актуальных проблем в медицине, затрагивающей в то же время и социальные аспекты. Смертность от онкологических заболеваний занимает в мире второе место после заболеваний сердечно-сосудистой системы. Между тем до сих пор не существует общепринятой теории канцерогенеза.

В современном понимании канцерогенез представляет многоэтапный процесс трансформации клеток здоровой ткани, приводящий к злокачественным образованиям. Большинство исследователей считают, что в основе образования любой опухоли лежат необратимые изменения генома в определенной популяции клеток. Согласно теории онкогенов, ключевую роль в процессе трансформации нормальной клетки в опухолевую играют нарушения функции протоонкогенов и опухолевых супрессоров. В последние годы достигнут значительный прогресс в идентификации генов и выяснении роли продуктов этих генов в процессах развития опухолей. Это позволило определить такие важнейшие свойства, характерные для клеток опухолевых тканей, как высокая пролиферативная активность, иммортализация и ослабление индукции апоптоза [3].

Пролиферативная способность опухолевых клеток связана с изменениями в системах внутриклеточной сигнализации. С одной стороны, вероятно, в отсутствие факторов роста в трансформированных клетках запускается каскад событий, аналогичный тому, который в норме инициируется связыванием фактора роста со своим рецептором. С другой стороны, внешние сигналы, регулирующие дифференцировку и апоптоз, могут восприниматься опухолевыми клетками как митогенные сигналы. Наряду с этим трансформированные клетки обладают пониженной чувствительностью к антипролиферативным сигналам. Классическим примером является отсутствие контактного торможения роста для опухолевых клеток. Последние менее чувствительны к действию рост-ингибирующих цитокинов и факторов противоопухолевого иммунитета.

Показано, что действие многих онкогенов и опухолевых супрессоров направлено на регуляцию активности участников передачи митогенных сигналов в клетке, среди которых факторы роста (PDGF-b, FGF1 и др.), рецепторные тирозинкиназы (Ret, EGFR и др.), G-белки семейства Ras (K-Ras, H-Ras и N-Ras), серинтреониновые киназы (Raf и Mos), факторы транскрипции (Jun, Mys, Ets1 и др.) и циклин D1 [183]. Основными субстратами комплексов циклин D-Cdk4 и циклин D-Cdk6, регулирующих пресинтетическую фазу деления клетки G₁, являются продукты опухолевых супрессоров – белок pRb и pRb-подобные белки p105 и p103. В неделящихся клетках pRb и его гомологи не фосфорилированы и связывают факторы транскрипции E2F (E2F-1–E2F-5)

и DP (DP-1–DP-5). После фосфорилирования pRb циклинзависимой киназой происходит диссоциация комплекса. Несвязанный с pRb фактор транскрипции E2F-DP регулирует активность ряда генов, среди которых гены циклинов E, A, Cdk1, Cdk2, ДНК-полимеразы α и др. Модулируя активность фактора транскрипции E2F-DP и регулируемых им генов, pRb играет ключевую роль в контроле последовательности событий, обеспечивающих переход клетки из G₁-фазы в S-фазу. Инактивация гена *Rb* была обнаружена при ретинобластомах, остеосаркомах, при остром лейкозе, раке мочевого пузыря, простаты и др.

В опухолевых тканях нарушена регуляция апоптоза. Несмотря на разнообразие инициирующих факторов, выделяют два основных пути трансдукции сигналов апоптоза: рецептор-зависимый сигнальный путь с участием рецепторов гибели клетки и митохондриальный путь. При инициации первого пути в результате связывания специфических лигандов со своими рецепторами активируются каспаза 8 и адаптерные белки. Митохондриальный путь инициируется в основном повреждающими воздействиями, вызывающими увеличение проницаемости митохондриальной мембраны и выход в цитоплазму митохондриальных белков, включая цитохром *c* и флавопротеин AIF (apoptosis inducing factor). Проницаемость митохондриальной мембраны регулируется белками семейства Bcl2 и Bax [67]. Предполагается, что молекулы Bcl2 и Bcl-x закрывают каналы, через которые осуществляется выброс цитохрома *c* и/или AIF [18]. Белок Bax стимулирует открытие канала VDAC (voltage dependent anion channel), через который секретируются цитохром *c* и AIF. Регулятором активности белков семейства Bcl2 и Bax является продукт опухолевого супрессора – фактор транскрипции p53. Инактивация функции белка p53 является наиболее универсальным процессом, ведущим к молекулярным изменениям в различных новообразованиях человека. Активация p53 наблюдается при разнообразных стрессах и внутриклеточных нарушениях, включая гипоксию, гипо- и гипертермию, окислительный стресс, повреждения ДНК, снижение внутриклеточного пула нуклеотидов, ингибировании ДНК- и РНК-полимераз и т. д. Белок p53 осуществляет активацию гена *bax* и репрессию гена *bcl-2*. Наряду с этим p53 активирует гены ряда «киллерных» рецепторов, среди которых гены Fas-рецептора и рецептора KILLER/DR5, и повышает активность ряда генов, продукты которых способствуют накоплению в клетках окислителей. Активированный белок p53 супрессирует транскрипцию ряда генов, включая ген каталитической субъединицы теломеразы (TERT – telomerase reverse transcriptase). Следует отметить, что отсутствие в опухолевых (а также в стволовых) клетках человека репликативного старения (или иммортализации) связано с включением специального механизма, в основе которого лежит активация фермента теломеразы TERT, достраивающего недо-реплицированные теломерные повторы. Включение экспрессии TERT индуцируется изменением экспрессии онкогенов или опухолевых супрессоров [20].

Предполагается, что понимание механизмов геномных изменений, ведущих к перерождению клеток, позволит создать эффективные противоопухолевые методы на основе генной терапии. Однако серьезным препятствием для использования генной терапии в борьбе с раком является многочисленность геномных изменений (среднее число геномных изменений на клетку карциномы составляет примерно 11 000) [156] и генетическая вариабельность опухолевых клеток.

В последнее время наряду с геномными нарушениями важную роль в канцерогенезе отводят изменениям метаболизма кислорода [107], что является современным развитием концепции О. Варбурга [185]. Переключение метаболизма с окислительного фосфорилирования на гликолиз связывают с повышенным образованием активных форм кислорода (АФК) [108]. При интенсификации метаболизма глюкозы усиливается перенос электронов на НАДФН (через пентозофосфатный путь) и GSH (с участием глутатионредуктазы). В результате в опухолевых клетках изменяется редокс-гомеостаз [10, 11], характеризуемый, как правило, повышенным содержанием восстановителей (антиоксидантов).

Различия в подходах к проблеме опухолеобразования привели к появлению двух противоположных взглядов на канцерогенез: теории онкогенов и тканевой теории рака [13]. К настоящему времени известно около сотни потенциальных онкогенов и около двух десятков опухолевых супрессоров. Однако до сих пор остаются необоснованными механизмы регуляции активности этих генов при действии различных по природе канцерогенных факторов, т. е. в теории онкоге-

нов до сих пор не выявлен механизм «общего знаменателя», который, унифицируя действие различных канцерогенов, приводит к единому конечному результату. В тканевой теории рака в качестве общего канцерогенного фактора рассматривается длительный режим компенсаторной пролиферации (индуцируемый различными факторами), который разрушает систему тканевого контроля. Новые представления о роли окислительно-восстановительных процессов в регуляции клеточных процессов, появившиеся в последние годы, позволяют выделить в качестве ключевой характеристики трансформированных тканей нарушения клеточного и тканевого редокс-гомеостаза. Нарушения редокс-гомеостаза индуцируют изменения как внеклеточной сигнализации (тканевая теория рака), так и внутриклеточной сигнализации (теория онкогенов), вызывая в конечном итоге трансформацию клеток.

В настоящем обзоре обобщены и проанализированы современные данные о различиях клеточного и тканевого редокс-гомеостаза, редокс-сигнализации в опухолевых и нормальных клетках, описаны механизмы трансформации нормальных клеток, протекающие с участием АФК. Особое внимание уделено новым технологиям в области противоопухолевой терапии, базирующимся на редокс-регуляции клеточных процессов.

Метаболизм кислорода и биоэнергетика трансформированных клеток. Регуляция редокс-процессов в трансформированных и нетрансформированных клетках определяется метаболизмом кислорода и зависит от активности ряда митохондриальных ферментов. Митохондрии участвуют во многих клеточных процессах, включая регуляцию метаболизма, кальциевого гомеостаза, внутриклеточной сигнализации и апоптоза. Следует отметить, что с нарушениями функционирования митохондрий связывают развитие многих заболеваний, включая нейродегенеративные и онкологические заболевания, некоторые формы сахарного диабета, нейропатию Лебера, митохондриальную энцефалопатию и др. [72]. Наряду с этим митохондрии рассматривают в качестве ключевой мишени противоопухолевой терапии [76].

При увеличении скорости пролиферации клеток происходит перестройка метаболизма, в результате которой усиливаются анаболические процессы. Полное окисление аминокислот, углеводов и жирных кислот до H_2O и CO_2 осуществляется ферментами митохондрий. Поэтому для усиления процессов биосинтеза в процессах клеточного деления необходимо снижение активности ряда митохондриальных ферментов. Показано, что в опухолевых клетках наблюдается снижение активности ферментов цикла трикарбоновых кислот в результате выхода из митохондрий цитрата, который затем используется в синтезе жирных кислот и холестерина [74]. Обнаружено также, что ингибирование окислительного фосфорилирования в результате гипоксии и повышение концентрации глюкозы стимулирует рост мезенхимальных стволовых клеток [81]. С использованием различных типов опухолевых клеток установлено, что скорость их деления зависит от активности ферментов дыхательной цепи [152]. В быстро делящихся клетках активность ферментов дыхательной цепи ниже, чем в медленно делящихся клетках. S. Galli и соавт. [62] показали также, что активность электрон-транспортных комплексов I–IV, Mn-супероксид-дисмутазы (Mn-SOD) и митохондриальной NO-синтазы (mtNOS) в клетках аденокарциномы линий M3, MM3 и P07 в несколько раз ниже, чем активность этих ферментов в гепатоцитах. Для многих типов опухолей модификация митохондриального аппарата клеток включают также уменьшение числа митохондрий [52], ингибирование пируватдегидрогеназного комплекса [95], изменения формы и размеров митохондрий [16], снижение экспрессии β -субъединицы H^+ -АТФ-синтазы [51] и накопление мутаций в митохондриальной ДНК [44]. Нарушение в работе митохондриального аппарата клетки стимулирует метаболизм глюкозы путем анаэробного гликолиза (табл. 1). В условиях *in vitro* и *in vivo* показано, что транспорт глюкозы в опухолевые клетки увеличивается, в результате чего стимулируется не только субстратное фосфорилирование, но и образование в пентозофосфатном пути главного донора электронов для биосинтеза – НАДФН [24]. Клетки опухоли, культивируемые в глюкозосодержащей среде, способны производить в 40 раз больше лактата, чем нормальные клетки [83]. В результате высокой скорости образования лактата опухолевыми клетками во внеклеточной среде снижается величина pH. Кислотно-основное равновесие в опухолевых клетках в сравнении с нормальными клетками также изменяется: внутриклеточное pH в них увеличивается [42]. Интенсификация гликолиза в опухолевых

Т а б л и ц а 1. Характеристика метаболизма, редокс-систем и редокс-факторов нормальных и трансформированных клеток*

Показатель	Клетки тканей в норме	Опухолевые клетки
АТФ	Источником АТФ является субстратное и окислительное фосфорилирование	Образование АТФ увеличено за счет субстратного фосфорилирования
Активность транспортеров глюкозы	100%	> 1000%
Активность гексокиназы	100%	> 1000%
Величина внутриклеточного pH	6.90–7.20	7.10–7.65
Величина внеклеточного pH	7.35–7.40	6.60–7.10
Экспрессия mtNOS	100%	5% от нормы
Активность Mn-SOD	100%	10–50% от нормы
Скорость генерации H ₂ O ₂ ферментами дыхательной цепи при ингибировании антимицином	100% (клетки печени)	(20–50%) (клетки аденокарциномы линий М3, ММ3 и P07 и пролиферирующие гепатоциты)
Базальная концентрация H ₂ O ₂ в цитоплазме клеток	10 ⁻⁹ М (клетки печени)	(4–8) · 10 ⁻¹¹ М (клетки аденокарциномы линий М3, ММ3 и P07 и пролиферирующие гепатоциты)
Содержание глутатиона	22,4 ± 3,5 нмоль/мг белка (печень человека)	41,9 ± 7,2 нмоль/мг белка (карцинома печени человека)
Соотношение НАД ⁺ /НАДН	884 ± 24 (гепатоциты крысы)	324 ± 22 (клетки гепатомы С-27)
Активность супероксиддисмутазы (Cu-Zn SOD), каталазы и глутатионпероксидазы	100% (гепатоциты линии Chang)	300% (клетки карциномы печени линии HepG2)

*При составлении таблицы использованы данные работ [1, 59, 62, 83, 123].

клетках подтверждена исследованиями, проведенными на уровне генома, протеома и на метаболическом уровне [142]. Способность опухолевых клеток накапливать глюкозу в настоящее время используется при диагностике онкологических заболеваний с помощью позитронно-эмиссионной томографии [63].

Следует отметить, что одним из фундаментальных свойств клеток является их способность поддерживать энергетический баланс («энергетический» гомеостаз). Показано, что при физиологических условиях энергия гидролиза АТФ ($\Delta G_{\text{АТФ}}$) в цитоплазме или «цитозольный потенциал фосфорилирования» составляет от –53 до –60 кДж/моль [179]. Клетки с различным метаболизмом и различными значениями трансмембранного потенциала (V_{mem}) характеризуются близкими по величине значениями $\Delta G_{\text{АТФ}}$. Например, для клеток сердца, печени и эритроцитов трансмембранный потенциал составляет –86, –56 и –6 мВ соответственно, тогда как величина $\Delta G_{\text{АТФ}}$ равна –56 кДж/моль [178]. При этом основным источником АТФ в кардиомиоцитах являются митохондрии, а эритроциты способны восполнять АТФ только за счет гликолиза. Таким образом, в результате поддержания клеточного гомеостаза нарушение окислительного фосфорилирования АТФ в митохондриях опухолевых клеток компенсируется стимуляцией субстратного фосфорилирования ферментами гликолиза. Высокая пролиферативная активность, ослабление индукции апоптоза, иммортализация, лекарственная резистентность и другие свойства опухолевых клеток могут быть опосредованы изменением метаболизма, что позволяет некоторым авторам рассматривать рак как метаболическое заболевание [148]. Ключевым сигналом в изменении метаболизма клеток может служить усиление генерации АФК митохондриями, в результате которого наблюдаются изменения активности ферментов и экспрессии генов.

Между метаболизмом и редокс-состоянием клетки существует взаимосвязь, поэтому изменения клеточного метаболизма должны сопровождаться изменениями клеточного редокс-состояния [10, 11]. Изменение редокс-состояния клетки может инициировать переключение анаболизма на катаболизм, и наоборот. Процессы переноса электронов от НАДН и НАДФН к внутриклеточным глутатиону, витамину С или молекулярному кислороду следует рассматривать не только как механизм энергетического сопряжения, но и как механизм регуляции метаболизма [11]. Предполагается, что в роли одного из возможных переключателей метаболических путей в промежуточном

метаболизме может выступать аконитаза [19]. При низкой концентрации супероксида аконитаза активна и образующийся в матриксе митохондрий цитрат будет окисляться до оксалоацетата в цикле трикарбоновых кислот. Супероксидный анион-радикал в высоких концентрациях способен инактивировать аконитазу через окисление кластера $[4\text{Fe}-4\text{S}]^{2+}$, в результате чего цитрат будет использоваться для синтеза жирных кислот в цитоплазме. Показано также, что с участием митохондриальных АФК активируется фактор транскрипции HIF-1 (hypoxia-inducible factor) [43], среди мишеней которого находятся гены ферментов гликолиза и транспортеров глюкозы. Следует отметить, что активация HIF-1 наблюдается при снижении концентрации кислорода в тканях. Показано, что функциональная активность клеток в условиях гипоксии и гипероксии значительно изменяется в сравнении с их активностью при нормоксии. В обоих случаях активация внутриклеточных сигнальных путей происходит с участием АФК, генерируемых митохондриями [43, 58]. Однако при гипероксии отмечается старение клеток, увеличение числа погибших клеток и снижение внутриклеточной концентрации АТФ [23]. С другой стороны, в условиях гипоксии указанные выше явления не наблюдаются [133]. Таким образом, с участием одних и тех же сигнальных молекул – АФК – запускаются разные клеточные ответы.

Митохондрии являются основным источником АФК для клеток и тканей [82]. Около 3–5% от поступающего в митохондрии O_2 используется для образования АФК [38]. Наиболее изученным механизмом образования АФК в митохондриях является генерация супероксидных анион-радикалов в комплексе III [139, 172]. Скорость генерации H_2O_2 электрон-транспортной цепью при физиологических условиях зависит от метаболического состояния митохондрий и внутримитохондриальной концентрации NO [30, 37]. Состояние 4 с относительно низкой скоростью дыхания и отсутствием АДФ характеризуется высокой скоростью образования $\dot{\text{O}}_2^-$ и H_2O_2 (0,3–0,8 нМ H_2O_2 /мин на 1 мг белка). С другой стороны, при окислительном фосфорилировании в состоянии 3, характеризующимся высокой скоростью поглощения кислорода митохондриями, скорость образования $\dot{\text{O}}_2^-$ и H_2O_2 значительно снижена (0,05–0,15 нМ H_2O_2 /мин на 1 мг белка) [31].

В результате снижения содержания ферментов дыхательной цепи скорость генерации H_2O_2 митохондриями раковых клеток в несколько раз ниже, чем скорость генерации H_2O_2 митохондриями клеток нетрансформированных тканей. Основываясь на данных о скорости генерации H_2O_2 митохондриями, содержании каталазы и глутатионпероксидазы в клетках, S. Galli с коллегами оценил стационарную концентрацию H_2O_2 в цитоплазме опухолевых и нормальных клеток (табл. 1). Оказалось, что величина стационарной цитоплазматической концентрации пероксида водорода на два порядка ниже в трансформированных клетках, чем в нетрансформированных. G. Santamaria и соавт. [144] показали, что в клетках с высокой гликолитической активностью снижена генерация АФК, в результате чего клетки обладают резистентностью к апоптотическим сигналам, инициирующими митохондриальный путь апоптоза. Между тем T. Szatrowski, C. Nathan [163] обнаружили высокую скорость экзоплазматической генерации АФК рядом опухолевых клеток.

Следует также отметить, что содержание восстановленных пиридиннуклеотидов (НАД(Ф)Н) и глутатиона в опухолевых тканях в несколько раз выше, чем в нормальных [1, 78]. В клетках опухоли увеличено содержание супероксиддисмутазы, каталазы и глутатионпероксидазы [105]. При этом в опухолевых клетках увеличивается активность цитозольной Cu-Zn SOD, тогда как активность митохондриальной Mn-SOD снижена [97, 129]. Повышенная экспрессия белка тиоредоксина наблюдается в клетках карциномы желудка [68], карциномы легких [153] и мезотелиомы [87]. В клетках злокачественной ротовой опухоли [194] и плевральной мезотелиомы [98] повышена экспрессия белков семейства пероксиредоксина. Таким образом, многочисленные экспериментальные данные создали предпосылки для развития новой концепции канцерогенеза, в основе которой лежат нарушения редокс-гомеостаза клеток, изменяющие внеклеточную и внутриклеточную трансдукцию сигнала.

Редокс-гомеостаз и редокс-сигнализация опухолевых клеток. Многие заболевания, включая онкологические, сопровождаются нарушением редокс-гомеостаза [11, 166]. С. Friesen и соавт. [59] установили, что регуляция апоптоза в клетках линий СЕМ (острая лейкемия человека) и SHEP (нейробластома человека) зависит от редокс-состояния. Резистентность многих опухоле-

вых клеток к противоопухолевым препаратам связана с высокой (по сравнению с клетками ткани в норме) внутриклеточной концентрацией глутатиона [48, 60, 75]. Показано, что при увеличении концентрации восстановленного глутатиона (GSH) в фибробластах повышается активность теломеразы, при снижении концентрации GSH активность фермента снижается [29]. Обнаружено также, что внутриклеточная концентрация GSH повышается при митозе и G₂-фазе клеточного цикла в сравнении с другими фазами цикла [49]. С другой стороны, для перехода клетки из G₁-фазы в S-фазу необходимо повышение внутриклеточной концентрации окислителей [119], что, вероятно, является сигналом для вступления клетки в новый митотический цикл. В модельных системах с использованием различных типов клеток показано стимулирующее действие экзогенного H₂O₂ на деление клеток [34, 35, 186]. Снижение внутриклеточной концентрации глутатиона и повышение внутриклеточной концентрации АФК является одним из способов активации апоптоза в опухолевых и нетрансформированных клетках [17, 28, 77, 120].

Показано, что изменение внутриклеточной концентрации редокс-факторов регулирует активность практически всех классов сигнальных эффекторных белков, участвующих в передаче сигнала от клеточной поверхности к ядру. Взаимодействие внеклеточных регуляторных сигналов с клеточными рецепторами приводит к росту внутриклеточной концентрации таких низкомолекулярных продуктов, как H₂O₂, O₂⁻, NO и др., которые обеспечивают дальнейшую передачу сигнала внутри клетки на эффекторы и усиление сигнала путем включения ферментативных каскадов. Образовавшиеся АФК участвуют в регуляции активности ряда протеинкиназ, фосфатаз, фосфолипаз, факторов транскрипции, ионных каналов и насосов клеточных мембран.

Регуляция процессов трансдукции сигналов в клетке является многоуровневой: при действии редокс-факторов изменяется не только активность клеточных эффекторов (протеинкиназ, фосфатаз, ионных каналов и насосов и др.), но и экспрессия белков, изменяющих чувствительность клеток к действию внеклеточных регуляторных факторов. Следует отметить, что эффекторами действия редокс-факторов являются многие типы участников передачи митогенных и апоптогенных сигналов к клетке. Таким образом, образование окислителей и восстановителей в организме является неотъемлемым фактором нормального функционирования клеток, отсутствие которого, так же как и чрезмерное образование этих соединений в клетке, может приводить к гибели клеток.

Под влиянием результатов многочисленных работ, посвященных проблеме редокс-регуляции, сегодня происходит не только переоценка роли свободнорадикальных процессов в функционировании организмов, но изменяется и представление об основных понятиях свободнорадикальной медицины, включая такое понятие, как «окислительный стресс». В соответствии с современным определением окислительный стресс – это дисбаланс между оксидантами и антиоксидантами в пользу оксидантов, который ведет к нарушению редокс-сигнализации и контроля и/или к повреждению макромолекул [151]. Концепция «редокс-сигнализации» объединяет клеточные пути трансдукции сигнала, в которых интегративным элементом выступают электрон-транспортные реакции с участием свободных радикалов и окислителей нерадикальной природы [57, 84, 85]. Для характеристики группы соединений, включающих АФК и антиоксиданты, нами предлагается использовать термин «редокс-активные молекулы» [4, 116]. Эти молекулы обладают рядом свойств, не характерных для большинства функционирующих в живых системах биологически активных соединений, что позволяет рассматривать их как новый тип регуляторных молекул, для описания механизмов действия которых требуются новые подходы [4, 116]. Эти соединения являются новым типом вторичных мессенджеров (редокс-мессенджеры) – мессенджеров, переносящих электроны [14].

В настоящее время факт участия различных типов редокс-активных молекул в регуляции трансдукции сигнала в клетке не вызывает сомнения. Однако до сих пор не выяснен вопрос о том, как одни и те же низкомолекулярные редокс-активные молекулы осуществляют регуляцию многочисленных клеточных функций, включая пролиферацию и апоптоз. Существующие трудности во многом обусловлены отсутствием экспериментальных и теоретических разработок, позволяющих более детально описать процессы редокс-регуляции, протекающие в клетке с участием АФК.

Для количественного описания окислительно-восстановительных процессов, которые имеют место в живых системах, нами введены и экспериментально обоснованы новые физико-химические параметры – «эффективный редокс-потенциал» и «редокс-буферная емкость», учитывающие вклад основных участников окислительно-восстановительных процессов в клетках [10]. Эффективный редокс-потенциал ($E^{\text{эфф}}$) характеризует «суммарную» способность многокомпонентной внутриклеточной среды в стандартных условиях отдавать электроны [8, 115]. Физико-химический параметр «редокс-буферная емкость» (r) используется для количественной характеристики способности клеток противодействовать изменению величины $E^{\text{эфф}}$ внутриклеточной среды при изменении концентраций редокс-активных молекул [9, 118]. Величина редокс-буферной емкости клеток зависит от типа окислителей или восстановителей (табл. 2). Показано, что новые физико-химические параметры могут быть использованы не только для описания окислительно-восстановительных процессов, но и для характеристики функционального состояния клеток [6, 8, 143]. Величины указанных параметров редокс-состояния являются также индикаторами окислительных нарушений в клетках при разных патологиях [6, 143]. Теоретически и экспериментально доказана взаимосвязь параметров гомеостаза, характеризующих кислотно-основное состояние и редокс-состояние клеток [5]. Обнаружено, что величина параметров редокс-состояния в клетках зависит как от внеклеточной, так и внутриклеточной концентрации ионов водорода [5]. Показано, что указанные параметры могут быть использованы также при описании механизмов редокс-сигнализации в клетках [4, 116].

Т а б л и ц а 2. Эффективный редокс-потенциал ($E^{\text{эфф}}$) и редокс-буферная емкость (r) в нормальных и опухолевых клетках и тканях*

Тип объекта	$E^{\text{эфф}}$, мВ (рН 7.2)	r по H_2O_2 , мМ/В (рН 7.2)	r по HO , мМ/В (рН 7.2)
Печень человека	-210	27	5,9
Карцинома печени человека	-230	48	11
Клетки линии Chang (гепатоциты человека)	-208	26	5,6
Клетки линии Нер G2 (клетки гепатомы человека)	-220	36	7,7
Фибробласты кожи человека	-135	11,4	2,2
Клетки фибросаркомы человека	-180	16,6	3,4

*При расчетах использованы данные работ [78, 105, 150, 196].

Величина $E^{\text{эфф}}$ изменяется на протяжении жизненного цикла (восстановительная способность клетки уменьшается при переходе от пролиферации к дифференцировке и при переходе от дифференцировки к программируемой гибели). Различным функциональным состояниям клетки соответствует свой диапазон значений эффективного редокс-потенциала [8, 10]. В фибробластах человека пролиферации соответствует диапазон значений $E^{\text{эфф}}$ от -140 до -120 мВ, дифференцировке – от -120 до -80 мВ, апоптозу – от -80 до + 75 мВ, некрозу – от + 75 мВ и выше (рис. 1).

Сдвиг внутриклеточного $E^{\text{эфф}}$ к положительным значениям сопровождается переключением клеточной активности от пролиферации к дифференцировке, от дифференцировки к апоптозу, от апоптоза к некрозу. Поддержание определенного редокс-гомеостаза на разных этапах жизненного цикла также важно для клетки, как и поддержание ионного гомеостаза. Показано, что для инициации процессов дифференцировки в клетках необходимо повышение базальной концентрации цитозольного кальция на 100–200 нМ [155], тогда как повышение базальной концентрации цитозольного кальция на 300–400 нМ вызывает гибель клеток [171].

Следует обратить внимание на тот факт, что если рост концентрации АФК инициирует переход клеток от пролиферации к дифференцировке, то увеличение концентрации восстановителей в клетке может индуцировать обратный переход – от дифференцировки к пролиферации. Вероятно, чрезмерное накопление восстановителей в тканях ответственно за возникновение и развитие специфических свойств опухолевых клеток.

В опухолевых тканях наблюдается снижение величины $E^{\text{эфф}}$ и повышение величины r в сравнении с аналогичными показателями в нормальных тканях. Определенные нами количественные показатели редокс-состояния для печени в норме, карциномы печени, фибробластов и кле-

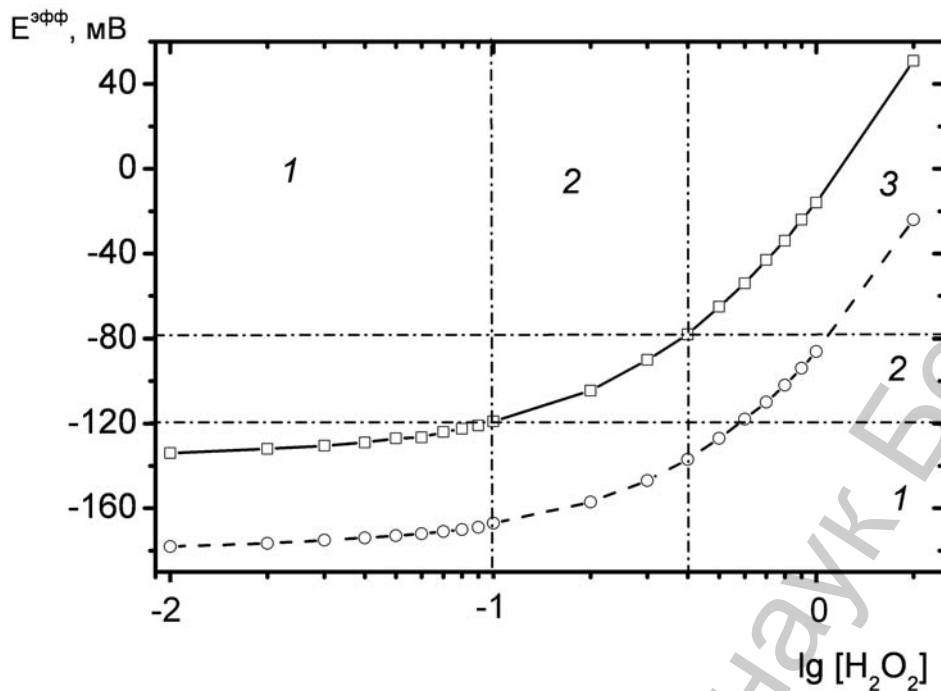


Рис. 1. Зависимость эффективного редокс-потенциала фибробластов кожи человека (непрерывная линия) и эффективного редокс-потенциала клеток фибросаркомы (прерывистая линия) от концентрации H_2O_2 (мМ): 1 – область пролиферации; 2 – область дифференцировки; 3 – область апоптоза

ток фибросаркомы представлены в табл. 2. В результате изменения величины параметров редокс-гомеостаза функциональный ответ трансформированных клеток на внеклеточные сигналы отличается от реакции нормальных клеток (см. рис. 1). Внеклеточный сигнал, индуцирующий достаточное для активации апоптоза повышение внутриклеточной концентрации окислителей в нормальных клетках, в трансформированных клетках будет индуцировать повышение концентрации окислителей, характерное лишь для пролиферации. То есть сигнал, индуцирующий апоптоз в нормальных тканях, в трансформированных тканях может усиливать пролиферацию клеток. Важно подчеркнуть, что при действии редокс-сигналов на клетки значение имеют не столько вариации состава реагентов, сколько их физико-химические свойства и физико-химические свойства среды. Один и тот же результат может быть достигнут при добавлении различных компонентов, которые, однако, вызывают одинаковые изменения эффективного редокс-потенциала в клетках [4, 8].

Противоопухолевая редокс-направленная терапия. В методах противоопухолевой терапии уже на протяжении многих лет применяются подходы, основанные на редокс-регуляции активности клеток, а точнее, на использовании предельного случая такой регуляции – гибели клеток (некроз, апоптоз, автофагия и др.), индуцированной повышением внутриклеточной концентрации АФК.

Стимуляция генерации АФК используется в методах фототерапии и лучевой терапии онкологических заболеваний. В химиотерапии онкологических заболеваний широко используются препараты, усиливающие генерацию АФК клетками. В 1963 г. К. Verenis [27] обнаружил, что противоопухолевый агент прокарбазин окисляется в растворе с образованием H_2O_2 . В последние десятилетия показано, что генерация АФК является важным этапом в процессе индуцирования апоптоза раковых клеток такими широко используемыми химиотерапевтическими агентами, как цисплатин, блеомицин и этопозид [103, 112, 124]. Генерация АФК в опухолевых клетках усиливается также при действии моноклонального антитела ритуксимаба [25], протеасомного ингибитора бортезомиба [135], а также противоопухолевых антибиотиков – ингибиторов гистондиацилаз SANA (suberoylanilide hydroxamic acid) [175] и адафостина [149].

Участие АФК в механизмах действия многих противоопухолевых препаратов позволяет выделить отдельную область противоопухолевой терапии – редокс-направленную терапию рака

[191]. Новый класс перспективных противоопухолевых агентов, уже продемонстрировавших эффективность в доклинических исследованиях, включает артемизинин, аскорбиновую кислоту, мотексафин гадолиний, ресвератрол, элескломол, эпигаллокатехин-3-галлат и др. В табл. 3 показано, что активность уже использующихся в противоопухолевой терапии препаратов зависит и от их способности генерировать АФК.

Следует также отметить способность ряда витаминов увеличивать генерацию АФК, индуцируемую различными противоопухолевыми агентами. В результате повышения генерации АФК гормон кальцитриол, гидроксилированная форма витамина D, увеличивает чувствительность опухолевых клеток молочной железы к экзогенным окислителям [190] и усиливает их гибель при действии фактора некроза опухоли (TNF α) [189]. АФК выполняют ключевую роль в механизме индуцирования апоптоза раковых клеток синтетическим аналогом витамина E – сукцинатом α -токоферола [89]. Комбинация витамина B_{12b} и витамина C индуцирует повышение образования АФК и гибель клеток карциномы гортани линии HEP-2 [15]. Аналогичный эффект для клеток карциномы гортани линии HEP-2 обнаружен при одновременном использовании витамина B_{12b} и глутатиона [12].

Т а б л и ц а 3. Примеры химиотерапевтических агентов, регулирующих клеточные редокс-процессы

Тип агента	Предполагаемые механизмы действия/мишени	Примечание/показания	Источник
<i>Агенты с прооксидантной активностью (активаторы продукции АФК)</i>			
Адафостин (тирфостин AG 957)	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) в результате ингибирования митохондриального комплекса III	Тестируется в отношении хронического лимфолейкоза (лимфоцитарного лейкоза)	[106, 149]
Адриамицин (доксорубин)	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) с участием ферментов дыхательной цепи митохондрий	Применяют при лечении саркомы мягких тканей, рака щитовидной железы, рака поджелудочной железы, хронического лимфолейкоза и др.; обладает высокой кардиотоксичностью	[104]
Артемизинин	Образование углеродцентрированных радикалов и АФК с участием металлов переменной валентности	Применяют при лечении малярии. Тестируется в отношении меланомы и рака молочной железы	[191]
Блеомицин	В комплексе с металлами переменной валентности индуцирует образование АФК (НО \cdot), вызывающих свободнорадикальное повреждение липидов и ДНК	Применяют при лечении рака пищевода, рака легкого, рака шейки матки, рака щитовидной железы, рака почки, злокачественных опухолей мозга и шеи, саркомы мягких тканей и др.	[70]
Даунорубин	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) с участием ферментов дыхательной цепи митохондрий	Применяют при лечении острого лимфобластного лейкоза, опухоли Юинга, опухоли Вильмса, лимфосаркомы, саркомы мягких тканей, нейробластомы и др.	[113]
Дихлорацетат	Ингибирует киназу митохондриальной пирватдегидрогеназы и усиливает образование АФК с участием ферментов митохондрий	Тестируется в отношении глиомы и глиобластомы	[191]
β -Лапахон (ARQ 501)	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) с участием НАД(Ф)Н : хинон оксидоредуктазы (NQO1, E. C. 1.6.99.2)	Тестируется в отношении лейомиосаркомы и рака поджелудочной железы	[131]
Куркумин	Усиливает образование АФК в клетках	Тестируется в отношении лимфомы, миеломы, рака кожи, рака шейки матки, рака поджелудочной железы	[168]
Менадион (2-метил-1,4-нафтохинон)	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) с участием оксидоредуктазы	Тестируется в отношении лейкемии и различных солидных опухолей	[45, 191]
Мотексафин гадолиний	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) с участием оксидоредуктазы; ингибирует тиоредоксинредуктазу	Тестируется в отношении рака почек, рака поджелудочной железы, рака легкого, лимфосаркомы и глиобластомы	[180]

Тип агента	Предполагаемые механизмы действия/мишени	Примечание/показания	Источник
Паклитоксел	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) с участием ферментов дыхательной цепи митохондрий	Применяют при лечении рака яичников, немелкоклеточного рака легких, рака молочной железы	[177]
Прокарбазин	В результате автоокисления инициирует образование перекисных и гидроокисных радикалов в клетке	Применяют при лечении злокачественных заболеваний лимфатических тканей	[141]
Ресвератрол (3,5,4-тригидростилбен)	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) с участием ферментов дыхательной цепи митохондрий	Тестируется в отношении миеломы, фолликулярного рака и колоректального рака	[86, 184]
Трисенокс (As_2O_3)	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) в результате ингибирования дыхательной цепи митохондрий; ингибирует тиоредоксин-редуктазу	Применяют при лечении рецидивов острой промиелоцитарной лейкемии; тестируется в отношении меланомы, множественной миеломы и опухолей мозга	[110, 136]
α -Токоферол сукцинат	Индукцирует образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) в результате ингибирования сукцинатдегидрогеназы (комплекса II)	Тестируется в отношении меланомы, мезотелиомы, рака простаты, рака молочной железы, колоректального рака	[55, 127]
Фотофрин II (эфир дигематопорфина)	Приводит к образованию синглетного кислорода в фотохимических реакциях	В США разрешен для лечения рака мочевого пузыря, легкого и других локализаций	[146]
Фотодитазин (N-диметилглюкаминавая соль хлорина Е6)	Приводит к образованию синглетного кислорода в фотохимических реакциях	В России разрешен для лечения рака легкого и рака кожи	[176]
Цисплатин (cis-Pt)	Усиливает образование АФК в клетках; усиливает экспрессию НАДФН-оксидазы; связывается с митохондриальной и ядерной ДНК с образованием внутри- и межспиральных сшивок	Применяют при лечении рака кожи, злокачественных опухолей головы и шеи, рака пищевода, остеогенной и мягкотканной саркомы, саркомы Юинга, лимфомы, мезотелиомы, меланомы, нейробластомы и др.	[32, 94, 111]
Эпигаллокатехин-3-галлат (EGCG)	Усиливает образование АФК в клетках	Тестируется в отношении лимфомы, миеломы, меланомы, рака поджелудочной железы, рака молочной железы	[125,126]
Этопозид	Метаболически активируется окислением и деметилированием с образованием хиноновых производных	Применяют при лечении рака яичников, неходжкинских лимфом, саркомы Юинга, саркомы Капоши, нейробластомы, мезотелиом и др.	[100]
<i>Модуляторы антиоксидантной активности клеток</i>			
β -фенилэтил изотиоцианат (PEITC)	Ингибирует глутатионпероксидазу; конъюгирует с восстановленным глутатионом	Тестируется в отношении лимфопролиферативных заболеваний, рака молочной железы, рака легкого и рака простаты	[45, 170]
Бутионин-сульфоксмин	Ингибирует γ -глутамилцистеинсинтазу; снижает внутриклеточную концентрацию восстановленного глутатиона	Тестируется в отношении нейробластомы и меланомы	[170]
Имексон	Конъюгирует с восстановленным глутатионом и SH-группами белков	Тестируется в отношении поджелудочной аденокарциномы, рака молочной железы, рака легкого и рака простаты	[191]
2-Метоксиэстрадиол	Ингибирует Cu-Zn SOD и Mn-SOD; увеличивает образование АФК (\dot{O}_2^- и H_2O_2) митохондриями; ингибирует полимеризацию тубулина	Тестируется в отношении рака простаты, рака яичников, опухолей мозга	[54, 79, 170]
Холин тетраиомолибдата (ATN-224)	Ингибирует Cu-Zn SOD	Тестируется в отношении меланомы, рака простаты, рака молочной железы	[191]

Повышение концентрации АФК в клетках вызывается множеством внеклеточных сигналов, среди которых важное место занимают факторы роста и цитокины. Показано, что фактор некроза опухоли (TNF- α) усиливает генерацию пероксида водорода митохондриями и НАДФН-оксидазой [64, 109]. Взаимодействие тромбоцитарного (PDGF) и эпидермального (EGF) факторов роста с рецепторами плазматической мембраны вызывает кратковременное повышение внутриклеточной концентрации H_2O_2 [21, 159]. Генерация АФК в нефагоцитирующих клетках наблюдается при стимуляции интерлейкином-1 β [169], интерлейкином 6 [160], интерлейкином 3 [145], фактором роста нервов (NGF) [162], трансформирующим фактором роста (TGF- β 1) [167] и рядом других лигандов.

Усиление процессов генерации АФК в клетках наблюдается также при действии физических факторов. Показано, что лазерное излучение (780 нм, 0,45–0,95 Дж/см²) усиливает образование АФК в клетках [69]. Согласно гипотезе российского биофизика Т. Й. Кару [90, 91], усиление генерации АФК является одним из первичных молекулярно-клеточных механизмов действия низкоинтенсивной лазерной терапии. Повышенный уровень АФК в клетках наблюдается также после их облучения электромагнитным излучением видимого диапазона (380–500 нм, 5–60 Дж/см²) [130]. Между тем функциональные ответы клеток, в реализацию которых вовлечены окислители, зависят от параметров воздействия и типа клеток. Показано, например, что одиночный электрический импульс (500 В/м в течение 60 с) стимулирует рост клеток опухоли предстательной железы в результате повышения уровней внутриклеточных АФК и несвязанных ионов Ca^{2+} [187]. С другой стороны, экспозиция раковых клеток слизистой оболочки рта в течение 24 ч к постоянному электрическому полю напряженностью 4 В/м индуцирует апоптоз в результате длительного усиления генерации АФК [188].

Согласно приведенным выше литературным данным, ключевым событием, регулирующим ответ клетки на действие многих физических и химических факторов, является изменение концентрации внутриклеточных АФК. Однако в рамках современных представлений можно заключить, что увеличение внутриклеточной концентрации окислителей не обязательно приведет к активации окислительного стресса и гибели клеток. Показано, что АФК участвуют в регуляции физиологических процессов практически у всех клеток организма, что является их главным отличием от большинства сигнальных молекул, действующих лишь на клетки, обладающие соответствующими рецепторами.

Ввиду сложности и многообразия процессов с участием редокс-активных молекул возникла парадоксальная ситуация. Повышение внутриклеточной концентрации АФК рассматривается и как индуктор канцерогенеза [99], и как способ индуцирования гибели опухолевых клеток [56]. Окислительный стресс индуцируется многими канцерогенами и индукторами апоптоза [99]. С одной стороны, синтетические и природные антиоксиданты рекомендуются в качестве протекторов канцерогенеза, с другой – окислительный стресс является необходимым этапом действия ряда противоопухолевых агентов и может усиливаться некоторыми антиоксидантами. Наряду с этим сами противоопухолевые агенты (адриамицин, дауномицин, 1,4-бензохинон и др.) могут также инициировать канцерогенез [99, 100].

Кажущееся противоречие о ключевой роли АФК в канцерогенезе и методах противоопухолевой терапии снимается в рамках концепции редокс-сигнализации, согласно которой эффект регуляции функциональной активности клеток определяется не только типом и величиной концентрации АФК, но типом и величиной концентрации клеточных антиоксидантов, а также местом образования АФК. Так, образование АФК вблизи ядра может вызывать повреждения ДНК и инициировать канцерогенез (см. рис. 2). Генерация АФК вблизи ядра, вероятно, опосредована действием канцерогенов. Известно, что образование АФК происходит в результате метаболизма многих канцерогенов, протекающего с участием цитохрома P450, который располагается на мембране локализованного вблизи ядра гладкого эндоплазматического ретикулула. С другой стороны, повышение уровня АФК в клетках вызовет ответ систем регуляции редокс-гомеостаза, направленный на его снижение путем увеличения концентрации антиоксидантов («редокс-адаптация»). Изменение метаболизма клетки, связанное с переключением окислительного на субстратное фосфорилирование, можно рассматривать как один из способов повышения концентрации основных клеточных антиоксидантов. Редокс-адаптация клеток усиливает резистентность

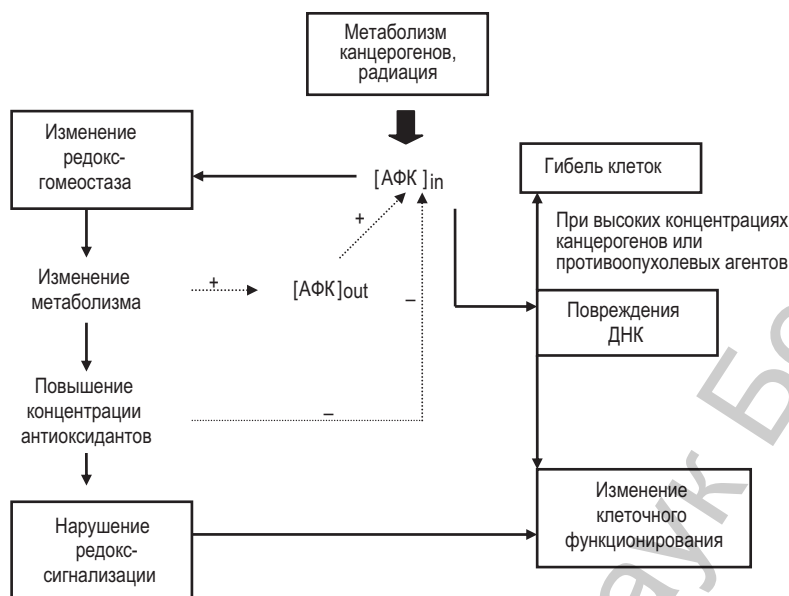


Рис. 2. Схема АФК-индуцированного канцерогенеза

клеток к ионизирующей радиации и действию ряда лекарственных соединений. В результате повышения концентрации антиоксидантов нарушается редокс-сигнализация, что способствует изменению клеточного функционирования и возникновению рака.

Следует отметить, что при повышении концентрации НАДФН может усиливаться генерация экзогенных АФК мембранными НАДФН-оксидазами. Повышенная генерация АФК опухолевыми клетками отмечается во многих исследованиях [88, 101, 198], что в ряде случаев может служить аутокринным сигналом, поддерживающим измененный редокс-гомеостаз опухолевых клеток. Внеклеточный H_2O_2 может вызывать гибель нормальных клеток и поддерживать пролиферативную активность трансформированных (см. выше). Показано, что сверхэкспрессия гена оксидазы Mox 1 ускоряет пролиферацию фибробластов линии NIH3T3 и вызывает формирование опухолей у мышей [158].

Проявление цитотоксического действия пероксида водорода, противоопухолевого агента и индуктора апоптоза зависит от содержания антиоксидантов в клетке. В трансформированных клетках крови (промиелоцитарная лейкемия) линии HL-60 цитотоксический эффект H_2O_2 проявляется при концентрации 32 мкМ, а в клетках глиомы линии KG1C, в которых внутриклеточная концентрация глутатиона в 5 раз выше, чем в HL-60, цитотоксическая доза H_2O_2 в 100 раз выше [80]. В свою очередь одновременная активация редокс-сигнальных систем, использующих супероксидный анион-радикал (НАДФН-оксидаза) и монооксид азота (NO-синтаза), может способствовать образованию высокотоксичных окислителей пероксинитрит-аниона ($ONOO^-$), диоксида азота (NO_2) и гидроксильного радикала ($HO\cdot$), ведущих к повреждению клеточных структур.

Предполагается, что различные клеточные состояния зависят от соотношения концентраций NO и O_2^- [174]. В состоянии покоя наблюдается высокое соотношение NO/O_2^- (> 10), а преобладающим интермедиатом является NO . Активация клеток будет наблюдаться при соотношении NO/O_2^- около 2–3, когда преобладающим интермедиатом будет NO^+ . Максимальной активации соответствует соотношение NO/O_2^- , равное 1, при котором преимущественно образуется $ONOO^-$, а при соотношении NO/O_2^- менее 0,5 будет происходить повреждение клеточных мишеней в результате образования NO_2 и $HO\cdot$. Таким образом, при определенных условиях внеклеточная генерация АФК формирует паракринный сигнал, регулирующий трансформацию здоровых клеток.

Наряду с этим показано, что повышение генерации АФК в результате активации НАДФН-оксидазы при увеличении уровня васкулярного фактора роста эндотелия (VEGF) стимулирует

пролиферацию опухолевых клеток и ангиогенез [192]. Поэтому в онкологии наряду с препаратами, усиливающими генерацию АФК в клетках, используются также препараты, снижающие образование АФК клетками. Так, например, широко используемые в ангиогенной терапии лекарственные препараты авастин (бевацизумаб) и лущентис (ранибизумаб) – антагонисты VEGF – снижают образование АФК в клетках, которое наблюдается при стимуляции VEGF-рецепторов [121]. Таким образом, трансформация ряда свойств клеток при канцерогенезе, вероятно, протекает с участием экзоплазматически генерируемых АФК.

Для индукции апоптоза в клетках необходимо инициировать повышение концентрации АФК в матриксе митохондрий. Образующийся при этом H_2O_2 вызовет окисление сульфгидрильных групп адениннуклеотидного транспортера ANT (adenine nucleotide translocase) внутренней мембраны митохондрий, что приведет к образованию пор высокой проводимости в результате формирования комплекса между циклофилином D, ANT и потенциал-зависимым анионным каналом VDAC внешней мембраны митохондрий [71]. Открытие пор высокой проводимости сопровождается деполяризацией внутренней мембраны митохондрий и приводит к высвобождению цитохрома c и апоптоз-индуцирующего фактора AIF, что является начальной стадией апоптоза [173]. Таким образом, согласно описанному выше механизму АФК-опосредованной активации апоптоза, образование АФК должно происходить вблизи специфических редокс-сенсоров, в качестве которых выступают сульфгидрильные группы ANT.

При поддержании постоянного градиента концентраций пероксида водорода на плазматической мембране [7] и митохондриальной мембране концентрация H_2O_2 в матриксе митохондрий на несколько порядков ниже его внеклеточной концентрации. Поэтому для активации апоптоза необходим H_2O_2 в высоких (по сравнению с эндогенными) концентрациях. Использование ряда противоопухолевых препаратов, вероятно, позволяет повысить концентрацию АФК вблизи митохондрий и ядра, что и определяет их противоопухолевую активность.

При этом следует отметить, что биологическая (противоопухолевая) активность ряда агентов зависит от их редокс-свойств. Для описания способности веществ отдавать электроны используются различные физико-химические параметры, такие как окислительный потенциал [195], редокс-потенциал [154], константа скорости реакции второго порядка для тушения образования синглетного кислорода фотосенсибилизаторами k_{Δ} [26], энергия высшей занятой молекулярной орбитали $E_{ВЗМО}$ [199] и др. Обнаружена линейная корреляция между способностью флавонов ингибировать рост клеток карциномы (IC_{50}) и значением их k_{Δ} : более высокое значение k_{Δ} (более отрицательное значение редокс-потенциала) соответствует агенту с более высокой токсической активностью [26]. С другой стороны, биологическая активность химического агента зависит также от редокс-свойств клеток и тканей. Показано, что величина изменения внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} ($\Delta[Ca^{2+}]_{цит}$), индуцированная увеличением концентрации пероксида водорода, зависит от величины редокс-буферной емкости клеток [116]. В клетках с более высокой редокс-буферной емкостью величина $\Delta[Ca^{2+}]_{цит}$ ниже, чем в клетках с меньшей по величине редокс-буферной емкостью. Показано, что резистентность опухолевых клеток к противоопухолевым агентам зависит от общей антиоксидантной емкости клеток [140]. Эпигаллокатехин-3-галлат в высоких концентрациях индуцирует генерацию АФК в опухолевых клетках, но ингибирует образование АФК в нормальных эпителиальных клетках [193]. Таким образом, современные подходы в противоопухолевой терапии должны учитывать редокс-свойства агента, редокс-свойства биосистемы и локализацию (компарментализацию) внутриклеточных редокс-регуляторных систем.

Редокс-нанобиотехнологии: новые возможности и направления поиска в противоопухолевой терапии. В связи с обнаруженными отличиями в величинах параметров редокс-состояния и метаболизма кислорода опухолевых клеток в сравнении с нормальными были инициированы поиск и разработка новых методов противоопухолевой терапии, основной задачей которых являлась регуляция окислительных процессов в опухолевых клетках. В последние годы наряду с традиционно используемыми фототерапией и радиотерапией опухолей внимание исследователей привлекают также методы, направленные на индуцирование окислительного стресса в опухолевых клетках с помощью различных химиопрепаратов. В рамках современных представлений

регуляция окислительных процессов может осуществляться не только редокс-активными молекулами, но и регуляторами активности АФК-генерирующих и антиоксидантных ферментов, что значительно увеличивает разнообразие подходов к решению поставленной задачи.

Современные представления о клеточных редокс-процессах инициируют поиск более эффективных методов индуцирования гибели опухолевых клеток, в основе которых должен лежать не просто запуск окислительного стресса, а реализация «контролируемого окислительного стресса». Некоторые подходы этой новой противоопухолевой стратегии уже начинают разрабатываться в ряде стран, включая США, Японию, Германию и Бельгию.

Задачей технологий контролируемого окислительного стресса в отношении многоклеточного организма является активация окислительного стресса в определенных типах клеток (нужны системы доставки и активации). При этом следует учитывать, что окислительный стресс можно инициировать в результате изменения редокс-сигнализации, когда в определенном месте клетки изменяется концентрация АФК или антиоксидантов. Технологии управления процессами редокс-сигнализации представляет собой новую группу биотехнологий, которую можно назвать редокс-нанобиотехнологиями.

Если одной из задач, требующей решения в рамках традиционных методов противоопухолевой терапии, является достижение селективности действия противоопухолевых агентов на уровне клеток, то задачей современных методов является достижение селективности действия на уровне клеточных органелл. Несмотря на всю сложность такой задачи, некоторые положительные результаты уже получены.

Рядом авторов в качестве нового инструмента в противоопухолевой терапии предлагается использовать так называемые редокс-катализаторы, повышающие скорость окислительных повреждений опухолевых клеток [61, 65]. Редокс-катализаторы – это синтетические соединения, содержащие атом селена или теллура и органический компонент. Такие соединения проявляют каталитическую активность, сходную с активностью глутатионпероксидазы, но в отличие от нее не обладают субстратной специфичностью и способны катализировать окисление различных тиолсодержащих лигандов [65]. В отличие от традиционных противоопухолевых агентов, которые являются постоянно активными, такие соединения способны вызывать повреждение клеток только в конкретных редокс-условиях.

Следует отметить, что способность некоторых соединений выступать в качестве доноров или акцепторов электронов зависит также от специфических редокс-условий и определяет их потенциальную возможность использования в редокс-нанобиотехнологиях. Одним из примеров таких соединений может служить аскорбиновая кислота, интерес к возможности использования которой в терапии онкологических заболеваний значительно вырос в последние годы.

Первые исследования противоопухолевых свойств аскорбиновой кислоты были выполнены E. Cameron и L. Pauling в 1970-х годах [39–41]. Было показано, что введение 10 г аскорбиновой кислоты снижает смертность пациентов на поздней стадии рака. В исследованиях, проведенных позже С. Moertel и соавт. [50, 122], не наблюдалось улучшения состояния здоровья у онкологических больных, принимавших по 10 г аскорбиновой кислоты, что поставило под сомнения возможность ее использования в качестве терапевтического агента в противоопухолевой терапии. Противоречивость результатов исследований противоопухолевых свойств аскорбиновой кислоты *in vivo* удалось объяснить только в конце XX в. Различия в результатах указанных выше исследований объясняются использованием разных методов введения аскорбиновой кислоты в организм пациента. В исследованиях, проведенных С. Moertel с коллегами, аскорбиновую кислоту вводили только *per os*, а в исследованиях E. Cameron и L. Pauling использовали также внутривенное введение аскорбиновой кислоты в организм человека. Положительные эффекты наблюдались только при ее внутривенном введении. Показано, что внутривенное введение высоких доз антиоксиданта позволяет увеличить концентрацию аскорбиновой кислоты в крови в 70 раз, тогда как употребление высоких доз аскорбиновой кислоты *per os* увеличивает концентрацию антиоксиданта в крови только в несколько раз [132].

Согласно результатам исследований, проведенных *in vitro*, аскорбиновая кислота в концентрациях 1–10 мМ уменьшает пролиферативную активность и увеличивает гибель опухолевых

клеток предстательной железы в культуре [114]. Показано также, что аскорбиновая кислота индуцирует гибель клеток гепатомы [197], опухолевых клеток желудка [161], клеток острой миелоидной лейкемии [134], клеток промиелоцитарной линии U937 [147] и других опухолевых клеток. Недавно американские ученые в экспериментах *in vitro* с использованием 43 линий опухолевых клеток и 5 линий нормальных клеточных типов показали, что аскорбиновая кислота при концентрациях свыше 4 мМ индуцирует гибель только опухолевых клеток [46, 47]. В экспериментах *in vivo* на крысах также показано, что аскорбиновая кислота в высоких дозах подавляет рост и метастазирование при гормонально-резистентном раке предстательной железы [137]. Однако механизм избирательного цитотоксического действия аскорбиновой кислоты в отношении опухолевых клеток до сих пор не обоснован.

Исследования, проведенные *in vitro*, позволяют предположить, что цитотоксичность аскорбиновой кислоты в высоких концентрациях опосредована образованием пероксида водорода с участием металлов переменной валентности [33]. Тем не менее возможность осуществления такого механизма *in vivo* считается маловероятной [157]. Нами было показано, что цитотоксичность аскорбиновой кислоты может быть связана с регуляцией кальциевой сигнализации в опухолевых клетках [117]. Обнаружено, что при действии аскорбиновой кислоты в результате увеличения генерации активных форм кислорода электрон-транспортным комплексом III индуцируется высвобождение ионов кальция из митохондрий опухолевых клеток [2], что, вероятно, активирует апоптоз. Данный механизм позволяет объяснить также результаты экспериментальных исследований по изучению влияния аскорбиновой кислоты на эффективность действия противоопухолевых препаратов *in vitro* и *in vivo*. Показано, что в присутствии аскорбиновой кислоты противоопухолевая активность одних препаратов (блеомецин [138], циклофосфамид [164], трисеннокс [22, 66], доксорубин и паклитоксел [102]) повышается, в то время других (метатрексат [22], бортезомиб [200]) снижается. Вероятно, аскорбиновая кислота усиливает действие препаратов, метаболизм которых протекает с участием электрон-транспортных комплексов митохондриальной и микросомальной цепей (например, доксорубин и паклитоксел).

Следует отметить, что уже имеющиеся способы количественного описания позволяют определить концентрацию и состав вводимых редокс-активных соединений, оптимальную для активации клеточного отклика в данных редокс-условиях. Такие теоретические подходы могут быть использованы не только для создания новых нанобиотехнологий, но и для улучшения уже используемых методов противоопухолевой терапии. Подобно составлению электрических цепей (батарей) можно составлять цепи из редокс-активных элементов, что позволит значительно усиливать противоопухолевое действие данных соединений.

Показано, что ретиноевая и аскорбиновая кислоты проявляют синергизм при ингибировании роста раковых клеток молочной железы [96]. Т. Nakazato и соавт. [125] показали, что противоопухолевый эффект эпигаллокатехин-3-галлата усиливается трисенноксом. Синергизм действия в отношении опухолевых клеток наблюдается также для аскорбиновой кислоты и менадиона [182]. Следует подчеркнуть, что при совместном использовании менадиона и аскорбиновой кислоты для индукции апоптоза требуются концентрации агентов в 50 раз меньшие, чем при их раздельном использовании [128]. Предварительная обработка менадионом и аскорбиновой кислотой в экспериментах *in vitro* и *in vivo* усиливает действие гемцитабина (Гемзар) в отношении уротелиальных опухолей человека [92]. Аналогичные результаты получены и для других противоопухолевых препаратов [53, 164]. Следует отметить, что эффект радиотерапии также усиливается менадионом и аскорбиновой кислотой [165]. В рамках описанного выше механизма данный синергизм объясняется усилением образования АФК с участием хинонов (менадиона) и оксидоредуктаз митохондрий при действии аскорбиновой кислоты. Данная гипотеза подтверждается экспериментальными наблюдениями, согласно которым цитотоксический эффект аскорбиновой кислоты усиливается не только менадионом, но и другими хинонами [181]. При этом определяющим является редокс-потенциал хинона, который должен иметь более отрицательное значение, чем редокс-потенциал аскорбиновой кислоты.

Одним из параметров, регулирующих протекание окислительно-восстановительных процессов в клетках, является величина рН. Предполагается, что наблюдаемое уменьшение внутриклет-

точной концентрации ионов H^+ (см. табл. 1) в опухолевых клетках снижает эффективность действия ряда противоопухолевых препаратов, включая адриамицин, паклитоксел и цисплатин [73]. При смещении величины кислотно-основного равновесия в цитоплазме опухолевых клеток легкого человека с pH 7.0 до pH 7.4 резистентность клеток к адриамицину увеличивалась в 2000 раз [93]. Показано, что действие аскорбиновой кислоты в высоких концентрациях сопровождается снижением внутриклеточного pH [117], что также способствует усилению окислительных процессов в клетках [5]. Теоретически и экспериментально установленная нами взаимосвязь кислотно-основного и редокс-гомеостаза клеток [5] дает возможность рассматривать регуляцию pH в качестве дополнительного инструмента, позволяющего повысить специфичность редокс-нанобиотехнологий. При этом следует отметить, что величина кальциевого ответа клеток на действие аскорбиновой кислоты зависит от величины внеклеточного pH [117] и активности электрон-транспортной цепи митохондрий [2]. Измененные pH-гомеостаз и редокс-гомеостаз опухолевых клеток могут усиливать кальциевый ответ при действии аскорбиновой кислоты, тем самым повышая ее цитотоксичность в отношении опухолевых клеток. Таким образом, аскорбиновая кислота, способная регулировать одновременно и кислотно-основное, и окислительно-восстановительное состояние опухолевых клеток, может служить прототипом для создания новых противоопухолевых агентов с механизмом бинарного регуляторного действия. При этом ключевой мишенью соответствующих нанобиотехнологий должны выступать компоненты электрон-транспортных цепей клеток.

Многочисленные исследования последних лет значительно расширили существующие представления о механизмах редокс-регуляции клеточных процессов. Новая роль физических процессов переноса электрона и протона в регуляции функциональной активности клеток требует разработки новых подходов к описанию молекулярно-клеточных событий с участием редокс-активных молекул. Описательный подход, не учитывающий физические закономерности взаимодействия реагирующих молекул и ионов, усложняет картину описания механизмов регуляции внутриклеточных процессов, создаваемую многочисленными участниками процессов внутриклеточной сигнализации. Центральное место в дальнейших исследованиях окислительно-восстановительных процессов в биологических системах должны занимать исследования физических закономерностей, определяющих свойства взаимодействующих редокс-активных молекул и направления переноса электронов и протонов.

Нет сомнения в том, что дальнейшие исследования редокс-свойств клеток позволят получить новые данные, важные для понимания общих закономерностей функционирования клетки и регуляции ее функциональной активности, что помимо фундаментального значения внесет существенный вклад в решение ряда практических вопросов, включая разработку новых редокс-нанобиотехнологий для медицинских приложений.

Литература

1. Великий Н. Н., Вовк О. И., Афонюшкин Т. А. и др. // Эксперим. онкология. 2001. Т. 23. С. 39–42.
2. Голубева Е. Н., Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Черенкевич С. Н. // Кислород и антиоксиданты. 2010. № 2. С. 23–24.
3. Копнин Б. П. // Биохимия. 2000. Т. 65. С. 5–33.
4. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н., Черенкевич С. Н. // Рецепторы и внутриклеточная сигнализация: сб. ст. / Под ред. В. П. Зинченко и др. М., 2011. Т. 2. С. 586–692.
5. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н., Черенкевич С. Н. // Биофизика. 2009. Т. 54, № 5. С. 846–851.
6. Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Черенкевич С. Н. // Биофизика. 2008. Т. 53, № 4. С. 618–623.
7. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Биомед. химия. 2005. Т. 51, № 6. С. 626–633.
8. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 1. 2004. № 1. С. 28–36.
9. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Вестн. Белорус. ун-та. Сер. 1. 2004. № 3. С. 14–19.
10. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. Окислительно-восстановительные процессы в клетках. Минск, 2008.
11. Мартинович Г. Г., Черенкевич С. Н. // Успехи физиол. наук. 2008. Т. 39, № 3. С. 29–44.
12. Соловьева М. Е., Соловьев В. В., Фасхутдинова А. А. и др. // Цитология. 2007. Т. 49, № 1. С. 70–78.
13. Черезов А. Е. Общая теория рака. Тканевый подход. М., 1997.
14. Черенкевич С. Н., Мартинович Г. Г., Мартинович И. В., Голубева Е. Н. // Журн. ГрГМУ. 2009. № 2. С. 9–11.

15. Akatov V. S., Solov'eva M. E., Leshchenko V. V., Teplova V. V. // Bull. Exp. Biol. Med. 2003. Vol. 136. P. 279–282.
16. Arismendi-Morillo G. J., Castellano-Ramirez A. V. // J. Electron. Microsc. 2008. Vol. 57. P. 33–39.
17. Armstrong J. S., Steinauer K. K., Hornung B. et al. // Cell Death Differ. 2002. Vol. 9. P. 252–263.
18. Armstrong J. S., Jones D. P. // FASEB J. 2002. Vol. 16. P. 1263–1265.
19. Armstrong J. S., Whiteman M., Yang H., Jones D. P. // BioEssays. 2004. Vol. 26. P. 894–900.
20. Artandi S. E., DePinho R. A. // Carcinogenesis. 2010. Vol. 31. P. 9–18.
21. Bae Y. S., Kang S. W., Seo M. et al. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 217–221.
22. Bahlis N., McCafferty-Grad J., Jordan-McMurry I. et al. // Clin. Cancer Res. 2002. Vol. 8. P. 3658–3668.
23. Barazzone C., White C. W. // Am. J. Respir. Cell Mol. Biol. 2000. Vol. 22. P. 517–519.
24. Bellance N., Lestienne P., Rossignol R. // Front Biosci. 2009. Vol. 14. P. 4015–4034.
25. Bellosillo B., Villamor N., López-Guillermo A. et al. // Blood. 2001. Vol. 98. P. 2771–2777.
26. Bensasson R., Jossang A., Zahir A. et al. // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 27. P. 95–99.
27. Berneis K., Kofler M., Bollag W. et al. // Experientia. 1963. Vol. 19. P. 132–133.
28. Biroccio A., Benassi B., Filomeni G. et al. // J. Biol. Chem. 2002. Vol. 277. P. 43763–43770.
29. Borrás C., Esteve J., Vina J. et al. // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279, N 33. P. 34332–34335.
30. Boveris A., Cadenas E. // IUBMB Life. 2000. Vol. 50. P. 1–6.
31. Boveris A., Chance B. // Biochem. J. 1973. Vol. 134. P. 707–716.
32. Bragado P., Armesilla A., Silva A., Porras A. // Apoptosis. 2007. Vol. 12. P. 1733–1742.
33. Buettner G., Jurkiewicz B. // Radiat. Res. 1996. Vol. 145. P. 532–541.
34. Burdon R., Alliangana D., Gill V. // Free Radic. Res. 1995. Vol. 23. P. 471–486.
35. Burdon R., Gill V., Alliangana D. // Free Radic. Res. 1996. Vol. 24. P. 81–93.
36. Burdon R., Rice-Evans C. // Free Radic. Res. Commun. 1989. Vol. 6. P. 345–358.
37. Cadenas E. // Mol. Aspects of Med. 2004. Vol. 25. P. 17–26.
38. Cadenas E., Davies K. // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 29. P. 222–230.
39. Cameron E., Campbell A. // Chem. Biol. Interact. 1974. Vol. 9. P. 285–315.
40. Cameron E., Pauling L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1976. Vol. 73. P. 3685–3689.
41. Cameron E., Pauling L. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1978. Vol. 75. P. 4538–4542.
42. Cardone R., Casavola V., Reshkin S. // Nat. Rev. Cancer. 2005. Vol. 5. P. 786–795.
43. Chandell N., Maltepe E., Goldwasser E. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. Vol. 95. P. 11715–11720.
44. Chatterjee A., Mambo E., Sidransky D. // Oncogene. 2006. Vol. 25. P. 4663–4674.
45. Chen G., Wang F., Trachootham D., Huang P. // Mitochondrion. 2010. Vol. 10. P. 614–625.
46. Chen Q., Espey M., Krishna M. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 13604–13609.
47. Chen Q., Espey M., Sun A. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2008. Vol. 105. P. 11105–11109.
48. Chiba T., Takahashi S., Sato N. et al. // Eur. J. Immunol. 1996. Vol. 26. P. 1164–1169.
49. Conour J. E., Graham W. V., Gaskin H. R. // Physiol. Genomics. 2004. Vol. 18. P. 196–205.
50. Creagan E., Moertel C. // N. Engl. J. Med. 1979. Vol. 301. P. 687–690.
51. Cuezva J., Krajewska M., de Heredia M. et al. // Cancer Res. 2002. Vol. 62. P. 6674–6681.
52. Cuezva J., Ostronoff L., Ricart J. et al. // J. Bioenerg. Biomembrane. 1997. Vol. 29. P. 365–377.
53. De Loecker W., Janssens J., Bonte J., Taper H. S. // Anticancer Res. 1993. Vol. 13. P. 103–106.
54. Djavaheri-Mergny M., Wietzerbin J., Besançon F. // Oncogene. 2003. Vol. 22. P. 2558–2567.
55. Dong L. F., Freeman R., Liu J. et al. // Clin. Cancer Res. 2009. Vol. 15. P. 1593–1600.
56. Engel R. H., Evens A. M. // Front. Biosci. 2006. Vol. 11. P. 300–312.
57. Fernandes C., Bonatto D., Laurindo F. R. // Studies on Cardiovascular Disorders. New York, 2010. P. 1–41.
58. Freeman B. A., Crapo J. D. // J. Biol. Chem. 1981. Vol. 256. P. 10986–10992.
59. Friesen C., Fulda S., Debatin K. // Cell Death Differ. 1999. Vol. 6. P. 471–480.
60. Friesen C., Kiass S., Debatin K. // Cell Death Differ. 2004. Vol. 11. P. S73–S85.
61. Fry F. H., Holme A. L., Giles N. M. et al. // Org. Biomol. Chem. 2005. Vol. 3. P. 2579–2587.
62. Galli S., Labato M., Bal de Kier Joffe E. et al. // Cancer Res. 2003. Vol. 63. P. 6370–6377.
63. Gambhir S. S. // Nat. Rev. Cancer. 2002. Vol. 2. P. 683–693.
64. Garcia-Ruiz C., Colell A., Mari M. et al. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 11369–11377.
65. Giles N. M., Gutowski N. J., Giles G. I., Jacob C. // FEBS Lett. 2003. Vol. 535. P. 179–182.
66. Grad J., Bahlis N., Reis I. et al. // Blood. 2001. Vol. 98. P. 805–813.
67. Green D. R., Reed J. C. // Science. 1998. Vol. 281. P. 1309–1312.
68. Grogan T., Fenoglio-Prieser C., Zeheb R. et al. // Hum. Pathol. 2000. Vol. 31. P. 475–481.
69. Grossman N., Schneid N., Reuveni H. et al. // Lasers Surg. Med. 1998. Vol. 22. P. 212–218.
70. Gutteridge J., Ziai-Chang F. // Bioch. Biophys. Res. Comm. 1981. Vol. 99. P. 1354–1360.
71. Halestrap A. P., Woodfield K. Y., Connern C. P. // J. Biol. Chem. 1997. Vol. 272. P. 3346–3354.
72. Hanna M. G., Nelson I. P. // Cell Mol. Life Sci. 1999. Vol. 55. P. 691–706.
73. Harguindey S., Orive G., Luis Pedraz J. et al. // Biochim. Biophys. Acta. 2005. Vol. 1756. P. 1–24.
74. Hatzivassiliou G., Zhao F., Bauer D. et al. // Cancer Cell. 2005. Vol. 8. P. 311–321.
75. Hedley D., Chow S. // Meth. Cell Biol. 1994. Vol. 42. Pt. B. P. 31–44.
76. Holmuhamedov E., Lewis L., Bienengraeber M. et al. // FASEB J. 2002. Vol. 16. P. 1010–1016.

77. Honda T., Coppola S., Ghibelli L. et al. // *Cancer Gene Ther.* 2004. Vol. 11. P. 249–255.
78. Huang Z., Chen C., Zeng Z. et al. // *FASEB J.* 2001. Vol. 15. P. 19–21.
79. Huang P., Feng L., Oldham E. A. et al. // *Nature.* 2000. Vol. 407. P. 390–395.
80. Iida M., Sunaga S., Hirota N. et al. // *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1997. Vol. 123. P. 619–622.
81. Iliopoulos O., Levy A. P., Jiang C. et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1996. Vol. 93. P. 10595–10599.
82. Jezek P., Hlavata L. // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 2005. Vol. 37. P. 2478–2503.
83. John A. P. // *Med. Hypotheses.* 2001. Vol. 57. P. 429–431.
84. Jones D. P. // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2008. Vol. 295. P. C849–C868.
85. Jones D. P. // *J. Intern. Med.* 2010. Vol. 268. P. 432–448.
86. Juan M., Wenzel U., Daniel H. et al. // *J. Agric. Food Chem.* 2008. Vol. 56. P. 4813–4818.
87. Kahlos K., Soini Y., Saily M. et al. // *Int. J. Cancer.* 2001. Vol. 95. P. 198–204.
88. Kamiguti A., Serrander L., Lin K. et al. // *J. Immunol.* 2005. Vol. 175. P. 8424–8430.
89. Kang Y., Lee E., Choi M. et al. // *Int. J. Cancer.* 2004. Vol. 112. P. 385–392.
90. Karu T. I. // *J. Photochem. Photobiol.* 1999. Vol. 49. P. 1–17.
91. Karu T. I. // *Proceed. of SPIE.* 2003. Vol. 5149. P. 60–66.
92. Kassouf W., Highshaw R., Nelkin G. et al. // *J. Urol.* 2006. Vol. 176. P. 1642–1647.
93. Keizer H., Joenje H. // *J. Natl. Cancer Inst.* 1989. Vol. 81. P. 706–709.
94. Kim H. J., Lee J. H., Kim S. J. et al. // *J. Neurosci.* 2010. Vol. 30. P. 3933–3946.
95. Kim J. W., Tchernyshyov I., Semenza G. L., Dang C. V. // *Cell Metab.* 2006. Vol. 3. P. 177–185.
96. Kim K., Pie J. E., Park J. H. et al. // *J. Nutr. Biochem.* 2006. Vol. 17. P. 454–462.
97. Kinnula V. L., Crapo J. D. // *Free Radic. Res. Commun.* 2004. Vol. 36. P. 718–744.
98. Kinnula V., Lehtonen S., Sormunen R. et al. // *J. Pathol.* 2002. Vol. 196. P. 316–323.
99. Kovacic P., Jacintho J. // *Curr. Med. Chem.* 2001. Vol. 8. P. 773–796.
100. Kovacic P., Osuna J. // *Curr. Pharm. Des.* 2000. Vol. 6. P. 277–309.
101. Kumar B., Koul S., Khandrika L. et al. // *Cancer Res.* 2008. Vol. 68. P. 1777–1785.
102. Kurbacher C., Wagner U., Kolster B. et al. // *Cancer Lett.* 1996. Vol. 103. P. 183–189.
103. Kurosu T., Fukuda T., Miki T., Miura O. // *Oncogene.* 2003. Vol. 22. P. 4459–4446.
104. Kuznetsov A., Margreiter R., Amberger A. et al. // *Biochim. Biophys. Acta.* 2011. Vol. 1813. P. 1144–1152.
105. Lee Y., Kim H., Jung H. et al. // *Mol. Cells.* 2002. Vol. 14. P. 305–311.
106. Le S. B., Hailer M. K., Buhrow S. et al. // *J. Biol. Chem.* 2007. Vol. 282. P. 8860–8872.
107. López-Lázaro M. // *Mol. Med.* 2010. Vol. 16. P. 144–153.
108. López-Lázaro M. // *Int. J. Cancer.* 2007. Vol. 120. P. 1378–1380.
109. Lo Y. Y., Cruz T. F. // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270. P. 11727–11730.
110. Lu J., Chew E., Holmgren A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2007. Vol. 104. P. 12288–12293.
111. Lu Y., Cederbaum A. // *Free Radic. Biol. Med.* 2007. Vol. 43. P. 1061–1175.
112. Mahmutoglu I., Kappus H. // *Biochem. Pharmacol.* 1985. Vol. 34. P. 3091–3094.
113. Maliszka K. L., Hasinoff B. B. // *Free Radic. Biol. Med.* 1996. Vol. 20. P. 905–914.
114. Maramag C., Menon M., Balaji K. // *Prostate.* 1997. Vol. 32. P. 188–195.
115. Martinovich G. G., Cherenkevich S. N., Sauer H. // *Eur. Biophys. J.* 2005. Vol. 34, N 7. P. 937–942.
116. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. // *Biophysics.* 2011. Vol. 56, N 3. P. 444–451.
117. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N. // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2009. Vol. 147, N 4. P. 469–472.
118. Martinovich G. G., Martinovich I. V., Cherenkevich S. N., Sauer H. // *Cell Biochem. Biophys.* 2010. Vol. 58, N 2. P. 75–83.
119. Menon S. G., Sarsour E. H., Spitz D. R. et al. // *Cancer Res.* 2003. Vol. 62. P. 2109–2117.
120. Meurette O., Lefevre-Orfila L., Rebillard A. et al. // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11. P. 3075–3083.
121. Miller T. W., Isenberg J. S., Roberts D. D. // *Chem. Rev.* 2009. Vol. 109. P. 3099–3124.
122. Moertel C., Fleming T., Creagan E. et al. // *N. Engl. J. Med.* 1985. Vol. 312. P. 137–141.
123. Moreno-Sánchez R., Rodríguez-Enríquez S., Marín-Hernández A., Saavedra E. // *FEBS J.* 2007. Vol. 274. P. 1393–1418.
124. Muller I. D. // *Int. J. Mol. Med.* 1998. Vol. 1. P. 491–494.
125. Nakazato T., Ito K., Miyakawa Y. et al. // *Haematologica.* 2005. Vol. 90. P. 317–325.
126. Nakazato T., Ito K., Ikeda Y., Kizaki M. // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11. P. 6040–6049.
127. Neuzil J., Tomasetti M., Zhao Y. et al. // *Mol. Pharmacol.* 2007. Vol. 71. P. 1185–1199.
128. Noto V., Taper H., Jiang Y. et al. // *Cancer.* 1989. Vol. 63. P. 901–906.
129. Oberley L. W., Buettner G. R. // *Cancer Res.* 1979. Vol. 39. P. 1141–1149.
130. Omata Y., Lewis J., Rotenberg S. et al. // *J. Biomed. Mater. Res.* 2006. Vol. 77. P. 470–477.
131. Ough M., Lewis A., Bey E. A. et al. // *Cancer Biol. Ther.* 2005. Vol. 4. P. 95–102.
132. Padayatty S. J., Sun H., Wang Y. et al. // *Ann. Intern. Med.* 2004. Vol. 140. P. 533–537.
133. Packer L., Fuehr K. // *Nature.* 1977. Vol. 267. P. 423–425.
134. Park S., Han S., Park C. et al. // *Intern. J. Biochem. Cell Biol.* 2004. Vol. 36. P. 2180–2195.
135. Pei X. Y., Dai Y., Grant S. et al. // *Clin. Cancer Res.* 2004. Vol. 10. P. 3839–3852.
136. Pelicano H., Feng L., Zhou Y. et al. // *J. Biol. Chem.* 2003. Vol. 278. P. 37832–37839.
137. Pollard H. B., Levine M. A., Eidelman O., Pollard M. // *In Vivo.* 2010. Vol. 24. P. 249–255.
138. Prasad K. N., Sinha P. K., Ramanujam M., Sakamoto A. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1979. Vol. 76. P. 829–832.

139. Raha S., Robinson B. // Trends in Biochem. Sci. 2000. Vol. 25. P. 502–508.
140. Ramanathan B., Jan K., Chen C. et al. // Cancer Res. 2005. Vol. 65. P. 8455–8460.
141. Renschler M. F. // Eur. J. Cancer. 2004. Vol. 40. P. 1934–1940.
142. Ristow M., Cuezva J. M. Cellular Respiration and Carcinogenesis. New York, 2009. P. 1–19.
143. Rosales-Corral S., Reiter R. J., Tan D. et al. // Antiox. Redox Signal. 2010. Vol. 13. P. 193–247.
144. Santamaria G., Martinez-Diez M., Fabregat I., Cuezva J. // Carcinogenesis. 2006. Vol. 27. P. 925–935.
145. Sattler M., Winkler T., Verma S. et al. // Blood. 1999. Vol. 93. P. 2928–2935.
146. Schaffer M., Ertl-Wagner B., Schaffer P. et al. // Curr. Med. Chem. 2005. Vol. 12. P. 1209–1215.
147. Sestili P., Brandi G., Brambilla L. et al. // J. Pharm. Exp. Ther. 1996. Vol. 277. P. 1719–1725.
148. Seyfried T. N., Shelton L. M. // Nutr. Metab. (Lond.) 2010. Vol. 7. P. 7.
149. Shanafelt T. D., Lee Y. K., Bone N. D. et al. // Blood. 2005. Vol. 105. P. 2099–2106.
150. Shrieve D., Bump E., Rice G. // J. Biol. Chem. 1988. Vol. 263. P. 14107–14114.
151. Sies H., Jones D. P. Encyclopedia of Stress. Elsevier; San Diego, 2007.
152. Simonnet H., Alazard N., Pfeiffer K. et al. // Carcinogenesis. 2002. Vol. 23. P. 759–768.
153. Soini Y., Kahlos K., Napankangas U. et al. // Clin. Cancer Res. 2001. Vol. 7. P. 1750–1757.
154. Song Y., Buettner G. R. // Free Radic. Biol. Med. 2010. Vol. 49. P. 919–962.
155. Starikova A. M., Pogorelova N. C., Kostyuk P. G. // Neuroscience. 2000. Vol. 95. P. 923–926.
156. Stoler D. L., Chen N., Basik M. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1999. Vol. 96. P. 15121–15126.
157. Suh J., Zhu B., Frei B. // Free Radic. Biol. Med. 2003. Vol. 34. P. 1306–1314.
158. Suh Y. A., Arnold R. S., Lassegue B. et al. // Nature. 1999. Vol. 401. P. 79–82.
159. Sundaesan M., Yu Z. X., Ferrans V. J. et al. // Science. 1995. Vol. 270. P. 296–299.
160. Sung J. Y., Hong J. H., Kang H. S. et al. // Immunopharmacology. 2000. Vol. 47. P. 35–44.
161. Sun Y. X., Zheng Q. S., Li G. et al. // Biomed. Environ. Sci. 2006. Vol. 19. P. 385–391.
162. Suzukawa K., Miura K., Mitsushita J. et al. // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. P. 13175–13178.
163. Szatrowski T. P., Nathan C. F. // Cancer Res. 1991. Vol. 51. P. 794–798.
164. Taper H. S., de Gerlache J., Lans M., Roberfroid M. // Int. J. Cancer. 1987. Vol. 40. P. 575–579.
165. Taper H. S., Keyeux A., Roberfroid M. // Anticancer Res. 1996. Vol. 16. P. 499–503.
166. Tew K. D., Townsend D. M. // Curr. Opin. Chem. Biol. 2011. Vol. 15. P. 156–161.
167. Thannickal V., Hassoun P., White A., Fanburg B. // Am. J. Physiol. 1993. Vol. 265. P. L622–L626.
168. Thayyullathil F., Chathoth S., Hago A. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2008. Vol. 45. P. 1403–1412.
169. Tolando R., Jovanovic A., Brigelius-Flohe R. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2000. Vol. 28. P. 979–986.
170. Trachootham D., Alexandre J., Huang P. // Nat. Rev. Drug Discov. 2009. Vol. 8. P. 579–591.
171. Trump B. F., Berezsky I. K. // FASEB J. 1995. Vol. 9. P. 219–228.
172. Trunpower B. L. // J. Biol. Chem. 1990. Vol. 265. P. 11409–11412.
173. Tsujimoto Y., Nakagawa T., Shimizu S. // Biochim. Biophys. Acta. 2006. Vol. 1757. P. 1297–1300.
174. Ullrich V., Kissner R. // J. Inorg. Biochem. 2006. Vol. 100. P. 2079–2086.
175. Ungerstedt J. S., Sowa Y., Xu W. S. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2005. Vol. 102. P. 673–678.
176. Uzdensky A. B., Dergacheva O. Y., Zhavoronkova A. A. et al. // Life Sci. 2004. Vol. 74. P. 2185–2197.
177. Varbiro G., Veres B., Gallyas F., Sumegi B. // Free Radic. Biol. Med. 2001. Vol. 31. P. 548–558.
178. Veech R. L., Kashiwaya Y., Gates D. N. et al. // IUBMB Life. 2002. Vol. 54. P. 241–252.
179. Veech R. L., Lawson J. W., Cornell N. W., Krebs H. A. // J. Biol. Chem. 1979. Vol. 254. P. 6538–6547.
180. Verrax J., Beck R., Dejeans N. et al. // Anticancer Agents Med. Chem. 2011. Vol. 11. P. 213–221.
181. Verrax J., Delvaux M., Beghein N. et al. // Free Radic. Res. 2005. Vol. 39. P. 649–657.
182. Verrax J., Taper H., Buc Calderon P. // Curr. Mol. Pharm. 2008. Vol. 1. P. 80–92.
183. Vogelstein B., Kinzler K. W. // Nat. Med. 2004. Vol. 10. P. 789–799.
184. Wang F., Ogasawara M. A., Huang P. // Mol. Aspects Med. 2010. Vol. 31. P. 75–92.
185. Warburg O. // Science. 1956. Vol. 123. P. 309–314.
186. Wartenberg M., Deidershagen H., Hescheler J., Sauer H. // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274, N 39. P. 27759–27767.
187. Wartenberg M., Hescheler J., Sauer H. // Am. J. Physiol. 1997. Vol. 272. P. 1677–1683.
188. Wartenberg M., Wirtz N., Grob A. et al. // Bioelectromagnetics. 2008. Vol. 29. P. 47–54.
189. Weitsman G. E., Ravid A., Liberman U. A., Koren R. // Int. J. Cancer. 2003. Vol. 106. P. 178–186.
190. Weitsman G. E., Koren R., Zuck E. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2005. Vol. 39. P. 266–278.
191. Wondrak G. T. // Antioxid. Redox Signal. 2009. Vol. 11. P. 3013–3069.
192. Xia C., Meng Q., Liu L. Z. et al. // Cancer Res. 2007. Vol. 67. P. 10823–10830.
193. Yamamoto T., Hsu S., Lewis J. et al. // J. Pharm. Exp. Ther. 2003. Vol. 307. P. 230–236.
194. Yanagawa T., Iwasa S., Ishii T. et al. // Cancer Lett. 2000. Vol. 56. P. 27–35.
195. Yang B., Kotani A., Arai K., Kusu F. // Anal. Sci. 2001. Vol. 17. P. 599–604.
196. Zatorska A., Maszewski J., Jozwiak Z. // Acta Biochim. Pol. 2003. Vol. 50. P. 825–836.
197. Zheng Q. T., Zhang Y. T., Zheng R. L. // Pharmazie. 2002. Vol. 57. P. 753–757.
198. Zhou Y., Hileman E., Plunkett W. et al. // Blood. 2003. Vol. 101. P. 4098–4104.
199. Zoete V., Bailly F., Maglia F. et al. // Free Radic. Biol. Med. 1999. Vol. 26. P. 1261–1266.
200. Zou W., Yue P., Lin N. et al. // Clin. Cancer Res. 2006. Vol. 12. P. 273–280.

*G. G. MARTINOVICH, I. V. MARTINOVICH, E. N. GOLUBEVA, S. N. CHERENKEVICH,
Y. D. DEMIDCHIK, Y. M. GAIN, T. E. VLADIMIRSKAYA, M. L. LUSHCHYK*

**REDOX BIOTECHNOLOGIES AS THE BASIS FOR A NEW STRATEGY
IN ANTICANCER THERAPY**

Summary

Recent concepts about redox signaling and redox homeostasis in tumor tissues are considered in the review. Mechanisms of cells transformation with the participation of reactive oxygen species are analyzed in detail. Special attention is given to the new technologies in the field of anticancer therapy, which are based on the redox regulation of cellular processes.

Национальная академия наук Беларуси

УДК 616.831-073.788

А. В. ЖАРИКОВА¹, В. В. ПОНОМАРЕВ²

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ КОГНИТИВНОГО ВЫЗВАННОГО ПОТЕНЦИАЛА Р300 В КЛИНИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ

¹Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека,
Гомель, Беларусь,

²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

(Поступила в редакцию 01.11.2011)

Вызванные потенциалы (ВП) – индикаторы электрических процессов работы мозга, которые связаны с механизмами восприятия и обработки информации. Одним из вариантов ВП являются когнитивные, или «эндогенные», потенциалы, которые отражают процессы, обусловленные собственной активностью головного мозга [1–3]. Появление термина «когнитивные ВП» (КВП) связано с исследованием с их помощью познавательных функций мозга, таких как внимание (ожидание появления стимула), различение модальности стимулов, память, переработка информации, принятие решения, выбор реакции, счет [2]. Выдающийся отечественный психолог А. Р. Лурия (1969) выделял не менее трех блоков в реализации когнитивных функций, нарушение в каждом из которых приводит к тем или иным клиническим проявлениям. По его мнению, энергетический блок связан с подкорково-стволовыми структурами; центральные механизмы восприятия и последующей переработки информации расположены в ассоциативных областях мозга медиальных отделов височных и лобных долей; блок программирования, ответственный за принятие решения, локализован в лобных долях мозга [6]. За последние годы предприняты попытки использования инструментальных нейрофизиологических методик для оценки этих сложных процессов, и одной из них является КВП Р300.

Значение когнитивных вызванных потенциалов. КВП отражают состояние мозговых интегративных процессов, лежащих в основе реализации высших корковых функций, и, следовательно, могут служить объективными показателями степени нарушения когнитивных функций у человека. Известно, что когнитивные нарушения (КН), возникающие вследствие патологических изменений в мозге, могут иметь различную локализацию: они обнаруживаются в белом веществе, корковых и подкорковых структурах. На начальных стадиях формирования этих расстройств нередко возникают трудности в их объективизации, динамическом наблюдении и оценке эффективности проводимой терапии. Принципиально важным является то, что на ранних стадиях ряда заболеваний КН потенциально обратимы и их можно остановить при помощи адекватной и дифференцированной терапии. В этой связи в клинической практике большое значение приобретает ранняя диагностика КН с использованием методики КВП Р300. Практическая значимость данной методики подтверждена тем, что она включена в число методик ВП, рекомендуемых Международной и Американской ассоциациями клинических нейрофизиологов [3]. Следует отметить, что помимо методики Р300 используются и другие когнитивные вызванные потенциалы – MMN, CNV.

Р300 применяют для оценки когнитивных расстройств на доклинической стадии при паркинсонизме, эпилепсии, хорее Гентингтона, болезни Вильсона–Коновалова и др.; для определения степени выраженности деменции различного генеза; для дифференциальной диагностики деменций и псевдодеменций; для объективной оценки динамики КН в процессе лечения; с це-

люю профессионального отбора. В детской неврологии P300 используют для диагностики синдрома гиперактивности и нарушений внимания [2–5].

Методика регистрации когнитивных вызванных потенциалов. Методика P300 основана на подаче в случайной последовательности серии из двух стимулов, которые разделяют на незначимые и значимые. Данные стимулы отличаются друг от друга определенными параметрами. При обычном выделении ответов на эти отличающиеся стимулы (чаще слуховые) без условия их опознания обычно регистрируют пять волн. Ситуация меняется, если пациенту дается установка, что один из стимулов будет значимым и на него нужно обратить внимание (опознать и подсчитать), когда он будет подаваться в ряду других стимулов. В такой серии стимулов при выделении и усреднении ответов образуется дополнительная позитивная волна в области 300 мс после стимула – P300 (рис. 1).

Стимуляцию в ситуации случайно возникающего события (*odd-ball paradigm*) применяют на слуховые, реже на зрительные стимулы с наличием отдельных триггеров для запуска и усреднения редких (значимых стимулов-мишеней – *target*) и частых (незначимых, стандартных) событий. При регистрации КВП P300 чаще используют методику бинауральной стимуляции в виде случайно возникающего значимого звукового стимула на фоне стандартных незначимых сигналов. Пациенту предлагают подсчитать количество значимых стимулов. Используют стандартные условия стимуляции: длительность стимула – 50 мс, интенсивность стимула – 80 дБ, период между стимулами – 1 с, частота тона (значимый стимул – 2000 Гц, вероятность – 30%, незначимый стимул – 1000 Гц, вероятность – 70%). Возникновение в серии значимого и незначимого стимула – псевдослучайно, и на каждые 5 незначимых появляются 1–2 значимых стимула. Регистрацию P300 проводят при активном отведении с электрода, находящегося в точке Cz или C3, C4, так как ответы достаточно широко выражены в лобно-центральной и теменной областях. Референтными электродами являются ипсилатеральные ушные или мастоидальные A1 и A2, а заземляющим – электрод Fpz (согласно международной схеме, «10–20%»). Условиями усреднения являются: эпоха анализа – 750–1000 мс, число усреднений – отдельно для значимых (равных 30) и незначимых стимулов. Автоматически производится раздельное усреднение на предъявляемые частые – незначимые и редкие – опознаваемые значимые стимулы. Предварительно пациенту дается указание считать число предъявленных значимых стимулов или нажимать при каждом значимом стимуле на кнопку [2–4, 7].

В P300 выделяют подкомпоненты, которые различаются по времени и связаны с определением вероятности, последовательности событий, новизны, значимости, знакового содержания и информационной нагрузки стимула (рис. 2). По сути P300 представляет собой конгломерат волн с разной топографией и латентностью [7]. Если колебания потенциалов перекрывают друг друга, образуется одна волна, если нет – говорят о комплексе P300. Для достоверности выделения и анализа пиков КВП применяют методику суперпозиции кривых двух последовательных серий усреднений, полученных у одного испытуемого [1–3, 7]. В более полном описании эндогенный компонент определяют как комплекс N200–P300, где компонент N200 связан с опознани-

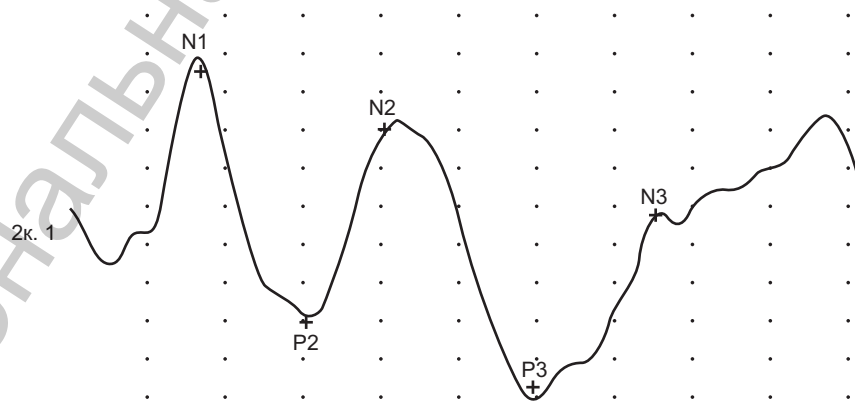


Рис. 1. Когнитивный вызванный потенциал P300

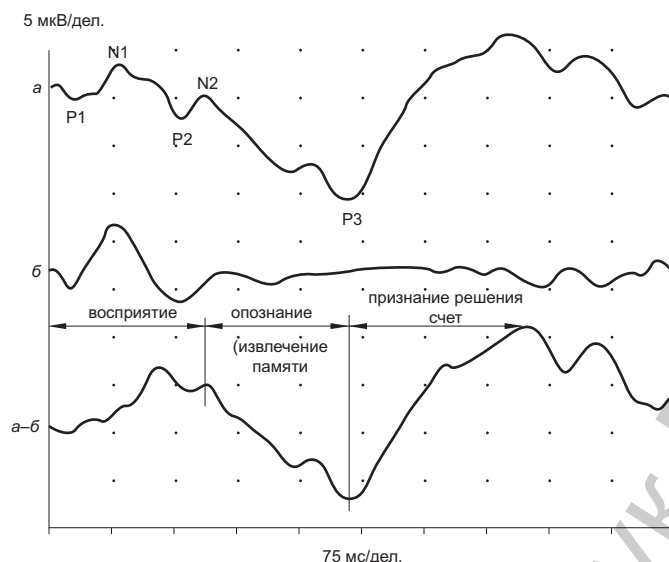


Рис. 2. Выделение когнитивной составляющей ответа: *а* – ответ в условиях опознания значимого стимула у здорового испытуемого (45 лет): P1-N1-P2 – собственно ответ на стимул (V-волна), N2 – 170 мс, P3 (300) – 357 мс; *б* – ответ на тот же стимул без его опознания (V-волна); *в* – разность между ответами в условиях его распознавания и ответов на этот стимул без распознавания. Когнитивная составляющая. Восприятие – 76 мс, опознание и дифференцировка (N2) – 170 мс, принятие решения и запоминание (P3) – 354 мс

ем и дифференцировкой стимула, а компонент P300 – с принятием решения и запоминания. Для сопоставления выделяют КВП на значимый и незначимый стимулы. Ответ на незначимый стимул представляет длиннотентный слуховой ВП с характерной V-волной, с параметрами N90–P150. В ответ на значимый стимул проявляется ответ на воспринимаемый стимул (стимульный ответ), представляющий V-волну P1-N1-P2 и более позднюю волну N2-P3-N3. Таким образом, формируется комплекс, связанный с опознанием, дифференцировкой, запоминанием и принятием решения, т. е. с когнитивной составляющей ответа на значимый стимул. Разность между ответом на значимый и ответом на незначимый стимул дает когнитивную составляющую ВП (рис. 2).

В формировании КВП P300, по мнению разных авторов, участвуют многие структуры мозга [1, 2, 7, 8]. Некоторые исследователи поддерживают предположение о том, что волна P300 отражает функцию центральных систем, связанных с «сознательным восприятием» [7, 9]. Потенциал P300 формируется в гиппокампе, миндалевидном комплексе, различных подкорковых структурах. J. D. Kropotov и V. A. Ponomarev [10] предполагают, что вентролатеральные ядра таламуса и бледный шар являются элементами системы, вовлеченной в когнитивные процессы. Начальную фазу (N2) связывают с опознанием стимула в височной области с одновременным подключением ассоциативных теменных долей. Более поздний компонент комплекса P300 формируется с участием лобных долей, так как в них происходит окончательное распознавание стимула и принятие решения. Это выявлено в результате картирования и трехмерной локализации источников P300 по данным анализа электрических и магнитных сигналов [8].

Интерпретацию результатов обследования P300 проводят путем анализа ответов на значимые и незначимые стимулы, хотя больший интерес вызывают ответы на значимые стимулы, где присутствует волна P300. Для правильного выделения пиков ответы на значимый стимул сравнивают с ответами на незначимый стимул. В КВП-ответе на значимый стимул выделяют следующие пики: ранний – P1-N1-P2 и поздний – собственно когнитивный комплекс N2-P3(P300)-N3. Пик P3 может состоять из двух подпиков: P3а и P3в. Проводят измерение латентности (мс) и амплитуды (мкВ) пиков N2 и P3, межпиковой латентности N2-P3 и длительности волны P3 (N2-N3) обоих полушарий [1–3, 7]. Анализ соотношения латентность P300/амплитуда P300 позволяет повысить информативность методики КВП P300 [3]. По латентному периоду и величине волны P300 косвенно судят о характере и степени активности определенных участков коры головного мозга, что делает регистрацию волны P300 одним из важных методов исследования нейрофизио-

логии человека, а именно – чувствительным индикатором пространственно-временных параметров корковой активности, связанных с поздними когнитивными стадиями процесса обработки информации [7].

Влияние различных факторов на выделение КВП Р300. На формирование КВП влияет ряд факторов, и в случае отсутствия ответа возникают проблемы с интерпретацией. В большинстве случаев увеличение количества усреднений, как правило, не приводит к улучшению качества сигнала. Это обусловлено привыканием, утомлением, эмоциональной настроенностью испытуемого, его мотивацией. В таких случаях амплитуда Р300 ведет себя более сложным образом при увеличении числа усреднений. Зачастую при первых 10 усреднениях ответ четко выделяется в области Р300, а после 30 усреднений качество сигнала ухудшается. Это связано с нестабильностью ответов, привыканием и, соответственно, со снижением амплитуды и ухудшением разрешения даже при увеличении числа усреднений. Поэтому, согласно рекомендациям ряда исследователей [2, 3], оптимальным является 20 усреднений. Число усреднений не является фиксированной величиной и зависит от качества сигнала, особенно в случае с Р300. Если при исследовании ответ хорошо выделяется из фона, то, несмотря на выбранное число усреднений, их можно сократить.

Формирование поздних вызванных ответов (волны Р300) зависит от множества факторов, определяющих когнитивную деятельность в данный отрезок времени. Из биологических переменных наиболее значительное влияние на параметры Р300 оказывают возраст, типология личности, уровень развития памяти испытуемого, фаза бодрствования (дремота, сон). Так, например, у экстравертов амплитуда Р300 оказывается значительно выше, чем у интровертов [2]. Отмечают четкую зависимость параметров Р300 от возраста, на основании которой строятся специальные «кривые старения». Обнаружено, что кривая латентности волны Р300 имеет сложную зависимость. В подростковом и юношеском возрасте параметр латентности Р300 имеет тенденцию к уменьшению, отражая процессы миелинизации и когнитивного развития [1]. Затем начинается собственно «кривая старения», когда с середины третьего десятилетия жизни происходит увеличение латентности со скоростью 1,25 мс в год, а амплитуда уменьшается со скоростью 0,09 мкВ в год [1]. Это отражает инволютивный процесс в организме человека. D. Goodin с соавт. [11] приводит данные для 47 здоровых испытуемых в возрасте от 16 до 76 лет (см. таблицу). Кривая старения для группы здоровых лиц выглядит следующим образом: ЛП Р300 = (1,25 · возраст (годы)) + 285; амплитуда Р300 = 11,9 мкВ – (0,09 · возраст) [2]. Описано влияние пола на скорость изменения латентностей Р300. Отмечается более выраженное удлинение латентных периодов Р300 с возрастом у мужчин по сравнению с женщинами [7]. Параметры латентности Р300 тесным образом связаны с когнитивными функциями, особенно с оперативной памятью, мышлением, в меньшей степени – с вниманием. Повышение уровня внимания способствует увеличению амплитуды ответов. Выявлено, что степень удлинения латентности коррелирует с выраженностью когнитивных нарушений [2, 7, 12]. При легких КН латентный период увеличивается на 15–30% (по сравнению с возрастной нормой). По данным исследований М. Molares-Rodriguez [12], у пациентов с болезнью Альцгеймера чувствительность латентного периода Р300 составляет 100%.

Зависимость показателей Р300 от возраста

Параметр	Значение (сигма)	Изменение с возрастом (в год)
<i>Латентность, мс</i>		
N1	94 (8)	0,13
P2	168 (19)	0,74
P3	310 (21)	1,64
<i>Амплитуда, мкВ</i>		
N1/P2	8,6 (5,56)	–0,15
P3	14,9 (5,84)	–0,18

Критерии клинически значимых отклонений КВП Р300. Критериями клинически значимых отклонений Р300 являются количественные и качественные изменения в характере ответа –

изменение формы ответа, нестабильность при его выделении, повышение или понижение амплитуды в первой и второй серии усреднения. По данным В. В. Гнездицкого и соавт. [2], P300 может считаться патологическим в следующих случаях:

1. «Нулевой ответ» с отсутствием целого ответа при сохранении ответа на незначимый стимул. Это может быть результатом технических погрешностей, физиологических особенностей в виде игнорирования стимула. В этом случае проводят повторные исследования с предварительной тренировкой пациента, применяя облегченный вариант с выделением ответа в условиях пассивного восприятия (нажатие кнопки на каждый значимый стимул). Наличие нулевого ответа, которое может указывать на отсутствие опознания нужного стимула и на отсутствие возможности его направленного удержания, может встречаться при выраженной деменции и резком снижении объема памяти.

2. Наличие пика N2 и отсутствие или нестабильность пика P3. В данном случае трудно определить латентность P300, поэтому приходится повторять выделение ответа с большей постоянной времени и большей эпохой анализа из-за затянутой формы ответа. Это указывает на то, что процессы опознания и дифференцировки происходят, но страдают оперативная память и процесс направленного внимания.

3. Феномен «вработывания». В норме на первое усреднение ответ выше по амплитуде, при последующей серии ответ снижается на 20%, а значения латентности сохраняются. В случае патологии при повторных сериях усреднений амплитуда P300 и стабильность его выделения выше, чем при первом обследовании (процесс «вработывания» в задачу). Это может указывать на снижение процессов активации.

4. Удлинение латентности P3 больше 3σ для показателей условной возрастной нормы. Это происходит за счет нарушения процессов опознания и дифференцировки, а также за счет снижения объема оперативной памяти.

5. Снижение амплитуды P3 больше 3σ для значений своего возраста. Данные изменения могут быть обусловлены психофизиологическими факторами (отвлекаемостью); более типично, если данные изменения сопровождаются удлинением латентности, что может свидетельствовать о снижении объема оперативной памяти.

Особенности P300 в оценке когнитивных нарушений при различных заболеваниях. P300 при болезни Паркинсона (БП) и симптоматическом паркинсонизме. Формирование нейропсихологических нарушений у пациентов с БП связано с поражением нескольких подкорково-лобных систем. Когнитивные расстройства, как и двигательные нарушения, обусловлены дегенерацией нигростриарных нейронов и уменьшением содержания дофамина в стриатуме. Это приводит к дисфункции проходящих через него кортико-паллидо-таламо-фронтальных кругов, которые обеспечивают активацию необходимых корковых программ. Дегенерация нейронов вентральной части покрышки приводит к нарушению функционирования мезолимбического дофаминэргического пути, который связывает средний мозг с филогенетически более старыми ядерными образованиями переднего мозга и вентральной областью стриатума и лобной коры, и вносит вклад в развитие когнитивного дефицита.

P300 чувствителен к изменениям в дофаминэргической и холинергической системах при БП. Н. Н. Коберской и соавт. [13] обнаружено, что пациенты с БП отличаются от здоровых испытуемых более длинным латентным периодом P300 на вербальные стимулы в левой теменной области и на невербальные в правой лобной и теменной областях. Кроме того, авторами зарегистрировано снижение амплитуды в ответ на вербальные стимулы в обоих теменных отведениях и отсутствие асимметрии амплитуды P300 на невербальный стимул в теменных и лобных отведениях. Эти данные говорят о том, что у пациентов с БП даже при отсутствии деменции имеется дефект когнитивной обработки информации по типу замедления и снижения уровня направленной активации в системе правого полушария, специализированного на обработке образно-пространственных знаков. При этом изменения в теменной области в ответ на вербальный стимул характеризуют дефицит активности, в то время как утрата асимметрии на невербальный стимул в лобных отведениях происходит за счет растормаживания с нарастанием амплитуды P300. В норме асимметрия P300 при предъявлении вербального стимула в лобных отделах с максимумом

мом амплитуды в левой лобной доле соответствует связанным с этой областью исполнительным функциям и процессам принятия решения, тогда как утрата асимметрии отражает дефицит этих функций. Рядом исследователей установлена зависимость параметров потенциала Р300 от длительности и тяжести БП. По данным J. Green [8], амплитуда Р300 аномально увеличена у пациентов с БП на ранних стадиях заболевания до лечения противопаркинсоническими препаратами по сравнению со здоровыми лицами аналогичного возраста группы контроля, что объяснялось автором вовлечением более значительных ресурсов внимания для качественного выполнения задачи, так как пациентам с БП необходимо тем самым компенсировать имеющуюся неэффективность мозговых функций. Увеличение амплитуды Р300 в височных отведениях (при слуховой стимуляции) у пациентов с начальными стадиями БП может отражать повышение уровня мотивации. Увеличение латентных периодов и снижение амплитуд Р300, по данным Н. Н. Коберской [7, 13, 14], определялись чаще у длительно болеющих пациентов и при более тяжелых стадиях заболевания. Это подтверждает, что у пациентов с БП уже на ранних стадиях заболевания присутствует субклинический когнитивный дефицит.

Сравнение параметров Р300 при различных формах БП показало достоверно более короткие латентные периоды Р300 у пациентов с дрожательной формой БП по сравнению с пациентами с акинетико-ригидной и смешанной формами БП при выполнении простых и сложных проб. При смешанной форме БП латентные периоды были короче в простых пробах, чем у лиц с акинетико-ригидной формой заболевания, в то время как в сложных пробах достоверных различий между пациентами этих подгрупп не обнаружено. Это свидетельствует о наличии субклинических когнитивных нарушений, в результате которых пациентам со смешанной формой БП требуется больше времени для выполнения сложных проб. Сложная проба более чувствительна в обнаружении субклинических когнитивных нарушений при смешанной форме БП, выявляя ранние признаки снижения оперативной памяти [14].

Эффект противопаркинсонической терапии на когнитивные нарушения и на изменение параметров потенциала Р300 неоднозначен. Некоторые исследователи описывают удлинение латентности Р300 у пациентов с БП, получавших лечение противопаркинсоническими препаратами. У пациентов данной группы до назначения терапии параметры Р300 были в норме, а время реакции – увеличенным, но на фоне противопаркинсонического лечения было обнаружено удлинение латентных периодов Р300 и уменьшение времени реакции, что позволило исследователям предположить дофамининдуцированную диссоциацию между моторными когнитивными процессами при БП [14]. По мнению D. Prasher [15], моторные функции могут отражать состояние дофаминовых нейронов покрышки, в то время как усиленная дофаминовая стимуляция других структур мозга может оказывать неблагоприятное влияние на когнитивные процессы у пациентов с БП, получающих препараты леводопы. Другие исследователи получили обратные результаты о влиянии противопаркинсонических препаратов на латентность потенциала Р300. По данным S. Prabhakar, Н. Н. Коберской, R. Hayashi [9, 13, 16] и других авторов, леводопасодержащие препараты положительно влияют на латентные периоды Р300 у пациентов с БП (достоверные результаты в лобных отведениях при невербальной стимуляции), на лобные и мнестические функции, общую активацию психической деятельности.

Во многих исследованиях выявлена корреляция параметров потенциала Р300 с данными нейропсихологического тестирования. По данным J. Green [8], обнаружены значимые корреляции между амплитудой Р300 и нейропсихологическими изменениями. Так, повышение амплитуды Р300 сочеталось с улучшением показателей тестирования по шкале Векслера, функции счета, логической памяти. Оценивая в целом изменения Р300 у пациентов с БП без деменции, можно отметить снижение уровня направленной активации и частичный дефект осознанного опознания и дифференциации стимулов, в большей степени касающихся невербальных образно-пространственных познавательных процессов.

Крайне мало работ по исследованию потенциала Р300 при симптоматическом паркинсонизме у пациентов с прогрессирующим надъядерным параличом (ПНП), мультисистемной атрофией (МСА), деменцией с тельцем Леви (ДТЛ). При сравнении потенциала Р300 группы пациентов с БП с деменцией (БПД) и группы пациентов с ДТЛ выявлены некоторые количественные и ка-

чественные различия между этими группами [14]. У пациентов с ДТЛ по сравнению с группой лиц с БПД тяжесть изменений КВП Р300 нарастала. У пациентов с ДТЛ при невербальной стимуляции вне зависимости от сложности поставленной задачи отмечалось уменьшение амплитуды и увеличение латентности Р300 в лобных отведениях, что отличало этих пациентов от лиц с БПД и свидетельствовало о более грубой лобной дисфункции, особенно субдоминантного полушария. Изменения КВП Р300 у пациентов с ДТЛ качественно сходны с таковыми у дементных лиц с БПД, хотя они были более значительными – статистически достоверно увеличен латентный период, снижена амплитуда. У пациентов с ДТЛ в спектре нейропсихологических нарушений преобладали нейродинамические и регуляторные нарушения, которые были значительно более выражены, чем у пациентов с БПД, выявлялись отчетливые признаки дисфункции фронтальной коры. L. Wang и соавт. [17] исследовали и сравнили параметры Р300 и время реакции у пациентов с БП, ПНП, МСА и кортикобазальной дегенерацией (КБД). Выявлено, что амплитуда Р300 и время реакции являются важными параметрами в дифференциации БП и ПНП. Авторы утверждают, что снижение амплитуды Р300 на редкие значимые стимулы и удлинение времени реакции больного паркинсонизмом с длительностью заболевания менее 5 лет позволяет считать более вероятным диагноз ПНП. Результаты исследования Р300 на редкие незначимые стимулы при МСА сходны с таковыми при БП, но отличаются от таковых при ПНП и КБД.

Р300 при болезни Альцгеймера (БА). Одной из наиболее распространенных причин деменций во всем мире является БА. Предполагают, что, если не будет найдено действенного способа профилактики и лечения, к 2050 г. число пациентов с БА увеличится в 4 раза. В 1990 г. только в США было 4 млн пациентов с БА, и их число, как ожидается, к 2050 г. достигнет 14 млн [18]. В возрасте до 60 лет БА встречается менее чем в 1% популяции, а после 60 лет частота заболевания резко увеличивается, удваиваясь каждые 5 лет [19]. При БА выявлены изменения параметров потенциала Р300, связанные с нейропсихологическими нарушениями. По данным A. Fernandes-Lastra [20], чувствительность латентного периода Р300 при деменции альцгеймеровского типа составляет 77%, а специфичность параметра – 83%. Автор отмечает, что существует достоверная корреляция между степенью деменции и параметром удлинения латентности Р300. На ранних стадиях изменения потенциала Р300 противоречивы. Ряд авторов обнаружили изменение параметров потенциала Р300 и считают данный показатель чувствительным маркером ранних изменений при БА [7]. Другие исследователи, напротив, не обнаружили различий параметров Р300 при БА по сравнению с аналогичными показателями у здоровых испытуемых. Это выявлялось при проведении простой пробы, но при необходимости удержания в памяти образа сложного стимула отмечалось значительное снижение амплитуды Р300. По мнению авторов, зависимость времени реакции и степени падения амплитуды Р300 зависит от информационной нагрузки и свидетельствует о связи нарушений поведения с информационными процессами [7]. L. Holt [21] при изучении распределения амплитуды Р300 у пациентов с БА обнаружил максимальные значения амплитуд Р300 над лобными областями и значительное снижение амплитуды над теменными областями без межполушарных различий, в то же время в контрольной группе здоровых лиц максимальные значения фиксировались в теменных областях. В нескольких исследованиях была выявлена значительная обратная корреляция между значением краткой шкалы оценки психического статуса и латентностью компонента Р300 [1].

Когнитивный вызванный потенциал в дифференциальной диагностике деменций. Деменция представляет собой приобретенный вследствие органического поражения головного мозга клинический синдром, проявляющийся нарушением абстрактного мышления, дефектами памяти, изменением в интеллектуальной сфере, нарушением речи, изменением критики к своему состоянию, нарушением других когнитивных функций, что приводит к социальной и бытовой дезадаптации. Причины развития деменции различны: первичная дегенеративная деменция (БА, болезнь Пика, ДТЛ); вторичная деменция при дегенеративных заболеваниях (хорея Гентингтона, БП, атаксия Фридрейх, болезнь Фара, болезнь Вильсона–Коновалова); сосудистая деменция (инфаркт мозга, болезнь Бинсвангера, смешанные субкортикальные и кортикальные инфаркты, ангиопатии сосудов головного мозга); вторичная деменция вследствие интоксикации (алкоголизм); при неврологических заболеваниях (опухоль, травмы головного мозга, СПИД-деменция,

токсоплазмоз, болезнь Крейтцфельда–Якоби, эпилепсия, рассеянный склероз); вторичная деменция на фоне дефицита витамина В₁₂ и фолиевой кислоты, гипо- или гипертиреоза, гипогликемических состояний, хронической почечной и печеночной недостаточности, электролитных нарушений [3].

Предпринимались неоднократные попытки по использованию КВП в дифференциальной диагностике БА и других типов деменции [2, 3, 7]. Исследователи обнаруживали незначительные различия либо латентных периодов, либо амплитуды P300. J. Polish [22] описывал сопоставимые удлинения латентного периода P300 при БА и сосудистой деменции. Автором выявлено, что удлинение латентности P300 позволяет дифференцировать ранние стадии БА, но измерения параметров P300 недостаточно для установления причины деменции.

Большинство значений показателей латентности P300 у пациентов с деменцией выходит за диапазон значений $2,5\sigma$ условной возрастной нормы [2]. D. Goodin [11], используя анализ ранних и поздних компонентов КВП P300, в своем исследовании разделил корковую и подкорковую деменции. Сосудистую деменцию автор классифицировал как подкорковую, которая возникает вследствие поражения в подкорковом белом веществе. В таком случае изучение ранних компонентов может быть достаточным для дифференциального диагноза БА и сосудистой деменции. В других исследованиях пациенты с БА и сосудистой деменцией имели сопоставимые изменения ранних (N100) компонентов, что может быть объяснено вовлечением подкорковых образований в патологический процесс на определенных стадиях БА.

Средние значения параметров для латентности у пациентов и в норме (с учетом возрастного индекса) составляли для когнитивных нарушений коркового типа 484 ± 42 мс при норме 334 ± 26 мс; для нарушений подкоркового типа – 398 ± 27 мс при норме 352 ± 25 мс. Средние значения по амплитуде составили 11 ± 3 мкВ в норме, $3,1 \pm 2,3$ и $4,3 \pm 3,8$ мкВ при корковом и подкорковом типах деменции соответственно [2, 3]. Степень удлинения латентности соответствовала степени выраженности когнитивных нарушений. При легких и умеренных КН коркового типа латентность увеличивалась на 10–15% (относительно возрастной нормы), при подкорковом типе нарушений латентность соответствовала или незначительно превышала нормальные значения, т. е. уже на преклинической стадии деменции отмечалось увеличение латентности P300 в сравнении с соответствующей группой в норме [2, 3]. При выраженных КН латентность увеличивалась в среднем на 56,0 и 38,5% соответственно. При корковом типе поражения отмечалось более значительное удлинение латентности и снижение амплитуды P300, особенно в группе пациентов с выраженной формой деменции. С целью дифференциальной диагностики коркового и подкоркового типа деменции авторы предлагают использовать показатель соотношения латентного периода и амплитуды P300 (ЛП P300/амплитуда P300), отражающий выраженность когнитивных расстройств [3]. Например, при умеренной и выраженной деменции этот показатель соответственно составлял при подкорковой деменции 111 и 184 мс/мкВ, в то время как при корковой – 204 и 485 мс/мкВ. При изучении топографии изменений КВП P300 исследователи обнаружили преимущественное замедление латентного периода N200 в теменных отведениях у пациентов с БА и в лобных отведениях у пациентов с сосудистой деменцией [7].

Изменения потенциала P300 при сосудистых заболеваниях головного мозга. Когнитивные нарушения являются одним из проявлений сосудистых поражений головного мозга. Выявление у пациентов с церебральным атеросклерозом субклинических КН можно использовать для определения повышенного риска развития сосудистой деменции. Удлинение латентного периода P300 на 20–58 мс высоко коррелирует с показателями нейропсихологического тестирования, степенью расширения желудочков, тяжестью перивентрикулярного лейкоореоза [7]. При обследовании здоровых пожилых людей было выявлено, что при обнаружении на МРТ головного мозга «молчащих» лакунарных очагов степень выраженности лейкоореоза в лобных долях повышалась с возрастом, но не совпадала с параметрами потенциала P300, коррелируя со степенью артериальной гипертензии [7].

Инфаркты головного мозга (ИГМ), поражающие значительные участки коры, подкорковые структуры (лакунарные инфаркты) и функционально значимые зоны, могут приводить к развитию расстройств высших корковых функций и последующей деменции, которые трудно распо-

знаются на доклинической стадии заболевания [2]. Когнитивные расстройства нередко замедляют и ухудшают восстановление утраченных функций после перенесенных ИГМ. Поэтому исследование КВП Р300 приобретает особую ценность для выявления ранних КН. В. В. Евстигнеев и О. В. Кистень [3] выявили, что до начала восстановительной терапии при ИГМ отмечались патологические изменения параметров Р300 обоих полушарий в виде снижения уровня целенаправленного внимания, повышенной отвлекаемости, частичного нарушения осознанного опознавания и дифференциации стимулов, а также наличие феномена «вработывания» у обследуемых пациентов. У 29,4% пациентов в раннем и у 37,1% пациентов в позднем восстановительном периоде имела место доклиническая стадия КН. Латентность Р300 была увеличена в меньшей степени при преимущественно подкорковом расположении очагов и в большей степени при наличии инфаркта в коре головного мозга, что соответствовало доклинической стадии КН. Имеет значение исследование Р300 в динамике или в процессе лечения для оценки эффективности применяемой терапии с целью коррекции когнитивных расстройств, что подтверждено результатами исследований ряда авторов [3, 13]. А. Чарвей и Н. Н. Коберская [23] показали, что у пациентов с БА было выявлено преимущественное снижение значений амплитуды Р300 равномерно во всех отведениях и удлинение латентного периода КВП при невербальной стимуляции по сравнению с вербальной. В то же время у пациентов с умеренными когнитивными расстройствами (УКР) было обнаружено увеличение пика N2 при усложнении вербальной когнитивной задачи, в чем проявляется определенная зависимость потенциала от познавательной содержательности выполняемой задачи. Пациенты с УКР имели более низкие амплитуды и увеличенные латентные периоды в теменных отведениях по сравнению с нормой, что позволило авторам предположить возможное последующее развитие УКР в БА [23]. Д. П. Гарин и И. Е. Повереннова при исследовании КВП Р300 у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией выявили ранние изменения параметров компонентов Р300, даже когда показатели нейропсихологических шкал еще находились в пределах нормативных значений [24].

При исследовании КВП Р300 у пациентов с церебральным атеросклерозом было установлено, что обратимый субклинический дефицит имеет место даже у недементных пациентов с асимптомным церебральным атеросклерозом и такие факторы, как объем, количество, локализация церебральных инфарктов, могут иметь значение при нарушениях мозговых функций у недементных пациентов с цереброваскулярными заболеваниями [2]. А. А. Пашков и соавт. [25] провели исследование КВП Р300 у пациентов, перенесших реконструктивные операции на сонных артериях по поводу стенозирующего атеросклероза. Проведенное исследование показало, что у пациентов исходные показатели Р300 до операции отражали снижение скорости нейрофизиологических процессов, связанных с когнитивной оценкой сигналов, изменение межполушарного, корково-подкоркового взаимодействия, а в ранний послеоперационный период – отсутствие положительной динамики параметров КВП, что было объяснено явлениями, связанными с постреструктивной реперфузией мозга. Таким образом, легкий когнитивный дефицит может свидетельствовать о развитии сосудистой деменции в будущем, поэтому пациенты с каротидными стенозами, особенно те, у которых в пожилом возрасте отмечается церебральный атеросклероз, должны проходить более полное обследование.

Когнитивный вызванный потенциал Р300 и метаболические нарушения. Когнитивные расстройства могут развиваться вследствие дисметаболических изменений с нарушением нейромедиаторного обмена и поражением структур головного мозга, участвующих в генерации вызванной активности. Это может привести к изменению амплитуды и латентности КВП Р300. Острые и хронические поражения печени часто сопровождаются развитием комплекса потенциально обратимых неврологических и нейропсихологических нарушений в виде нарушения уровня сознания, интеллектуально-мнестической, нервно-мышечной деятельности пациентов, основными признаками которых являются изменения личности, расстройства интеллекта и речи, развитие тревожно-депрессивных расстройств, деменция, нарушения сознания и сна. Данный симптомокомплекс принято называть печеночной энцефалопатией (ПЭ). По данным авторов, только у 40–46% пациентов с циррозом печени развиваются выраженные клинические признаки неврологических и психических нарушений, а у 70–76% – латентная форма течения ПЭ [2, 26].

Для диагностики ПЭ используются не только традиционные нейропсихологические и психометрические тесты, но и различные нейрофизиологические методы, в том числе методика КВП Р300, поскольку другие методы (клинические, биохимические) не дают полной картины функциональных изменений центральной нервной системы. Данные исследований при ПЭ противоречивы. Одни авторы считают ВП более чувствительным методом при данной патологии и отдают предпочтение использованию корковых длиннолатентных видов ВП: зрительному, соматосенсорному; потенциалу, связанному с событием (Р300) [27, 28]. В других исследованиях авторы не обнаруживают достоверных изменений параметров ВП [26]. Считается, что наиболее чувствительным методом среди длиннолатентных ВП является потенциал, связанный с событием (КВП Р300), особенно при латентной печеночной недостаточности [29]. По данным И. Ю. Березина и соавт. [26], у пациентов с латентной формой ПЭ при анализе компонентов ВП Р300 отмечалось удлинение пиковой латентности (ЛП) как ранних, так и поздних компонентов во всех отведениях с преобладанием амплитуды справа по сравнению с контрольной группой здоровых лиц. При этом необходимо отметить, что клиническое подтверждение диагноза ПЭ отсутствовало или имелись единичные клинические симптомы. Чувствительность метода КВП Р300 в выявлении латентной формы ПЭ составляла 78%. Наиболее отчетливые изменения выявлялись при анализе поздней компоненты Р300 с максимальным удлинением ЛП в лобно-центрально-теменных отведениях с преобладанием амплитуды в левом полушарии. В то же время у пациентов с ПЭ I–II стадии признаки удлинения ЛП Р300 и снижения амплитуды как ранних, так и поздних компонент носили более выраженный характер по сравнению с латентной формой ПЭ. Таким образом, можно отметить, что у пациентов с ПЭ отмечаются нарушения, связанные с процессами дифференцировки сигнала и принятия решения, т. е. с такими когнитивными функциями, как восприятие, внимание, память и принятие решения.

Перспективно использование методики Р300 в выявлении когнитивных расстройств на субклинической стадии при патологии щитовидной железы (гипотиреоза и тиреотоксикоза). Исследования в этой области единичны и касаются преимущественно психоэмоциональной сферы. М. С. Сапронов, О. О. Масалова [30] отмечают, что гипоталамо-гипофизарно-тиреоидная система играет важную роль в регуляции когнитивных функций. В настоящее время проводится ряд исследований по изучению участия тиреоидных гормонов в механизмах формирования БА при дисфункции щитовидной железы. Тиреоидные гормоны могут оказывать влияние и на пострецепторном уровне, изменяя экспрессию гуанин-нуклеотид-связывающего белка гена и регулируя синтез данного протеина, изменяя уровень аденилатциклазной активности – все это влияет на скорость передачи сигнала [31]. Эти патогенетические механизмы со временем приводят к возникновению когнитивных нарушений. По нашим данным [32], у пациентов с гипотиреозом выявлены признаки легких и умеренных когнитивных расстройств. При исследовании КВП Р300 у пациентов данной группы обнаружены патологические изменения параметров (латентности, амплитуды) Р300 выше возрастной нормы, что отражало нарушения когнитивных функций в виде снижения объема оперативной памяти и целенаправленного внимания, и наличие феномена «вработывания».

Вызванный потенциал Р300 и демиелинизирующие заболевания нервной системы. Поражения ЦНС, обусловленные деструкцией нормального миелина и олигодендроглии, приводят к развитию рассеянного склероза (РС). До настоящего времени нейрофизиологическое обследование пациентов с РС в большинстве случаев ограничивается исследованием коротколатентных (слухового и соматосенсорного) вызванных потенциалов и применяемых значительно реже длиннолатентных зрительных ВП [2, 33]. Выявленное замедление проведения сигнала по нервному волокну является лишь дополнительным подтверждением уже установленного на основании клинических проявлений и специфических признаков на МРТ головного мозга наличия у пациента демиелинизирующего процесса. Но данные этих исследований малоинформативны в изучении интегративных механизмов головного мозга, лежащих в основе психической деятельности, что объясняет возможности более широкого использования при РС КВП Р300. По данным исследований Л. И. Сумского, И. Ю. Березина и соавт. [33], у пациентов с РС выявлялись признаки удлинения времени латентного периода компонента Р300, затрагивающие процессы

принятия решения и оперативную память на события. Удлинение времени латентного периода P300 у пациентов с первично-прогрессирующим течением заболевания авторы объясняли нарушением процессов принятия решения и счета под воздействием диффузной аксональной патологии, а у пациентов с вторично-прогрессирующим течением РС – более выраженным очаговым демиелинизирующим и атрофическим поражением центральной нервной системы. В то же время интактность времени возникновения компонента N200 авторы рассматривали как определенную сохранность когнитивных процессов, связанных с дифференцировкой и опознанием значимого сигнала. В. М. Алифирова и Н. Ф. Мусина [34] отмечают, что в группе с вторично-прогрессирующим течением РС регистрируются более выраженные изменения показателей амплитуды и латентности P300 по сравнению с группой пациентов с ремитирующим течением заболевания.

Таким образом, метод КВП P300 может быть использован для диагностики когнитивных нарушений при широком спектре неврологических заболеваний. Особое значение приобретает эта методика для оценки эффективности применяемой терапии, прогнозирования течения заболевания, объективной оценки степени когнитивных расстройств. Применение современных методов диагностики КН и, в частности, КВП P300, позволяет начать своевременную терапию для коррекции этих нарушений. Это позволит улучшить качество жизни пациентов, продлив время их активной жизнедеятельности, а также снизить экономические и социальные затраты государства и родственников на лечение и уход за такими пациентами.

Литература

1. Алешина Е. Д., Коберская Н. Н., Дамулин И. В. // Журн. неврол. и психиатр. 2009. № 8. С. 77–84.
2. Гнездицкий В. В. Вызванные потенциалы мозга. М., 2003. – 246 с.
3. Евстигнеев В. В. [и др.] Когнитивные нарушения в неврологической практике: науч.-практ. пособие / Под ред. проф. В. В. Евстигнеева. Минск, 2009. – 224 с.
4. Кропотов Ю. Д. Количественная ЭЭГ, когнитивные вызванные потенциалы мозга человека и нейротерапия. СПб., 2010. – 512 с.
5. Мякотных В. С., Матвейчук Н. В., Таланкина Н. З. // Вестн. Уральской мед. акад. науки. 2008. № 3. С. 45–49.
6. Михалюк Р. А. Когнитивные нарушения у пожилых: учеб.-метод. пособие. Минск, 2010. – 32 с.
7. Коберская Н. Н. // Неврол. журн. 2003. № 6. С. 34–41.
8. Green J., Woodard J. L. et al. // Mov. Disord. 1996. Vol. 11, N 1. P. 32–42.
9. Prabhakar S. // Neurol. India. 2000. Vol. 48, N 3. P. 239–242.
10. Kropotov A. D., Ponomarev V. A. // Electroenceph. Clin. Neurophysiol. Biol. 1991. Vol. 78, P. 40–49.
11. Goodin D. S. et al. // Ann. Neurol. 1987. Vol. 21, P. 90–94.
12. Molares-Rodriguez M., Fernandez-Lastra A., Penzol-Diaz J. // Rev. Neurol. 2001. Vol. 32, N 6. P. 525–528.
13. Коберская Н. Н., Зенков Л. Р., Яхно Н. Н. // Журн. неврол. и психиатр. 2003. № 8. С. 42–49.
14. Коберская Н. Н., Зенков Л. Р., Захаров В. В., Преображенская И. С. // Неврол. журн. 2006. Т. 11, № 1. С. 26–31.
15. Prasher D. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 1991. Vol. 54, N 7. P. 603–609.
16. Hayashi R., Hanyu N., Shindo M. et al. // J. Neurol. Sci. 1996. Vol. 141, N 1–2. P. 45–48.
17. Wang. L., Kuroiwa T., Kamitani T. et al. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 1999. Vol. 67, N 4. P. 497–503.
18. Дамулин И. В. Легкие когнитивные нарушения: метод. пособие для врачей. М., 2004. – 35 с.
19. Policar R., Topalis A., Green D. // Comput. Biol. Med. 2007. Vol. 37. P. 542–558.
20. Fernandez-Lastra A. // Rev. Neurol. 2001. Vol. 31. P. 525–528.
21. Holt L. E. // Psychophysiology. 1995. Vol. 32, N 3. P. 257–265.
22. Polish J., Alexander J. E., Bauer L. O. // Brain Topogr. 1997. Vol. 9, N 4. P. 275–282.
23. Чарвей А., Коберская Н. Н. // Неврол. журн. 2006. Т. 11, № 1. С. 64–70.
24. Гарин Д. П., Повереннова И. Е. // Саратов. науч.-мед. журн. 2008. № 2. С. 86–90.
25. Пашков А. А., Сапего И. А., Лукомский И. В., Делендик И. М. // Актуальные проблемы медицины: сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 18-й итог. науч. сессии Гомельского гос. мед. ун-та, Гомель, 26–27 февраля 2009 г. Гомель, 2009. Т. 3. С. 161–164.
26. Березина И. Ю., Кукова Н. С., Сумский Л. И. // Функци. диагностика. 2008. № 4. С. 47–53.
27. Гнездицкий В. В., Федин П. А., Полецук В. В. // Журн. неврол. и психиатр. 2000. № 2. С. 31–35.
28. Davies M. G., Rowan M. J., MacMathuna P. et al. // Hepatology. 1990. Vol. 12, N 4. Pt 1. P. 688–694.
29. Ciecko-Michalska I., Senderecka M., Szewczyk J. et al. // Adv. Med. Sci. 2006. Vol. 51. P. 273–277.
30. Сапронов Н. С., Масалова О. О. // Психофарм. биол. наркол. 2007. Т. 7, № 2. С. 1533–1541.
31. Данилова Л. И. Болезни щитовидной железы и ассоциированные с ними заболевания. Минск; Нагасаки, 2005. – 470 с.

32. Пономарев В. В., Жарикова А. В. // Актуальные вопросы клинической неврологии и нейрохирургии: материалы Респ. конф. с междунар. участием, посвящ. 50-летию кафедры неврологии УО «ГрГМУ», Гродно, 16 июня 2011 г. Гродно, 2011. С. 98–102.

33. Сумский Л. И., Березина И. Ю., Рабжа Ю. Л., Бойко А. Н. // Функциональная диагностика. 2007. № 3. С. 81–85.

34. Алифирова В. М., Мусина Н. Ф. // Неврол. вестн. 2010. Т. XLII. Вып. 1. С. 28–31.

A. V. ZHARIKOVA, V. V. PONOMAREV

**INDICATIONS FOR USE OF COGNITIVE EVOKE POTENTIAL P300
IN CLINICAL PRACTICE**

Summary

The review of the literature on a technique and clinical value cognitive evoked potential P300 is presented. Indications for use of this technique for the purpose of diagnostics of cognitive disturbances in various neurological diseases are discussed.

Национальная академия наук Беларуси

УДК 616.89-008.441.33:615.212.7-099]-074

А. М. ТУРЦЕВИЧ¹, Д. С. СТАТКЕВИЧ², А. М. ЧУБУКОВ¹, В. С. КАМЫШНИКОВ²,
И. Д. ШИЛЕЙКО²

ОБОСНОВАНИЕ НЕОБХОДИМОСТИ КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЙ ДИАГНОСТИКИ НАРКОТИЧЕСКОГО ОПЬЯНЕНИЯ, ВЫЗВАННОГО КАННАБИСОМ

¹Городской клинический наркологический диспансер, Минск, Беларусь,
²Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

(Поступила в редакцию 09.11.2011)

Введение. На протяжении последних десятилетий отмечается увеличение распространенности злоупотреблений психоактивными веществами (ПАВ). По оценкам Управления по наркотикам и преступности ООН, во всем мире по меньшей мере один раз запрещенные вещества употребляли от 3,5 до 5,7% населения в возрасте от 15 до 64 лет [1]. Наиболее популярными наркотическими средствами являются продукты переработки дикорастущей конопли (*Cannabis Sativa*). Получаемые из этого растения наркотики по массовости применения уступают только алкоголю. Показатель общемировой годовой распространенности потребления каннабиса в возрастной группе от 15 до 64 лет составляет от 2,9 до 4,3% (129–190 млн человек) [1]. В Беларуси в 2003 г. данный показатель составлял, по приблизительным оценкам, 2,6%. В г. Минске ежегодно выявляются случаи злоупотребления каннабисом, удельный вес которого в общей структуре обнаруживаемых наркотических средств в последние 5 лет варьируется в пределах от 5 до 30% [2].

Действующим началом наркотических средств на основе растения *Cannabis* являются каннабиноиды – группа биологически активных веществ, близких к стероидам структуры, основными представителями которых являются дельта-8- и дельта-9-тетрагидроканнабинол (ТГК). Спектр фармакологических эффектов ТГК включает обезболивание, снижение спонтанной двигательной активности, каталепсию, гипотермию [3]. В зависимости от способов изготовления наркотического средства процентное содержание ТГК в нем может быть разным, но именно оно определяет силу наркотического действия.

Наиболее распространенными формами нелегального употребления каннабиноидов являются: марихуана – высушенная и измельченная верхняя часть растения с листьями и цветками, содержащая до 10–15% ТГК; гашиш – высушенная смола, выделяющаяся из цветущих верхушек, содержание ТГК в которой колеблется в пределах 2–10%; гашишное масло – концентрированный экстракт растительного материала или смолы с уровнем содержания от 10 до 60% ТГК [4].

Интенсивность эффектов от приема продуктов *Cannabis* зависит не только от содержания в них ТГК, но и от способов употребления, основным из которых является курение. Вдыхание дыма приводит к наиболее быстрой и эффективной абсорбции ТГК в легких. Проявление воздействия ТГК при таком способе употребления начинается уже через считанные минуты и достигает пика через 5–30 мин, а продолжительность эффекта действия наркотика составляет 2–4 ч. При пероральном приеме каннабиноиды абсорбируются гораздо медленнее, максимальный эффект развивается в течение 45–60 мин, а его длительность составляет 4–6 ч. Установлено, что для достижения одного и того же эффекта доза наркотика, принимаемого внутрь, должна быть в 3 раза большей, чем при курении [4, 5].

Несмотря на наличие достаточного количества фактов, свидетельствующих о негативных последствиях употребления каннабиса, в обществе продолжает сохраняться ошибочное мнение о безопасности его использования и отсутствии привыкания. Каннабиноиды зачастую относят к классу «легких» наркотиков, в отличие от «тяжелых», например опиатов. В последние годы отношение общества к проблеме злоупотребления продуктами *Cannabis* стало меняться, миф об их безвредности постепенно рассеялся, и большинство исследователей утвердилось во мнении, что каннабиноиды, несмотря на их более низкую способность к формированию психической и физической зависимости, все-таки вызывают наркотическое пристрастие. Однако дискуссия о легализации препаратов из каннабиса в качестве «легкого» наркотика для наркозависимых продолжается до настоящего времени [3, 4].

Клиническая картина интоксикации. Проявления опьянения весьма разнообразны и зависят от дозы поступившего в организм ТГК, индивидуальных особенностей организма, способа введения наркотика и других факторов. Тем не менее, имеется ряд клинических признаков, наиболее характерных для употребления продуктов *Cannabis*. Оценка клинической картины состояния опьянения особенно важна в первые часы после курения, поскольку специфика распределения и метаболизма каннабиноидов позволяет детектировать их в моче лабораторными методами только по истечении 2 ч от момента употребления. Следует отметить, что максимальный срок их обнаружения в моче составляет до 7 сут [4].

И. Н. Пятницкая [6], описывая клиническую картину опьянения, вызванного курением гашиша, выделяет четыре последовательно протекающие стадии (при курении). *Первая стадия* начинается через 5–10 мин после употребления наркотика и длится такое же время. Характеризуется тревогой разной степени выраженности, повышенной пугливостью; расширением зрачков, покраснением лица, дрожью в руках. Возникает чувство сухости во рту, ощущаются тепло по всему телу, тяжесть в ногах. При переходе во *вторую фазу* возникает эйфория, нарастают расстройства восприятия: цвета воспринимаются необычно яркими, контуры предметов видятся четкими, контрастными или, наоборот, расплывчатыми. Имеют место расстройства мышления: не только по форме, но и по содержанию. Воспринимаются и перерабатываются лишь случайные внешние события, что свидетельствует о сужении сознания. В этой фазе отмечаются особый блеск глаз, учащение пульса, подъем артериального давления, оживление сухожильных рефлексов, шаткость походки, горизонтальный установочный нистагм. *Третья стадия* представляет собой, по сути, уже психотическое состояние со спутанностью, бессвязностью мышления и отрывочным бредом. Находящиеся в этой стадии внешне малоподвижны, отрешены от происходящего. Отмечаются разнообразные иллюзии, расстройства восприятия времени и собственного тела, насыщенность эмоций и их широкая гамма. Курильщик выглядит бледным, у него усиливается потливость, нарастают голод, жажда, снижается температура тела, продолжает повышаться артериальное давление. Для *четвертой фазы* – выхода из гашишного опьянения – характерны вялость, слабость, бледность, заторможенность, апатичность. При этом у человека появляются повышенный аппетит и постоянная жажда. Выход из гашишного опьянения сопровождается длительным (10–15 ч) беспокойным и поверхностным сном. После пробуждения сохраняются жажда, повышенный аппетит [7, 8]. Выраженность и последовательность развития отдельных симптомов имеют существенные индивидуальные отличия, но довольно постоянны у одного и того же лица при повторном употреблении гашиша.

При передозировке наркотика наблюдается резкое расширение зрачков, они перестают реагировать на свет; отмечаются гиперемия лица, сухость слизистых, хриплый голос, пульс учащается до 100–120 уд/мин, повышается артериальное давление. Возникает оглушенность, возможно развитие сопора, комы и коллапса. Может развиваться острый психоз, протекающий в форме делирия, сумеречного помрачения сознания [9].

Последствия длительного употребления продуктов *Cannabis* для различных систем организма достаточно серьезные. Каннабиноиды значительно ухудшают мыслительные способности, способность к пониманию, абстрактному мышлению, обучению. Снижается интеллект, происходит нарушение краткосрочной памяти. Длительное потребление каннабиноидов сопряжено с риском возникновения структурных и функциональных изменений головного мозга, что

может вызывать нарушение координации и увеличивать время реакции. Изменяется ответная реакция человека на световые и звуковые сигналы, ухудшается способность к выполнению последовательных операций. По данным Г. И. Каплана, Б. Дж. Сэдока (1994), хроническое потребление высоких доз гашиша обуславливает возникновение «амотивационного синдрома». Его симптомы включают апатию, отсутствие интересов, усталость и снижение целенаправленной деятельности [10]. Довольно часто при систематическом употреблении продуктов *Cannabis* встречаются гашишные психозы [8].

Соматические изменения выражаются в появлении миокардиодистрофии, экстрасистолии, гепатитов, атрофии печени, почечной недостаточности [9]. Последствия курения продуктов *Cannabis* на органы дыхания подобны эффектам табакокурения и проявляются бронхитами, фарингитами, синуситами, раком легких (канцерогены присутствуют в марихуане в большем количестве, чем в табаке) [5].

В настоящее время нет сомнений в том, что употребление каннабиноидов вызывает наркотическую зависимость. Привыкание наступает медленнее, чем к опиоидам, но быстрее, нежели к алкоголю. Для начальной стадии привыкания характерно эпизодическое, причем ситуационно обусловленное, употребление (2–3 раза в неделю). Постепенно толерантность может возрасти от 2–3 до 7–8 сигарет в течение суток. В этот период у большинства курильщиков возникает сильная психическая зависимость с выраженным патологическим влечением, быстрота развития которого находится в определенной связи с особенностями личности. Отмечены случаи формирования патологического влечения в течение первых 3–4 мес. [8]. Первые признаки физической зависимости с толерантностью и симптомами абстиненции развиваются, по наблюдениям И. Н. Пятницкой, спустя 2–3 года от начала систематического курения [6]. Марихуану называют «вводным» наркотиком, последствием приема которого часто является переход к более «тяжелым» наркотическим средствам. Марихуана побуждает потребителей к поиску новых наркотических переживаний, к рискованному поведению, а также к контактам с людьми, принимающими другие наркотики [5].

Метаболизм. Продукт переработки высушенного растения *Cannabis* – марихуана содержит около 400 действующих веществ, более 70 из которых составляют группу каннабиноидов. Основной компонент, ответственный за психоактивные свойства марихуаны, – транс-дельта-9-тетрагидроканнабинол (дельта-9-ТГК). Однако суммарный эффект действия определяется всеми активными каннабиноидами. Дельта-9-ТГК и его основные метаболиты, такие как 11-гидроксидельта-9-тетрагидроканнабинол, 11-нор-9-карбокси-дельта-9-тетрагидроканнабиноловая кислота, а также содержащиеся в растении каннабис минорные соединения (каннабинол, каннабидиол и др.) являются веществами, обнаружение которых в биологических жидкостях организма свидетельствует об употреблении марихуаны или других продуктов переработки *Cannabis* [4].

При поступлении в организм каннабиноиды распределяются и накапливаются в тканях, богатых липидами: мозге, легких, печени, почках, половых органах, клеточных мембранах, после чего постепенно возвращаются в систему кровообращения. Способность каннабиноидов к кумуляции в организме позволяет длительное время (до 7 сут после выкуривания одной сигареты) обнаруживать их в биологических жидкостях [4, 8].

Биотрансформация дельта-9 ТГК осуществляется преимущественно в печени путем быстрого окисления до конечного биологически неактивного продукта – 11-нор-9-карбокси-дельта-9-тетрагидроканнабиноловой кислоты (ТГК-СООН), которая является основным метаболитом ТГК. Всего установлено более 75 соединений – продуктов биотрансформации каннабиноидов, из которых биологической активностью обладают 11-ОН-ТГК и 8β-ОН-ТГК. Для эффективного выведения почками 75–80% гидроксильированных и карбоксилированных метаболитов конъюгируются с глюкуроновой и серной кислотами, превращаясь в более полярные, растворимые в воде соединения [4, 11].

Лабораторная диагностика. Особенности биотрансформации каннабиноидов вызывают определенные затруднения при проведении лабораторной диагностики злоупотреблений марихуаной и другими продуктами *Cannabis*. Это обусловлено высокой степенью связывания действующих веществ и их метаболитов с глюкуроновой кислотой. Традиционные способы подготовки

проб методом жидкость-жидкостной экстракции (ЖЖЭ) не позволяют изолировать каннабиноиды из биологических жидкостей, поэтому возникла необходимость оптимизации методов их выявления и разработки комплексной методики клинической и лабораторной диагностики состояний интоксикации, вызванных употреблением продуктов переработки *Cannabis*.

Предварительная идентификация играет важную роль при химико-токсикологическом исследовании каннабиноидов, поскольку позволяет значительно сэкономить материальные средства и рабочее время. В качестве основного метода на предварительном этапе исследования используют иммунохимический (ИХ) с применением экспресс-тестов на основе моноклональных антител. Метод позволяет достоверно выявлять негативные образцы биологических жидкостей, исследование которых далее проводить нецелесообразно. Вместе с тем получение положительного результата не может являться основанием для выдачи заключения о наличии каннабиноидов в биологической жидкости из-за возможного наличия перекрестных реакций с веществами схожей химической структуры. При положительном результате теста необходимо проведение подтверждающего исследования более специфичным методом [12, 13].

Одним из таковых является хроматография в тонком слое сорбента (ТСХ), основанная на принципе сорбции/десорбции веществ в закрепленном слое сорбента при их перемещении подвижной жидкой фазой. Для ТСХ-исследования каннабиноидов используются извлечения, полученные путем гидролиза биологических жидкостей с последующей ЖЖЭ либо твердофазной экстракцией (ТФЭ).

Как отмечалось, каннабиноиды являются высоколипофильными соединениями, которые в процессе метаболизма превращаются в растворимые в воде формы – конъюгаты с глюкуроновой кислотой, поэтому более 75% их метаболитов находятся в моче в виде моно- и диглюкуронидов [14]. Эти конъюгаты являются устойчивыми соединениями, образованными при помощи химических связей, для разрушения которых необходимо использование дополнительного этапа подготовки проб – гидролиза. В лабораторной практике применяется два вида гидролиза: ферментативный и щелочной.

Ферментативный гидролиз осуществляется с помощью β -глюкуронидазы. Его преимуществом является возможность обнаружения более широкого спектра метаболитов и минорных каннабиноидов (каннабинола и каннабидиола). Следует отметить, что простые эфирные связи ТГК и гидроксированных метаболитов с глюкуроновой кислотой не разрушаются при щелочном гидролизе, поэтому для обнаружения этих соединений в моче необходимо проведение ферментативного гидролиза, который одновременно позволяет разрушить и сложноэфирную связь ТГК-СООН-глюкуронида [14]. Необходимо строгое соблюдение условий проведения гидролиза с использованием ферментов: поддержание определенной температуры и pH, длительное инкубирование (12–16 ч), что ограничивает применение этого метода в химико-токсикологическом анализе.

Щелочной гидролиз более прост в исполнении, но позволяет выделять из биологических жидкостей только конъюгаты, образованные на основе сложноэфирной связи: основным из них является ТГК-СООН-глюкуронид. Выполнение щелочного гидролиза требует тщательной предварительной обработки лабораторной посуды для исключения возможной сорбции каннабиноидов и их метаболитов поверхностью стекла. В качестве обрабатывающего агента можно использовать 5%-ный раствор триметилхлорсилана (ТМКС) в толуоле, избыток которого удаляется метиловым спиртом. Разрушение химических связей образовавшихся в организме конъюгатов при проведении гидролиза осуществляется под действием насыщенного раствора едкого натра (NaOH) в присутствии метилового спирта при нагревании [15].

Изолирование каннабиноидов и их метаболитов после осуществления гидролиза достигается выполнением следующего этапа подготовки проб – экстракции. Для этого используются как ЖЖЭ, так и ТФЭ. В целях улучшения эффективности изолирования гидролизат подкисляют, при выполнении ТФЭ – уксусной кислотой, при выполнении ЖЖЭ – соляной кислотой (до pH 2.0), поскольку в гидролизате каннабиноиды и продукты их метаболизма находятся в виде солей, которые плохо изолируются органическими растворителями.

При проведении **жидкость-жидкостной экстракции** подкисленный гидролизат экстрагируется органическими растворителями. Наиболее эффективным экстрагентом для каннабиноид-

дов является смесь гексана и этилацетата (7:1) [15], причем для более полного изолирования веществ экстракцию необходимо проводить дважды. В ходе выполнения ЖЖЭ очень важно тщательное разделение водного и органического слоев: попадание даже малых количеств воды в конечный органический экстракт недопустимо, так как молекулы воды в первую очередь реагируют с агентами дериватизации, что значительно снижает эффективность экстракции каннабиноидов [14].

Проведение *твердофазной экстракции* осуществляется только после щелочного гидролиза. Подкисленный гидролизат пропускается через подготовленный картридж (микроколону) для ТФЭ. Для удаления высокомолекулярных соединений картридж последовательно промывается полярными растворителями, после чего осуществляется десорбция каннабиноидов и их метаболитов селективным органическим растворителем [12].

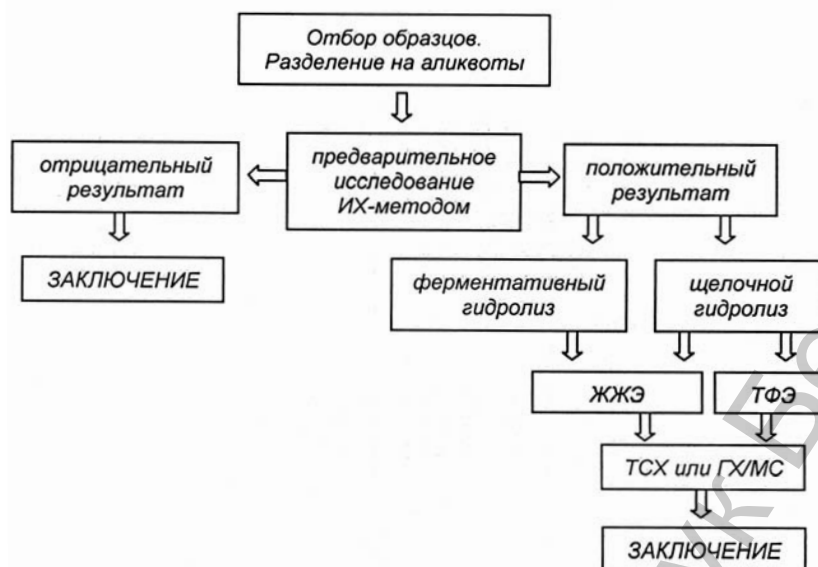
Полученный в процессе ЖЖЭ или ТФЭ материал далее исследуется методом *хроматографии в тонком слое сорбента*, заключающимся в хроматографическом разделении веществ с последующей их идентификацией. Эффективное разделение каннабиноидов достигается в хроматографической системе гексан – изобутиловый спирт – ледяная уксусная кислота (18:1,8:0,2) [15], а для идентификации выявляемых веществ оптимальной является обработка хроматографической пластины свежеприготовленным раствором 0,1%-ного прочного синего Б в 70%-ном этаноле с последующим напылением 1%-ным раствором NaOH [15].

Лабораторное заключение об обнаружении каннабиноидов должно выноситься на основании наличия специфической окраски, а также соответствия длины пробега (Rf) выявляемого и стандартного вещества. Основным метаболитом дельта-9-ТГК – ТГК-СООН после окраски проявляется красно-фиолетовым пятном с Rf 0,36 [15].

В качестве дополнительного подтверждающего метода обнаружения каннабиноидов может использоваться *газовая хроматография с масс-спектральным детектированием* (ГХ/МС) – метод количественного и качественного анализа широкого круга соединений. ГХ/МС представляет собой комбинацию двух аналитических инструментов: газовой хроматографии, обеспечивающей высокоэффективное разделение компонентов сложных смесей в газовой фазе, и масс-спектрометрии, позволяющей идентифицировать компоненты смеси. ГХ/МС с высоким уровнем достоверности характеризует вещества по газохроматографическим индексам удерживания и масс-спектрам. Вещества с перекрывающимися хроматографическими пиками различают по их масс-спектрам, а изомеры с похожими или идентичными масс-спектрами – по индексам удерживания [16].

Обнаружение каннабиноидов методом ГХ/МС можно проводить в извлечениях, полученных способами ЖЖЭ или ТФЭ, с обязательным применением дериватизации анализируемых веществ. Стадия дериватизации необходима для анализа соединений, имеющих полярные группы –ОН и –NH. Чем больше полярных групп в соединении, тем оно менее летуче и тем меньше чувствительность газохроматографического анализа. Метаболиты большинства наркотических средств имеют одну или несколько полярных групп разной природы, таких как первичные и вторичные аминные группы H₂NR и HNRR, фенольные или спиртовые гидроксигруппы –ОН, а также карбокси- и амидные группы. Наличие в структуре каннабиноидов карбокси- и спиртовых гидроксигрупп вызывает необходимость использования стадии дериватизации [17].

В аналитической практике используются различные способы дериватизации, наиболее эффективными из которых при исследовании каннабиноидов являются метилирование и силилирование с использованием йодметана [15], а также силильного агента бутилдиметилсилил-N-метилфторацетамида с добавлением триметилхлорсилана [18]. Следует отметить, что силильные агенты легче реагируют с водой, чем с каннабиноидами и продуктами их метаболизма, что затрудняет обнаружение анализируемых веществ. Поэтому важным моментом является полное удаление остатков воды из полученной в процессе экстракции органической фазы. Преимуществом дериватизации с применением йодметана является возможность использования обезвоживающего агента (тетраметиламмония), что позволяет значительно повысить чувствительность метода обнаружения каннабиноидов [15].



Последовательность этапов лабораторно-диагностического исследования. ИХ-метод – иммунохимический метод, ЖЖЭ – жидкость-жидкостная экстракция, ТФЭ – твердофазная экстракция, ТСХ – хроматография в тонком слое сорбента, ГХ/МС – хромато-масс-спектрометрия

Последовательность этапов лабораторно-диагностического исследования каннабиноидов в биологических жидкостях представлена на рисунке.

Заключение. Таким образом, потребление продуктов *Cannabis* является одной из серьезных проблем современности и требует пристального внимания к ее разрешению со стороны общественных и государственных структур. Осуществлению профилактических мер во многом способствует своевременное выявление злоупотребления каннабиноидами на ранних стадиях формирования наркотической зависимости; при этом диагностика должна быть комплексной, включающей оценку клинической картины и результаты лабораторного анализа.

Отмеченные особенности метаболизма каннабиноидов затрудняют проведение их лабораторного исследования и усложняют процесс подготовки проб биологических жидкостей для анализа. Выраженная способность каннабиноидов к образованию конъюгатов с глюкуроновой и серной кислотами требует проведения процедуры гидролиза.

Современная технология лабораторного определения каннабиноидов и их метаболитов в биологических жидкостях организма человека должна включать комплекс аналитических методов: от предварительной идентификации веществ до подтверждения их наличия высокочувствительными и специфичными хроматографическими методами.

Литература

1. Всемирный доклад о наркотиках: 2010 год / Организация объединенных наций. Управление по наркотикам и преступности, 2011.
2. Шилейко И. Д., Чубуков А. М., Александров П. А. // Психиатрия. 2010. № 1. С. 34–40.
3. Балашов А. М. // Наркология. 2004. № 11. С. 5–12.
4. Веселовская Н. В., Коваленко А. Е. Наркотики: свойства, действие, фармакокинетика, метаболизм. М., 2008.
5. Джекобсон Д. Л., Джекобсон А. М. Секреты психиатрии. М., 2007.
6. Пятницкая И. Н. Наркомания: руководство для врачей. М., 1997.
7. Личко А., Битенский В. Учебник по наркомании для подростков. М., 1996.
8. Менделевич В. Д. Руководство по аддиктологии. СПб., 2007.
9. Гофман А. Г. Клиническая наркология. М., 2003.
10. Каплан Г. И., Сэдок Дж. Клиническая психиатрия. М., 1994.
11. Симонов Е. А., Изотов Б. Н., Фесенко А. В. Наркотики: методы анализа на коже в ее придатках и выделениях. М., 2000.
12. Токсикологическая химия. Метаболизм и анализ токсикантов: учеб. пособие / Под ред. проф. Н. И. Калетиной. М., 2008.

13. Экспресс-тесты на основе моноклональных антител для идентификации наркотических средств и психотропных веществ в биологических пробах: инструкция по применению № 048–0509, утв. МЗ РБ.
14. Коваленко А. Е., Изотов Б. Н., Крылова Е. Н., Веселовская Н. В. Современные методы анализа каннабиноидов и их метаболитов в биосредах. М., 2000.
15. Катаев С. С., Зеленина Н. Б., Мелентьев А. Б. и др. // Суд.-мед. экспертиза. 2005. № 2. С. 35–39.
16. Гладилевич В. Д., Подольская Е. П. // Науч. приборостроение. 2010. Т. 20, № 4. С. 36–49.
17. Мелентьев А. Б. // Проблемы экспертизы в медицине. 2002. № 4. С. 15–21.
18. Marijuana (THC-COOH): extraction protocol. Manufactured under H. P. U. S. Patent 4.293.415.

A. TURTSEVICH, D. STATKEVICH, A. CHUBUKOU, V. KAMYSHNIKOU, I. SHYLEIKA

CLINICAL-LABORATORY DIAGNOSTICS OF NARCOTIC INTOXICATION DUE TO CANNABINOIDS USE

Summary

This article covers the problem of *Cannabis* abuse clinical picture, and acute cannabis intoxication consequences of cannabis abuse are described. Much attention is paid to the laboratory diagnostics. The technology of cannabinoids detection in the human body with the use of modern methods of chemical and toxicological analysis is presented, and the algorithm of cannabinoids laboratory detection is offered.

РЕФЕРАТЫ

УДК 616.12-089

Северкевич В. И., Рубахов К. О., Островский Ю. П. Системные сдвиги гемодинамики при проведении реваскуляризации миокарда на работающем сердце // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 5–8.

Представлены результаты исследования системных сдвигов гемодинамики при проведении реваскуляризации с применением разработанного и изготовленного в РНПЦ «Кардиология» совместно с научно-медицинской фирмой «Медбиотех» оригинального многоцветного ретрактора со стабилизатором сердца для выполнения операций коронарного шунтирования без искусственного кровообращения и наиболее часто используемого при таких операциях стабилизатора Ostorus (фирма Medtronic, США). Установлено, что характер гемодинамических изменений зависит от области реваскуляризации, а не от вида используемого стабилизатора.

Табл. 6. Ил. 2. Библиогр. – 12 назв.

УДК 616.831.005.8:616.152.21:615.849.19

Нечипуренко Н. И., Анацкая Л. Н., Пашковская И. Д. Коррекция клиничко-метаболических нарушений у пациентов с лакунарным инфарктом мозга при использовании лазерной гемотерапии // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 9–15.

Проведена оценка динамики клинических симптомов, уровня лактата, пирувата, активности лактатдегидрогеназы, супероксиддисмутазы и каталазы в крови, показателей перекисного окисления липидов (ПОЛ), содержания восстановленного глутатиона, церулоплазмина, концентрации калия и натрия в плазме и эритроцитах, осмолярности крови в остром периоде лакунарного инфаркта мозга (ЛИМ) при церебральной микроангиопатии на фоне хронической ишемии мозга у 22 пациентов контрольной группы (базисная терапия) и у 31 – основной группы (базисная терапия + внутривенное лазерное облучение крови) на момент госпитализации и после курса лечения. У всех пациентов в острейшем периоде ЛИМ выявлены гиперлактатацидемия, увеличение соотношения лактат/пируват и активности лактатдегидрогеназы, дисбаланс внутриклеточного содержания калия и натрия, нарушения ПОЛ в крови. Установлена корреляционная взаимосвязь тяжести неврологического дефицита, окислительно-восстановительных процессов в организме с уровнем мозгового кровотока у пациентов в остром периоде ЛИМ до лечения. Применение внутривенного лазерного облучения крови в комплексном лечении этих пациентов способствует коррекции ионно-осмотических и окислительно-восстановительных нарушений при достоверном уменьшении выраженности клинических симптомов.

Табл. 5. Ил. 1. Библиогр. – 26 назв.

УДК 616.71-018.46-089.843-06-08/084:616-013.395:616-018.1

Исайкина Я. И., Шман Т. В., Алейникова О. В. Исследование в эксперименте *in vitro* иммуномодулирующих свойств мезенхимальных стволовых клеток из костного мозга // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 16–20.

Исследования последних лет показали, что мезенхимальные стволовые клетки (МСК) модулируют иммунный ответ *in vitro* и *in vivo*, воздействуя на широкий спектр иммунных клеток.

Нами изучены иммунные взаимодействия между Т-лимфоцитами и экспансированными МСК в смешанной культуре. Мононуклеарные клетки (МНК) и МСК были получены из проб 17 доноров. Для оценки влияния МСК на различные субпопуляции Т-лимфоцитов МНК культивировали как в присутствии МСК, так и без них, а для изучения антипролиферативного эффекта МСК стимуляцию пролиферации лимфоцитов осуществляли путем добавления в среду культивирования фитогемагглютина (ФГА).

Результаты исследования показали, что присутствие МСК в смешанной культуре клеток без ФГА не приводило к изменению числа CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+ лимфоцитов. В то же время наблюдалась достоверная редукция клеток субпопуляций Т-хелперов и цитотоксических лейкоцитов (ЦТЛ) на 3-й и 7-й день культивирования по сравнению с контролем (без МСК) в присутствии стимулятора клеточного деления ФГА ($P < 0,05$), что подтверждает антипролиферативный эффект МСК. Кроме того, супрессивный эффект МСК проявлялся и в отношении активированных Т-лимфоцитов, экспрессирующих CD3/HLA-DR, число которых также было снижено в культуре МНК/МСК по сравнению с контролем ($P < 0,05$). С другой стороны, наблюдалось увеличение числа клеток в CD3+CD25+ субпопуляции лимфоцитов и в субпопуляции регуляторных CD3+CD25+CD127- Т-лимфоцитов, которые также являются супрессорами ЦТЛ и естественных киллерных клеток.

Таким образом, нами продемонстрирована способность МСК, полученных из костного мозга, супрессировать аллореактивные Т-лимфоциты, подавляя активированную пролиферацию ЦТЛ, Т-хелперов и активированных CD3+HLA-DR+ лимфоцитов и стимулируя пролиферацию Т-регуляторных лимфоцитов. Применение МСК в клинической практике может иметь большое значение при лечении реакции «трансплантат против хозяина» и других тяжелых патологий иммунной системы.

Ил. 4. Библиогр. – 34 назв.

УДК 616.37-002-036.12-089.87

Рацинский С. М., Третьяк С. И. Качество жизни пациентов с хроническим панкреатитом после выполнения операции Фрея и панкреатодуоденальной резекции // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 21–27.

Цель нашего проспективного исследования – сравнить результаты хирургического лечения в раннем послеоперационном периоде у больных хроническим панкреатитом (ХП) после выполнения панкреатодуоденальной резекции (ПДР) и различных вариантов операции Фрея (ОФ) и оценить качество жизни, которое обеспечивают эти виды хирургических вмешательств, после выписки пациентов из стационара.

С января 2005 г. по декабрь 2010 г. на базе отделения хирургической гепатологии ПДР или ОФ были выполнены у 57 пациентов. ПДР была произведена у 21 пациента, ОФ – у 36. Результаты выполнения оперативных вмешательств в обеих группах были проанализированы по характеру послеоперационных осложнений и наличию летальных исходов до момента выписки из стационара. Оценка результатов хирургического лечения после выписки из стационара была проведена с использованием русифицированной версии опросника оценки качества жизни SF-36 v.2TM. Опрос пациентов был проведен накануне хирургического вмешательства и после выписки из стационара (учтены данные анкет, полученные при опросе через 12–15 мес. после выполнения операций).

В раннем послеоперационном периоде получены достоверно лучшие результаты хирургического лечения в группе пациентов, где была выполнена ОФ ($\alpha < 0,05$). Статистически значимого различия результатов лечения в отдаленном периоде не получено.

Показано, что оба вида хирургического вмешательства достоверно улучшают качество жизни и уменьшают интенсивность болевого синдрома у пациентов, страдающих от различных осложнений ХП. При наличии равных условий предпочтение следует отдавать ОФ как более безопасной операции по результатам в раннем послеоперационном периоде. Вопросник SF-36 v.2TM является надежным инструментом для оценки качества жизни пациентов в связи с наличием его официальной русифицированной версии.

Табл. 4. Библиогр. – 34 назв.

УДК 618.25-08

Харкевич О. Н., Семенчук В. Л. Многоплодная беременность: современные подходы к тактике оказания медицинской помощи // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 28–37.

Особенности течения и исходы беременности при монохориальной (МХ) и бихориальной (БХ) двойнях изучены по данным ретроспективного анализа у 339 пациенток, проспективно – у 54 беременных с МХ двойней. Выявлены достоверные различия продолжительности беременности, средней массе новорожденных и перинатальным исходам у МХ и БХ двоен. По результатам ретроспективного анализа, проспективного обследования и лечения пациенток с беременностью двойней были разработаны и внедрены основные подходы и принципы ведения таких беременных.

Табл. 4. Ил. 5. Библиогр. – 27 назв.

УДК 546.15 + 612.017.1]+ 616.441-006.6-089]:[612.017.1:575.857]

Митюкова Т. А., Леонова Т. А., Платонова Т. Ю., Окулевич Н. М., Луцкич М. Л., Дрозд В. М., Корытько С. С.
Частота выявления тиреоидных аутоантител у пациентов, прооперированных по поводу карциномы щитовидной железы // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 38–45.

Оценена частота диагностических уровней антител к тиреоглобулину (АТ-ТГ) и антител к тиреопероксидазе (АТ-ТПО) у пациентов, прооперированных по поводу дифференцированного рака щитовидной железы (ДРЩЖ), и проведено сравнение распространенности антителеносительства у пациентов этой группы с данными скрининга. Показано, что частота диагностических значений АТ-ТГ в общей группе пациентов с ДРЩЖ составила 10%, у женщин – 12, у мужчин – 6%, что сопоставимо с распространенностью антител в группе условного контроля. Диагностические титры АТ-ТПО у пациентов с ДРЩЖ обнаружены не были. Установлено, что выработка АТ-ТГ у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ, имеет тесную связь с уровнем циркулирующего в крови ТГ.

Табл. 2. Ил. 2. Библиогр. – 28 назв.

УДК 616.314-76-026.569:004.925.8

Луцкая И. К., Шмелев А. В., Кавецкий В. П. **Компьютерное моделирование адгезивных волоконных конструкций в эстетической стоматологии** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 46–52.

С помощью метода конечных элементов изучено напряженно-деформированное состояние адгезивных волоконных конструкций. Разработаны компьютерные модели зубных протезов с различными вариантами расположения армирующего каркаса. Изучено влияние расположения волокна на возникновение и распределение максимальных значений растягивающих и эквивалентных (по Мизесу) напряжений в конструкции протеза. Полученные результаты позволили определить и обосновать рациональное расположение волоконного армирующего каркаса адгезивной конструкции, обеспечивающее снижение напряжений.

Табл. 3. Ил. 5. Библиогр. – 26 назв.

УДК 615.27-06:616.155.3-008.13

Бизунок Н. А. **Фармакодинамические взаимодействия N-замещенных производных L-пролина и клеточных модуляторов разного типа действия на модели FcγR-зависимого фагоцитоза** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 53–62.

N-ацетил-L-пролин и N-ацетил-L-гидроксипролин оказывают ингибирующее действие на продукцию активных форм кислорода (АФК) в макрофагах с EC₅₀ 0,32 и 0,15 мМ соответственно. В отношении Nox2-зависимой продукции АФК N-ацетил-L-пролин демонстрирует синергизм в комбинации с АТФ и антагонизм в комбинации с нифедипином и колхицином; при 10-кратном превалировании N-ацетил-L-пролин нивелирует стимулирующее действие на респираторный взрыв фагоцитов ацетилсалициловой кислоты и мелоксикама.

Табл. 7. Ил. 2. Библиогр. – 18 назв.

УДК 616:612.017.1

Гончаров А. Е., Титов Л. П., Кошелев С. В., Путырский Л. А. **Иммунный статус и противоопухолевый иммунный ответ у пациенток, страдающих раком молочной железы** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 63–69.

Изучены показатели иммунного статуса и опухолеспецифического иммунного ответа у пациенток, страдающих раком молочной железы (РМЖ), включенных в клинические испытания нового метода адьювантной иммунотерапии РМЖ.

Исследование иммунного статуса и специфического иммунного ответа у 28 больных РМЖ показало, что иммунофенотипические показатели у них находятся в пределах физиологической нормы. У 75,0 ± 8,2% пациенток выявлены в крови антигенспецифические лимфоциты. Установлено увеличение числа антигенспецифических лимфоцитов в периферической крови 83,3 ± 15,2% пациенток в процессе иммунотерапии, что свидетельствует о формировании иммунного ответа.

Табл. 3. Ил. 1. Библиогр. – 39 назв.

УДК 612.014.464:612.014.1-092.4

Котович И. Л., Рутковская Ж. А., Таганович А. Д. **Продукция активных форм кислорода и азота клетками бронхоальвеолярной жидкости в условиях экспериментальной гипероксии** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 70–76.

Изучена динамика продукции активных форм кислорода и азота клетками легких новорожденных морских свинок, подвергшихся длительному воздействию гипероксии. Клетки выделяли из бронхоальвеолярной лаважной жидкости (БАЛЖ). Выявлено увеличение относительного содержания нейтрофилов и усиление генерации активных форм кислорода клетками БАЛЖ при гипероксии. При воздействии гипероксии свыше 3 сут интенсивность продукции активных форм кислорода, в том числе в условиях стимуляции функциональной активности клеток, снижалась. Количество нитрит-ионов в БАЛЖ и среде культивирования клеток увеличивалось на 3-и сутки, а затем падало до 37% от контроля на 14-е сутки гипероксии. Выявленные изменения могут способствовать повреждению легких у новорожденных при длительном использовании искусственной вентиляции легких с высокой концентрацией кислорода.

Табл. 2. Ил. 3. Библиогр. – 24 назв.

УДК 612.62 + 618.179]-057.87:378.4

Дюбкова Т. П. **Репродуктивные установки студентов классического университета** (на бел. яз.) // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 77–84.

Проведено добровольное анонимное анкетирование студентов классического университета. Проанализированы их репродуктивные установки в зависимости от гендерной принадлежности ($n = 526$) и курения табака ($n = 275$). Абсолютное большинство студентов – будущих родителей желает иметь одно-, двухдетную семью. Установка на малодетность доминирует среди девушек. Среди приверженцев семьи с тремя и более детьми преобладают представители мужского пола. Более половины студентов – будущих родителей планируют рождение первого ребенка в течение первых двух лет брака. Абсолютное большинство респондентов, желающих создать семью с двумя и более детьми, планируют рождение второго ребенка через 2–4 года после первенца. Для представительниц женского пола характерна тенденция откладывания рождения первенца и второго ребенка на более поздний возраст. Для современной студенческой молодежи остается моральной ценностью традиционный социальный институт семьи с официальной регистрацией брака. Более половины девушек и треть юношей планируют сразу юридически зарегистрировать отношения, остальные предпочитают добрачное сожительство с последующей юридической регистрацией брака. Доля юношей, которые являются сторонниками добрачного сожительства, превышает долю девушек. Тип отношений между партнерами противоположных полов играет определяющую роль при принятии решения о сохранении или прерывании первой незапланированной беременности. При внебрачном зачатии возрастает доля молодежи, имеющей установку на аборт. Курящие студентки характеризуются более высокой психологической готовностью к искусственному прерыванию беременности по сравнению со сверстницами, которые никогда не курили табак.

Табл. 4. Библиогр. – 18 назв.

УДК 576.3:616-006

Мартиневич Г. Г., Мартиневич И. В., Голубева Е. Н., Черенкевич С. Н., Демидчик Ю. Е., Гаин Ю. М., Владимирская Т. Э., Луцкич М. Л. **Редокс-биотехнологии как основа для новой стратегии в противоопухолевой терапии** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 85–104.

Рассмотрены современные представления о редокс-сигнализации и редокс-гомеостазе в опухолевых тканях. Детально проанализированы механизмы трансформации клеток, протекающие с участием активных форм кислорода. Особое внимание уделено новым технологиям в области противоопухолевой терапии, базирующимся на редокс-регуляции клеточных процессов.

Табл. 3. Ил. 2. Библиогр. – 200 назв.

УДК 616.831-073.788

Жарикова А. В., Пономарев В. В. **Возможности применения когнитивного вызванного потенциала Р300 в клинической практике** // Весті НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 105–116.

Представлен обзор литературы по методике и клиническому значению когнитивного вызванного потенциала Р300. Акцентировано внимание на использовании Р300 в диагностике ранних доклинических стадий когнитивных нарушений. Показано, что наряду с нейропсихологическими методами данный метод может быть использован для диагностики когнитивных нарушений как проявлений неврологического заболевания или отдельной нозологической формы заболевания. Особое значение приобретает использование метода когнитивных ВП в динамике заболевания или в процессе лечения для оценки эффективности применяемой терапии, прогнозирования течения заболевания, объективной оценки степени когнитивных нарушений у пациентов с расстройствами когнитивных функций.

Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. – 34 назв.

УДК 616.89-008.441.33:615.212.7-099]-074

Турцевич А. М., Статкевич Д. С., Чубуков А. М., Камышников В. С., Шилейко И. Д. **Обоснование необходимости клиничко-лабораторной диагностики наркотического опьянения, вызванного каннабисом** // Весті НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 2. С. 117–123.

На протяжении многих лет особой популярностью в молодежной среде пользуются наркотические средства, получаемые из дикорастущей конопли (*Cannabis Sativa*), которые по массовости применения уступают только алкоголю. Каннабиноиды, являющиеся основными действующими веществами дикорастущей конопли, вызывают наркотическое пристрастие. Нами описаны основные клинические признаки состояния опьянения, вызванного каннабисом, особенности биотрансформации и метаболизма каннабиноидов. Рассмотрены современные методы химико-токсикологического анализа, позволяющие достоверно выявлять наличие каннабиноидов в организме человека, предложены наиболее оптимальные способы подготовки образцов биологических жидкостей к исследованию. В результате выработан алгоритм действий при проведении лабораторно-диагностического исследования каннабиноидов в биологических жидкостях.

Ил. 1. Библиогр. – 18 назв.