

ВЕСЦІ

НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

СЕРЫЯ МЕДЫЦЫНСКІХ НАВУК 2012 №3

ИЗВЕСТИЯ

НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ

СЕРИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК 2012 №3

ЗАСНАВАЛЬНІК – НАЦЫЯНАЛЬНАЯ АКАДЭМІЯ НАВУК БЕЛАРУСІ

Часопіс выдаецца са студзеня 2004 г.

Выходзіць чатыры разы ў год

ЗМЕСТ

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

- Фридман М. В., Савва Н. Н., Маньковская С. В., Ромашевская И. П., Демидчик Ю. Е.** Ретроспективный анализ «ятрогенного» и «криптогенного» папиллярного рака щитовидной железы у детей и подростков 5
- Анацкая Л. Н., Гончарова Н. В., Потапнев М. П., Щербина Н. И., Матусевич Л. И.** Роль циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток и эндотелиального фактора роста в остром периоде лакунарных инфарктов мозга при церебральной микроангиопатии 15
- Басалай М. В., Барсукевич В. Ч., Булгак А. Г., Мрочек А. Г.** Локальное и дистантное ишемическое кондиционирование миокарда: поиск возможностей кардиопротекции 22
- Исайкина Я. И., Марейко Ю. Е., Прудников Д. В., Минаковская Н. В., Спивак Л. В., Алейникова О. В.** Восстановление гемопоэза после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей с онкогематологическими заболеваниями 29
- Суркова Л. К.** Патоморфологические особенности туберкулеза легких на поздних стадиях ВИЧ-инфекции 38
- Луцкая И. К., Кавецкий В. П.** Критерии качества препарирования опорных зубов при изготовлении адгезивных волоконных конструкций 42

Лихачев С. А., Рыбакова В. Д., Пархач Л. П. Оценка оксигенации коры головного мозга у пациентов с преходящими потерями сознания по данным церебральной оксиметрии	48
Гайдук А. В., Бизунок Н. А., Дубовик Б. В. Фармакодинамическое взаимодействие антидепрессантов тianeптина и сертралина	55
Митюкова Т. А., Леонова Т. А., Окулевич Н. М., Платонова Т. Ю., Дрозд В. М. Антитела к антигенам бета-клеток поджелудочной железы у оперированных пациентов с карциномой щитовидной железы	60
Федоринчик О. В. Клинико-лабораторное обоснование выбора силера для пломбирования корневых каналов зубов	68
Шейбак В. М., Дорошенко Е. М., Горецкая М. В., Лях И. В. Влияние аспартата цинка и таурина на пул свободных аминокислот в головном мозге крыс	77
Огурцова С. Э., Афонин В. Ю., Малей Л. П., Малашевич Я. В., Теплоухова Ю. С. Роль экспрессии гена <i>NMO1</i> в биоактивации хиноновых промутагенов	82
Беловешкин А. Г., Студеникина Т. М. Морфофункциональные аспекты взаимосвязи кровеносных сосудов и телец Гассала тимуса человека	86
Кравченко Е. В., Понтелеева И. В., Максимова Л. В., Ольгомец Л. М. Исследование ГАМК-, холин-, дофамин- и глутаматергической систем в механизме действия фитопрепарата «Рациум®»	92
Дубкова В. И., Соловский М. В., Смирнова М. Ю., Панарин Е. Ф., Крутько Н. П., Маевская О. И., Белясова Н. А. Полимерно-композиционные целлюлозные и углеволокнистые материалы с антимикробной активностью	97
Дудко Н. В., Кириожницкая Н. В., Матюшонок И. А., Мурзина М. В., Наумовец Е. В., Руденок А. Н. Стимуляция клеточного дыхания лекарственным средством «Диавитол» <i>in vitro</i>	104
АГЛЯДЫ	
Тропникова Г. К., Килин С. Я. Структура и функции дорсального ядра шва ствола головного мозга	111

ИЗВЕСТИЯ НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК БЕЛАРУСИ 2012 № 3

Серия медицинских наук

на русском, белорусском и английском языках

Компьютерная верстка С. Э. Былина

Здана ў набор 30.07.2012. Падпісана ў друк 14.08.2012. Выхад у свет 21.08.2012. Фармац 60 × 84^{1/8}. Папера афсетная. Ум. друк. арк. 14,88. Ул.-выд. арк. 16,4. Тыраж 66 экз. Заказ 154.

Кошт нумару: індывідуальная падпіска – 34 550 руб., ведамасная падпіска – 86 201 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».

© Выдавецкі дом «Беларуская навука»
Весці НАН Беларусі, серыя медыцынскіх навук, 2012

PROCEEDINGS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF BELARUS

MEDICAL SERIES 2012 N 3

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

Fridman M. V., Savva N. N., Mankovskaya S. V., Romashevskaya I. P., Demidchik Yu. Retrospective analysis of «iatrogenic» and «cryptogenic» child and adolescent papillary thyroid carcinoma	5
Anatskaia L., Goncharova N., Potapnev M., Shcharbina N., Matusevich L. Role of circulating endothelial progenitor cells and vascular endothelial growth factor in acute lacunar stroke resulting from cerebral small vessels disease	15
Basalay M. V., Barsukevich V. Ch., Bulgak A. G., Mrochek A. G. Local and remote ischaemic conditioning of the myocardium: possibilities for cardioprotection	22
Isaikina Y., Mareika Y., Prudnikov D., Minakovskaya N., Spivak L., Aleinikova O. Hematopoietic reconstitution after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in children with oncohematologic diseases.....	29
Surkova L. K. Pathomorphological features of pulmonary tuberculosis at the late HIV infection stages	38
Lutskaya I. K., Kavetsky V. P. Teeth preparation quality evaluation criteria for fiber adhesive structures development	42
Likhachev S. A., Rybakova V. D., Parkhach L. P. Evaluation of regional oxygen saturation of the brain area in patients with transient loss of consciousness according to cerebral oximeter.....	48
Gaiduk A. V., Bizunok N. A., Dubovik B. V. Pharmacodynamic interaction of antidepressants: tianeptine and sertraline	55
Mityukova T. A., Leonova T. A., Okulevich N. M., Platonova T. Yu., Drozd V. M. Antibodies to antigens of beta-cells of the pancreas of operated patients with thyroid carcinoma	60
Fedorinchik O. V. Clinical and laboratory grounds for choosing a sealer for filling root canals of teeth.....	68
Sheibak V. M., Doroshenko E. M., Haretskaya M. V., Lyakh I. V. Effect of aspartate of zinc and taurine on the pool of free amino acids in rat brain	77

Ogurtsova S. A., Afonin V. Yu., Malei L. P., Malachevich J. V., Tseplavukhava Yu. S. Role of expression of gene <i>NMO1</i> in the bioactivation of quinone promutagens.....	82
Beloveshkin A. G., Studenikina T. M. Functional and structural connections of blood vessels and Hassall's corpuscles in human thymus.....	86
Kravchenko E. V., Ponteleeva I. V., Maksimova L. V., Olgomets L. M. Study of GABA-, cholinergic, dopaminergic and glutamatergic systems in the mechanism of action of phytopreparation "Racium®"	92
Dubkova V. I., Solovskiy M. V., Smirnova M. Yu., Panarin E. F., Krutko N. P., Maevskaja O. I., Beljasova N. A. Polymer-composite cellulose and carbon fibrous materials with antimicrobial properties	97
Dudko N. V., Kirnožitskaja N. V., Matiushonok I. A., Murzina M. V., Naumavets E. V., Rudenok A. N. Stimulation of cell respiration by the drug "Diavitol" <i>in vitro</i>	104

SURVEYS

Tropnikova G. K., Kilin S. Ya. Structure and functions of the dorsal nucleus of the sature of the brain stem.....	111
--	-----

Национальная академия наук Беларуси

КЛІНІЧНАЯ І ЭКСПЕРЫМЕНТАЛЬНАЯ МЕДЫЦЫНА

УДК 616.441-006.6-089-053

*М. В. ФРИДМАН¹, Н. Н. САВВА², С. В. МАНЬКОВСКАЯ³, И. П. РОМАШЕВСКАЯ²,
Ю. Е. ДЕМИДЧИК⁴*

**РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ «ЯТРОГЕННОГО» И «КРИПТОГЕННОГО»
ПАПИЛЛЯРНОГО РАКА ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ДЕТЕЙ И ПОДРОСТКОВ**

¹*Минский городской клинический онкологический диспансер, Беларусь,*

²*Республиканский научно-практический центр детской онкологии и гематологии, Минск, Беларусь,*

³*Институт физиологии НАН Беларуси, Минск,*

⁴*Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск*

(Поступила в редакцию 05.10.2011)

Введение. Папиллярный рак щитовидной железы (ПРЩЖ) у детей и подростков остается актуальной медицинской проблемой и привлекает внимание прежде всего в связи с высокой заболеваемостью после аварии на ЧАЭС у лиц, проживавших на территориях с высоким уровнем загрязнения техногенными радионуклидами [1, 2].

Данные, полученные разными группами исследователей, позволили по-новому взглянуть на клинико-морфологические особенности этого новообразования и предположить, что этиологический фактор может влиять на био- и патоморфологические признаки ПРЩЖ. В частности, была обнаружена относительная мономорфность строения постчернобыльской карциномы и установлено изменение архитектоники опухоли в зависимости от возраста пациентов и срока, прошедшего с момента облучения [3]. Менее изучен вопрос о специфике рака щитовидной железы, возникшего в период наблюдения за детьми, получавшими комбинированное или комплексное лечение по поводу гемобластозов и других злокачественных опухолей, хотя известно [4], что встречаются они нередко (частота таких «ятрогенных» карцином составляет 47,5%).

Цель настоящей работы – сравнительный ретроспективный клинико-морфологический анализ случаев посттерапевтического («ятрогенного») и «криптогенного» ПРЩЖ у детей и подростков до 18 лет включительно.

Материалы и методы исследования. Данные представлены и верифицированы Республиканским центром опухолей щитовидной железы совместно с популяционным Детским канцер-регистром Республики Беларусь.

В группу «криптогенных» опухолей вошли больные ПРЩЖ, рожденные после февраля 1987 г. и не имевшие в анамнезе фактов проживания на загрязненных радиоактивным йодом территориях и предшествующего противоопухолевого лечения, а также признаков генетически-детерминированной карциномы. При формировании группы руководствовались информацией о распаде радиоактивного йода (процесс полностью завершился к июлю 1986 г.) и данными о функциональной активности щитовидной железы во внутриутробном периоде [1].

Под «ятрогенными» понимали случаи ПРЩЖ, в анамнезе которых было указание на проведение химиолучевого лечения по поводу других опухолей в детском возрасте [1, 5–8].

Патоморфологическое исследование операционного материала проводили по общепринятым методикам: после доставки его в патологоанатомическую лабораторию осуществляли взвешивание и измерение в трех проекциях, описание вида на разрезе и консистенции опухолевидных образований. Предпочтение отдавали изготовлению гистотопографических срезов, для чего щитовидную

железу рассекли на равные фрагменты толщиной 3–5 мм, ориентированные по длинной оси (от верхнего до нижнего полюса в вертикальной плоскости). При таком способе забора материала участки, отличные от анатомической нормы, попадали в один блок с окружающей тканью, что позволяло легко определить границы патологических изменений. При оценке индивидуальных особенностей строения карциномы использована морфологическая классификация ВОЗ 2004 г. [9].

Для сравнения двух групп по распределению качественных признаков применяли двусторонний точный тест Фишера, а для их сравнения – тест Манна–Уитни. Результаты считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. С 1995 по 2008 г. «криптогенный» папиллярный рак верифицирован у 146 больных (116 девочек и 30 мальчиков (соотношение полов 3,8:1) в возрасте от 4 до 18 лет включительно, средний возраст на момент диагноза составил $14,3 \pm 2,9$ года; случаев заболевания у пациентов до 4-летнего возраста не зафиксировано). В эту же группу включена пациентка 1973 г. р., у которой ПРЦЖ выявлен в феврале 1986 г., т. е. до аварии на ЧАЭС. Обычно проводилось хирургическое лечение в объеме геми- ($n = 21$; 14,3%) или тотальной ($n = 123$; 83,7%) тиреоидэктомии с удалением ($n = 133$; 90,5%) регионарных лимфатических узлов шеи. Как правило, выполнялась двусторонняя модифицированная радикальная шейная диссекция параюгулярной клетчатки с иссечением лимфатических узлов II–IV уровня. Количество удаленных лимфатических узлов варьировалось от 1 до 87. В дальнейшем у 83 (56,5%) пациентов проводилась терапия радиоактивным йодом: для абляции остаточной тиреоидной ткани – у 79 (53,7%), по причине метастатического поражения легких – у 4 (1,4%). В первом случае суммарная активность изотопа составила 0,3–9,4 ГБк (медиана 3,7 ГБк), во втором – 7,4–10,3 ГБк (медиана 7,4 ГБк). Продолжительность периода наблюдения за больными «криптогенным» ПРЦЖ составила от 31,0 до 304,6 мес.

За аналогичный период были зарегистрированы 21 человек с «ятрогенным» ПРЦЖ и еще двое пациентов, прооперированных в 2009–2010 гг., которых мы посчитали возможным включить в исследование. Таким образом, изучены истории болезни и микропрепараты 10 девочек и 13 мальчиков (соотношение полов 0,8:1); возраст на момент диагностики опухоли в щитовидной железе составил 8–18 лет, в среднем $14,5 \pm 3,0$ года. Первое злокачественное новообразование возникало в среднем в $4,7 \pm 2,8$ года (возраст от 1 до 12 лет). Латентный период до второй опухоли (рак щитовидной железы) в среднем составил $9,2 \pm 3,3$ года (возраст от 4 до 16 лет).

По отношению к дате аварии на Чернобыльской АЭС и возможному влиянию на развитие второго злокачественного новообразования пациенты были разделены на две группы (табл. 1), сравнение между которыми не показало статистически значимых различий.

Лечебные мероприятия по поводу первой злокачественной опухоли (гемобластозов, сарком, медуллобластомы) проводили по стандартным протоколам, причем лучевую терапию применяли во всех случаях (дозы варьировались от 12 до 54 Гр). Хирургическое и послеоперационное лечение карцином щитовидной железы также было стандартизировано: как правило, выполняли тотальную тиреоидэктомию (у 21 (91,3%) из 23 пациентов) с двусторонней модифицированной радикальной шейной диссекцией пре- и паратрахеальной, а также параюгулярной клетчатки с удалением лимфатических узлов VI и II–V уровней. Абляционным курсам (от 1 до 3) с суммарной активностью 0,3–7,8 ГБк подверглись 13 больных. В одном случае при лечении отдаленных метастазов суммарная активность достигла 13,6 ГБк. Продолжительность периода наблюдения за больными «ятрогенным» ПРЦЖ составила от 18,1 до 186,6 мес.

Среди 23 пациентов с «ятрогенным» папиллярным раком 11 получали лечение по поводу лимфомы (болезнь Ходжкина из них страдали 9 человек). Еще у 7 человек была обнаружена лейкемия, причем острым миелобластным лейкозом страдала единственная погибшая пациентка (причиной летального исхода у которой стал сепсис, развившийся в период получения лечения по поводу третьего рецидива гемобластоза), а у остальных пациентов диагностирован острый лимфобластный лейкоз. Эти данные хорошо согласуются с тем фактом, что риск формирования высокодифференцированной тиреоидной карциномы значительно выше, если в анамнезе отмечены болезнь Ходжкина, неходжкинская лимфома или лейкоз [8]. У одного пациента была излечена медуллобластома. Наконец, еще три девочки и один мальчик имели в прошлом мягкотканые новообразования лица, шеи и мочевого пузыря. В последнем случае заболевание

Т а б л и ц а 1. Влияние аварии на ЧАЭС на характеристики «ятрогенного» рака

Параметр	Пациенты		
	родившиеся до 26.04.1986 (n = 7)	родившиеся после 26.04.1986 (n = 16)	всего (n = 23)
Демографические показатели:			
возраст (M ± SD), лет	16,1 ± 1,7	13,8 ± 3,2	14,0 ± 3,1
соотношение по полу (ж/м)	1/2,5	1/1,3	1/1,3
проживание в Гомельской, Брестской или Могилевской областях	5 (71,4%)	8 (50,0%)	13 (56,5%)
Макроскопическое описание:			
размер опухоли, Me (min–max), мм:	12,0 (3–17)	10,0 (5–50)	10,0 (3–50)
1–5 мм	1 (14,3%)	1 (6,2%)	2 (8,7%)
6–10 мм	2 (28,6%)	10 (62,5%)	12 (52,2%)
≥ 11 мм	4 (57,1%)	5 (31,2%)	9 (39,1%)
локализация в органе (вид на срезе):			
под капсулой	4 (57,1%)	10 (62,5%)	14 (60,9%)
внутри доли	3 (42,9%)	4 (25,0%)	7 (30,4%)
перешеек	0	2 (12,5%)	2 (8,7%)
Распространение опухоли:			
местное, N0:	4 (57,1%)	2 (12,5%)	6 (26,1%)
внутри органа	4 (57,1%)	0	4 (17,4%)
за капсулу органа	0	2 (12,5%)	2 (8,7%)
не установлено, pTx	0	0	0
локальное, N1:	3 (42,9%)	14 (87,5%)	17 (73,9%)
N1a	3 (42,9%)	7 (43,8%)	10 (43,5%)
N1b одностороннее	0	6 (37,5%)	6 (26,1%)
N1b двустороннее	0	1 (6,2%)	1 (4,3%)
органное (легкие), M1	0	1 (6,2%)	1 (4,3%)
Морфологические особенности:			
доминирующая архитектура:			
папиллярная	1 (14,3%)	8 (50,0%)	9 (39,1%)
фолликулярная	4 (57,1%)	7 (43,8%)	11 (47,8%)
солидная	2 (28,6%)	1 (6,2%)	3 (13,1%)
вариант карциномы:			
классический	2 (28,6%)	6 (37,5%)	8 (34,8%)
фолликулярный	3 (42,9%)	2 (12,5%)	5 (21,7%)
диффузно-склеротический (ДСВ)	0	2 (12,5%)	2 (8,6%)
монофокальный, ДСВ-подобный	0	2 (12,5%)	2 (8,6%)
высококлеточный	0	3 (18,8%)	3 (13,0%)
солидный	2 (28,6%)	1 (6,2%)	3 (13,0%)
Особенности роста:			
мультифокальный	0	0	0
инfiltrативный:			
внутриорганный (pT1–T2)	1 (14,3%)	2 (12,5%)	3 (13,0%)
рост за пределы капсулы (pT3)	3 (42,9%)	10 (62,5%)	13 (56,6%)
pTx	0	0	0
инкапсулированный (pT1, pT2, pTx)	3 (42,9%)	0	3 (13,0%)
ДСВ-вовлечение (pT1–pTx)	0	4 (25,0%)	4 (17,4%)
Особенности стромы:			
рассеянные очаги фиброза	4 (57,1%)	7 (43,8%)	11 (47,8%)
склероз междольковых перегородок	2 (28,6%)	4 (25,0%)	6 (26,1%)
массивные отложения в центре опухоли	0	4 (25,0%)	4 (17,2%)
инвазия кровеносных сосудов	4 (57,1%)	4 (25,0%)	8 (34,8%)
инвазия лимфатических сосудов	4 (57,1%)	14 (87,5%)	18 (78,3%)
Фооновая патология:			
аутоиммунный тиреоидит	0	0	0
фолликулярная аденома	0	0	0
узловой зоб	1 (14,3%)	0	1 (4,3%)
Период наблюдения, Me (min–max) [§] , мес.	170,0 (120,4–186,6)	84,3 (18,1–171,9)	99,3 (18,1–186,6)

П р и м е ч а н и е. M – среднее значение, SD – стандартное отклонение; Me – медиана (min–max – минимальное и максимальное значения). P – уровень значимости различий между группами; показаны достоверные данные. Те же обозначения в табл. 2.

диагностировано в год и четыре месяца, а спустя 14 лет и за два года до обнаружения рака щитовидной железы у девочки исключительно хирургическим путем излечена астроцитома мозжечкового угла. Таким образом, временной интервал от завершения лечения лимфом до верификации ПРЦЖ составил $8,6 \pm 2,7$ года (возраст от 5 до 13 лет). Для пациентов, страдавших лейкемией, установлен промежуток в $6,9 \pm 3,7$ года (возраст от 4 до 12 лет), при опухолях мягких тканей – $14,0 \pm 3,5$ года (возраст от 10 до 17 лет).

Сравнительная клинико-морфологическая характеристика «криптогенного» и «ятрогенного» ПРЦЖ представлена в табл. 2. Как видно из таблицы, если средний возраст пациентов на момент установления диагноза в изученных когортах был приблизительно одинаковым, то распределение пациентов по полу имело существенные различия. Доля лиц мужского пола в группе «ятрогенного» рака была статистически значимо выше, чем в группе «криптогенного» рака (56,5 и 20,4% соответственно; $P = 0,0006$). Зарегистрированы некоторые различия и в размере удаленной опухоли. Микрокарцинома чаще выявлялась при «ятрогенных», чем при «криптогенных» ПРЦЖ (14 и 56 наблюдений соответственно; $P = 0,0436$), что, возможно, объясняется регулярным посещением такими пациентами врачей, осуществляющих динамическое наблюдение в случае злокачественной опухоли, впервые выявленной в детском возрасте. В отличие от «криптогенной» при «ятрогенной» карциноме отмечена более высокая частота метастатического поражения ипсилатеральных лимфатических узлов шеи ($P = 0,0108$) и экстратиреоидной инвазии ($P = 0,0351$). Изучение распространенности сопутствующей (фоновой) патологии щитовидной железы у больных ПРЦЖ, имеющих различную этиологию, показало, что бессимптомный хронический тиреоидит обнаруживался только при «криптогенной» форме заболевания ($P = 0,0014$).

В табл. 3–5 приведены морфологические признаки, характеризующие pT-, pN- и pM-категории соответственно. Так, вне зависимости от этиологии для карцином, растущих внутри щитовидной железы (pT1-T2), характерна слабая выраженность либо отсутствие десмопластической реакции, в то время как для опухолей, распространяющихся за пределы капсулы органа, типичен массивный склерогиалиноз преимущественно центральных участков новообразования ($P = 0,0478$). Закономерно, что и размер узла ПРЦЖ при прорастании опухоли за пределы тиреоидной капсулы оказался больше, чем в случаях интратиреоидного роста ($P = 0,0102$). Следует отметить, что, хотя стадия pT3 определяется исходя из размера (свыше 40 мм) и прорастания за пределы щитовидной железы, у наших пациентов, даже в случаях замещения доли или долей разрастаниями карциномы, во всех наблюдениях, диагностированных как pT3, присутствовало экстратиреоидное распространение. Остальные выявленные достоверные различия менее существенны и связаны, скорее всего, с немногочисленной выборкой пациентов.

Анализ результатов, полученных при сравнительной клинико-морфологической характеристике «криптогенного» и «ятрогенного» рака, целесообразно начать с обсуждения дефиниций, используемых при сопоставлениях.

ПРЦЖ получил название вследствие характерной способности к новообразованию сосочковых структур, соединительнотканые стержни которых пронизаны мелкими кровеносными и лимфатическими сосудами. Среди особенностей гистоархитектоники можно указать частое сочетание классических папиллярных формирований с зонами фолликулярного и солидного строения, причем нередко встречаются карциномы, где сосочки полностью отсутствуют. Классификация ПРЦЖ строится на различных принципах. На основании особенностей архитектуры выделяют сосочковый, фолликулярный, солидный (солидно-альвеолярный), а также смешанные варианты строения [10]. Первый и последний из них наиболее распространены и соответствуют классическому описанию. Второй и третий наблюдаются гораздо реже и имеют некоторые особенности диагностики. Например, фолликулярный вариант ПРЦЖ верифицируется в следующих случаях: 1) аденоматозные (микро-, средне- и макропузырьковые) структуры составляют не менее 75% опухолевой ткани (могут наблюдаться довольно обширные участки солидно-альвеолярного строения, но истинные сосочки не присутствуют); 2) опухолевые фолликулы выстланы характерными клетками, в которых контуры ядра подчеркнуты (в отличие от малозаметной цитоплазматической мембраны), ядрышко фиксировано к ядерной оболочке, хроматин рассыпается [11]. В карциномах с инфильтрирующим ростом выражены все патогномные кариологические признаки, что позволяет легко отличить фолликулярный вариант

Т а б л и ц а 2. Сравнительная клинико-морфологическая характеристика «криптогенного» и «ятрогенного» рака

Параметр	«Криптогенный» рак (n = 147)	«Ятрогенный» рак (n = 23)	P
Демографические показатели: возраст (M ± SD), лет соотношение по полу (ж/м)	14,3 ± 2,9 3,9/1	14,5 ± 3,0 0,8/1	0,0006
Макроскопическое описание: размер опухоли, Me (min–max), мм 1–10 мм ≥ 11 мм	12,0 (1–100) 56 (38,1%) 91 (61,9%)	10,0 (3–50) 14 (60,9%) 9 (39,1%)	0,0436
Локализация в органе (вид на срезе): под капсулой внутри доли перешеек	89 (60,5%) 45 (30,6%) 13 (8,9%)	16 (69,6%) 5 (21,7%) 2 (8,7%)	
Распространение опухоли: местное, N0: внутри органа за капсулу органа не установлено, pTx локальное, N1 N1a N1b одностороннее N1b двустороннее органное (легкие), M1	42 (28,2%) 25 (17,0%) 8 (5,4%) 9 (6,2%) 105 (71,4%) 26 (17,7%) 58 (39,4%) 21 (14,3%) 8 (5,4%)	6 (26,1%) 4 (17,4%) 2 (8,7%) 0 17 (73,9%) 10 (43,5%) 6 (26,1%) 1 (4,3%) 1 (4,3%)	0,0108
Морфологические особенности: доминирующая архитектура: папиллярная фолликулярная солидная вариант карциномы: классический фолликулярный диффузно-склеротический (ДСВ) монофокальный, ДСВ-подобный высококлеточный солидный онкоцитарный	60 (40,8%) 55 (37,4%) 32 (21,8%) 60 (40,8%) 28 (19,0%) 8 (5,4%) 13 (8,9%) 20 (13,6%) 17 (11,6%) 1 (0,7%)	9 (39,1%) 11 (47,8%) 3 (13,1%) 8 (34,8%) 5 (21,7%) 2 (8,6%) 2 (8,6%) 3 (13,0%) 3 (13,0%) 0	
Особенности роста: мультифокальный инfiltrативный: внутриорганный (pT1–T2) рост за пределы капсулы (pT3) pTx инкапсулированный (pT1, pT2, pTx) ДСВ-вовлечение (pT1–pTx)	4 (2,7%) 36 (24,5%) 48 (32,7%) 23 (15,6%) 19 (12,9%) 21 (14,3%)	0 3 (13,0%) 13 (56,5%) 0 3 (13,0%) 4 (17,2%)	0,0351
Особенности стромы: рассеянные очаги фиброза склероз междольковых перегородок массивные отложения в центре опухоли инвазия кровеносных сосудов инвазия лимфатических сосудов	84 (57,1%) 18 (12,2%) 42 (28,5%) 30 (20,4%) 119 (80,9%)	11 (47,8%) 6 (26,1%) 4 (17,2%) 8 (34,8%) 18 (78,3%)	
Фооновая патология: аутоиммунный тиреоидит фолликулярная аденома узловой зоб	41 (27,9%) 3 (2,0%) 3 (2,0%)	0 0 1 (4,3%)	0,0014
Период наблюдения, Me (min–max), мес.	67,7 (31,0–304,6)	99,3 (18,1–186,6)	0,0070

Т а б л и ц а 3. Морфологические изменения, характерные для интратиреоидного и экстратиреоидного роста «криптогенного» и «ятрогенного» рака

Индивидуальные особенности карциномы	Интратиреоидные карциномы Т1&Т2		P	Экстратиреоидные карциномы Т3&Т4		P
	«криптогенный» рак (n = 54)	«ятрогенный» рак (n = 6)		«криптогенный» рак (n = 59)	«ятрогенный» рак (n = 17)	
Размер опухоли ≥ 11 мм	24 (44,4%)	3 (50,0%)		42 (71,2%)	6 (35,3%)	0,0102
Локализация в органе (вид на срезе):						
под капсулой	29 (53,7%)	3 (50,0%)		40 (67,9%)	13 (76,4%)	
внутри доли	22 (40,7%)	3 (50,0%)		11 (18,6%)	2 (11,8%)	
перешеек	3 (5,6%)	0		8 (13,5%)	2 (11,8%)	
Доминирующая архитектура:						
папиллярная	27 (50,0%)	3 (50,0%)		20 (33,9%)	6 (35,3%)	
фолликулярная	21 (38,9%)	3 (50,0%)		24 (40,7%)	8 (47,0%)	
солидная	6 (11,1%)	0		15 (25,4%)	3 (17,7%)	
Вариант карциномы:						
классический	27 (50,0%)	3 (50,0%)		20 (34,0%)	5 (29,2%)	
фолликулярный	12 (22,2%)	3 (50,0%)		11 (18,6%)	2 (11,8%)	
диффузно-склеротический (ДСВ)	0	0		8 (13,5%)	2 (11,8%)	
монофокальный (ДСВ-подобный)	3 (5,6%)	0		3 (5,1%)	2 (11,8%)	
высококлеточный	8 (14,8%)	0		8 (13,5%)	3 (17,7%)	
солидный	4 (7,4%)	0		9 (15,3%)	3 (17,7%)	
Особенности роста:						
инфильтративный	36 (66,7%)	3 (50,0%)		48 (81,4)	13 (76,5%)	
инкапсулированный	15 (27,7%)	3 (50,0%)		0	0	
ДСВ-вовлечение	3 (5,6%)	0		11 (18,6%)	4 (23,5%)	
Фиброз:						
рассеянные очаги	35 (64,8%)	1 (16,7%)	0,0333	26 (44,1%)	10 (58,8%)	
склероз междольковых перегородок	9 (16,7%)	2 (33,3%)		4 (6,8%)	4 (23,5%)	
массивный	8 (14,8%)	1 (16,7%)		28 (47,4%)	3 (17,7%)	0,0478
нет	2 (3,7%)	2 (33,3%)	0,0463	1 (1,7%)	0	
Инвазия кровеносных сосудов	6 (11,1%)	2 (33,3%)		21 (35,6%)	6 (35,3%)	
Инвазия лимфатических сосудов	33 (61,1%)	2 (33,3%)		59 (100,0%)	16 (94,1%)	
Псаммумы:						
интратуморозно	6 (11,1%)	1 (16,7%)		3 (5,1%)	0	
перитуморозно	1 (1,9%)	1 (16,7%)		8 (13,5%)	1 (5,9%)	
внутрижелудочная диссеминация	23 (42,6%)	2 (33,3%)		40 (67,9%)	13 (76,4%)	
нет	24 (44,4%)	2 (33,3%)		8 (13,5%)	3 (17,7%)	
Внутриопухолевая иммунная реакция:						
фолликулярная гиперплазия	9 (16,7%)	0		14 (23,7%)	4 (23,5%)	
единичный лимфоциты	32 (59,3%)	5 (83,3%)		30 (50,8%)	12 (70,6%)	
Фоновый аутоиммунный тиреоидит	12 (22,2%)	0		12 (20,3%)	0	

ПРЦЖ от фолликулярного рака и прочих опухолей и опухолеподобных заболеваний, в структуре которых доминирует аденоматозный компонент.

В случае диагностики солидного варианта ПРЦЖ также необходимо ориентироваться на вышеописанные классические изменения в ядрах опухолевых клеток [10], а соответствующий структурный компонент (в зависимости от толщины и направления прослоек соединительной ткани опухолевые клетки формируют трабекулы или альвеолы) должен составлять не менее 90–95% объема узла. Важно отметить, что небольшая часть карциномы может быть представлена участками фолликулярного строения и/или плотноупакованными сосочками.

Переходя от тканевого к клеточному уровню диагностики, можно классифицировать папиллярные карциномы по способности цитоплазмы окрашиваться гематоксилином и эозином (светло- и оксифильноклеточный варианты), а также по ядерно-цитоплазматическому соотношению (высоко- и столбчатоклеточный варианты).

Т а б л и ц а 4. Морфологические изменения, ассоциированные с состоянием регионарных лимфатических узлов шеи при «криптогенном» и «ятрогенном» раке

Морфологические параметры	pN-категория		P	pN-категория		P
	N0			N1		
	«криптогенный» рак (n = 42)	«ятрогенный» рак (n = 6)		«криптогенный» рак (n = 105)	«ятрогенный» рак (n = 17)	
Размер опухоли ≥ 11 мм	23 (54,8%)	4 (66,7%)		68 (64,8%)	6 (35,3%)	0,0310
Локализация в органе (вид на срезе):						
под капсулой	24 (57,1%)	4 (66,7%)		65 (61,9)	12 (70,5)	
внутри доли	17 (40,5%)	2 (33,3%)		28 (26,7)	3 (17,7)	
перешеек	1 (2,4%)	0		12 (11,4)	2 (11,8)	
Доминирующая архитектура:						
папиллярная	10 (23,8%)	3 (50,0%)		50 (46,3%)	6 (35,3%)	
фолликулярная	23 (54,8%)	3 (50,0%)		32 (30,6%)	8 (47,0%)	
солидная	9 (21,4%)	0		23 (23,1%)	3 (17,7%)	
Вариант карциномы:						
классический	12 (28,6%)	2 (33,3%)		48 (45,8%)	5 (29,2%)	
фолликулярный	15 (35,7%)	3 (50,0%)		13 (12,4%)	2 (11,8%)	
диффузно-склеротический (ДСВ)	0	0		8 (7,6%)	2 (11,8%)	
монофокальный, ДСВ-подобный)	1 (2,4%)	0		12 (11,4%)	2 (11,8%)	
высококлеточный	8 (19,0%)	1 (16,7%)		12 (11,4%)	3 (17,7%)	
солидный	5 (11,9%)	0		12 (11,4%)	3 (17,7%)	
онкоцитарный	1 (2,4%)	0		0	0	
Особенности роста:						
инфильтративный	25 (59,5%)	3 (50,0%)		82 (78,1%)	13 (76,5%)	
инкапсулированный	16 (38,1%)	3 (50,0%)		3 (2,9%)	0	
ДСВ-вовлечение	1 (2,4%)	0		20 (19,0%)	4 (23,5%)	
Фиброз:						
рассеянные очаги	26 (62,0%)	3 (50,0)		58 (55,2)	10 (58,8)	
склероз междольковых перегородок	5 (11,8%)	2 (33,3%)		13 (12,4%)	4 (23,5%)	
массивный	10 (23,8)	0		32 (30,5%)	3 (17,7%)	
нет	1 (2,4%)	1 (16,7%)		2 (1,9%)	0	
Инвазия кровеносных сосудов	4 (9,5%)	2 (33,3%)		26 (24,8%)	6 (35,3%)	
Инвазия лимфатических сосудов	15 (35,7%)	2 (33,3%)		104 (99,0%)	16 (94,1%)	
Псаммумы:						
интратумарозно	5 (11,8%)	3 (16,7%)		7 (6,6%)	0	
перитумарозно	1 (2,4%)	0 (16,7%)		9 (8,6%)	2 (11,8%)	
внутрижелудочная диссеминация	9 (21,4%)	2 (33,3%)		74 (70,5%)	13 (76,4%)	
нет	27 (64,4%)	1 (33,3%)		15 (14,3%)	2 (11,8%)	
Внутриопухольная иммунная реакция:						
фолликулярная гиперплазия	1 (2,4%)	0		29 (27,6%)	4 (23,5%)	
единичный лимфоциты	26 (61,9%)	6 (100,0%)		46 (43,8%)	12 (70,6%)	
Фоновый аутоиммунный тиреоидит	13 (30,9%)	0		28 (26,7%)	0	0,0118

Высококлеточный вариант, как видно из названия, представлен специфическими элементами цилиндрической формы, в которых ядра располагаются преимущественно базально и содержат крупные эозинофильные цитоплазматические псевдовключения. Таких клеток в опухоли должно быть не менее 50% [12]. У взрослых карцинома с таким клеточным составом имеет, как правило, папиллярную архитектуру, но у детей преобладают солидные структуры.

Наконец, ПРЦЖ разделяется по принципу распространенности в доле или в органе в целом. Исходя из этого, в клинической и морфологической практике принято выделять многоузловые, мультифокальные и диффузные формы, а также микрокарциному.

Под «диффузными» вариантами ПРЦЖ понимается особая биологическая агрессивность неоплазмы, когда карцинома растет преимущественно в просвете лимфатических сосудов и очевидного «первичного» узла может и не наблюдаться. Либо имеет место неограниченное распространение опухоли, не вызывающее при этом никакой реакции со стороны щитовидной железы

Т а б л и ц а 5. Морфологические изменения, ассоциированные с отсутствием и наличием метастазов в легких при «криптогенном» и «ятрогенном» раке

Морфологические параметры	pM-категория		P	pM-категория		P
	M0			M1		
	«криптогенный» рак (n = 142)	«ятрогенный» рак (n = 22)		«криптогенный» рак (n = 5)	«ятрогенный» рак (n = 1)	
Размер опухоли ≥ 11 мм	86 (60,6%)	8 (36,4%)	0,0387	5 (100,0%)	1 (100,0%)	
Локализация в органе (вид на срезе):						
под капсулой	87 (61,3%)	16 (72,7%)		2 (40,0%)	0	
внутри доли	44 (31,0%)	4 (18,2%)		1 (20,0%)	1 (100,0%)	
перешеек	11 (7,7%)	2 (9,1%)		2 (40,0%)	0	
Доминирующая архитектура:						
папиллярная	59 (41,5%)	9 (40,9%)		1 (20,0%)	0	
фолликулярная	54 (38,0%)	10 (45,5%)		1 (20,0%)	1 (100,0%)	
солидная	29 (20,4%)	3 (13,6%)		3 (60,0%)	0	
Вариант карциномы:						
классический	59 (41,5%)	8 (36,4%)		1 (20,0%)	0	
фолликулярный	27 (19,0%)	5 (22,8%)		1 (20,0%)	0	
диффузно-склеротический (ДСВ)	7 (4,9%)	1 (4,5%)		1 (20,0%)	1 (100,0%)	
монофокальный (ДСВ-подобный)	13 (9,2%)	2 (9,1%)		0	0	
высококлеточный	20 (14,1%)	3 (13,6%)		0	0	
солидный	15 (10,6%)	3 (13,6%)		2 (40,0%)	0	
онкоцитарный	1 (0,7%)	0		0	0	
Особенности роста:						
инфильтративный	103 (72,5%)	16 (72,8%)		4 (80,0%)	0	
инкапсулированный	19 (13,4%)	3 (13,6%)		0	0	
ДСВ-вовлечение	20 (14,1%)	3 (13,6%)		1 (20,0%)	1 (100,0%)	
Фиброз:						
рассеянные очаги	82 (57,7%)	10 (45,5%)		2 (40,0%)	1 (100,0%)	
склероз междольковых перегородок	18 (12,7%)	6 (27,3%)		0	0	
массивный	39 (27,5%)	4 (18,2%)		3 (60,0%)	0	
нет	3 (2,1%)	2 (9,1%)		0	0	
Инвазия кровеносных сосудов	26 (18,3%)	8 (36,4%)		4 (80,0%)	0	
Инвазия лимфатических сосудов	114 (80,3%)	18 (81,8%)		5 (100,0%)	1 (100,0%)	
Псаммомы:						
интратуморозно	11 (7,7%)	0		1 (20,0%)	0	
перитуморозно	10 (7,0%)	2 (9,1%)		0	0	
внутрижелудочная диссеминация	79 (55,6%)	14 (63,6%)		4 (80,0%)	1 (100,0%)	
нет	42 (29,7%)	6 (27,3%)		0	0	
Внутриопухольная иммунная реакция:						
фолликулярная гиперплазия	28 (19,7%)	3 (13,6%)		2 (40,0%)	1 (100,0%)	
единичный лимфоциты	69 (48,6%)	17 (77,3%)	0,0201	3 (60,0%)	0	
Фоновый аутоиммунный тиреоидит	41 (28,9%)	0	0,0013	0	0	

(фиброз, мононуклеарная инфильтрация, псаммомные тельца полностью отсутствуют при диффузно-узловом (мультинодулярном) фолликулярном варианте). В первые годы после аварии на Чернобыльской АЭС, когда уровень заболеваемости детей раком щитовидной железы начал расти, отечественные патологоанатомы столкнулись с проблемой классификации ПРЩЖ. Самой распространенной ошибкой было наименование фолликулярного варианта сосочковой карциномы фолликулярным раком. Солидные участки или солидное строение опухоли считались признаком снижения дифференцировки. А обнаружение плоскоклеточных изменений «свидетельствовало» в пользу диффузно-склеротического варианта ПРЩЖ. Действительно, для этой формы сквамозная метаплазия – один из ключевых признаков, но далеко не главный. Даже распространение карциномы на одну либо обе доли и выраженные склеротические изменения не столь важны. И при других вариантах папиллярного рака может наблюдаться тотальное или субтотальное замещение доли (долей) щитовидной железы опухолевой тканью, а фиброзирование выражено

до такой степени, что в полях зрения на малом увеличении не встречается ни одного комплекса карциномы. Кроме того, плоскоклеточная метаплазия в виде мелких или распространенных фокусов отмечается довольно часто при доброкачественных и злокачественных новообразованиях из фолликулярных клеток щитовидной железы или даже органично вписывается в гистологическую картину (при крибриформно-морулярном строении). Не имеет специфики и мононуклеарная инфильтрация, развивающаяся либо в ответ на инфильтрирующий рост опухоли, либо наблюдаемая в тех случаях, когда карцинома развилась на фоне аутоиммунного тиреоидита. Но вот что действительно важно для диагностики диффузно-склеротического варианта ПРЦЖ – это огромное количество псаммомных телец и сохранившиеся комплексы карциномы между ними [13, 14]. В ряде наблюдений эти скопления локализуются либо в просвете расширенных лимфатических сосудов, либо между долек щитовидной железы.

Определенные трудности возникают при попытке провести дифференциальную диагностику мультифокального роста. Некоторые патологи к таковому предлагают относить как независимо развивающиеся очаги ПРЦЖ, так и мелкие отсевы (лимфогенные диссеминаты) из более крупного и явно злокачественного узла [10], что часто наблюдается, например, при новообразованиях в детском и юношеском возрасте, а также у молодых взрослых (до 40 лет). По нашему мнению, различная архитектура в ограниченных очагах карциномы и/или инфильтрирующий рост с десмопластической ответной реакцией на инвазию окружающих тканей в большинстве случаев позволяют с уверенностью говорить о мультифокальном росте даже без проведения дополнительных молекулярных исследований.

Наконец, заслуживает внимания и диагностика минимального экстраиреоидного распространения. Некоторые морфологи полагают, что врастание опухолевых комплексов в жировую клетчатку нельзя считать маркером прорастания капсулы щитовидной железы, поскольку существование таковой весьма условно [15]. Однако большинство склоняется к мнению, что минимальным экстраиреоидным распространением можно назвать инфильтрацию опухолевыми комплексами и/или псаммомными тельцами как жировой ткани, так и мышц [20].

Бытует представление, что радиогенный и криптогенный папиллярный рак ничем не отличаются по фенотипу, но распределение вариантов сосочковой карциномы в обеих группах несколько разнится. Например, украинские и российские исследователи, изучавшие развитие техногенного (постчернобыльского) рака у детей и подростков, отмечали, что фолликулярный (фолликулярно-солидный) вариант встречается гораздо чаще, чем прочие [1]. В противоположность этому при спорадическом раке доминирует карцинома классического строения [16, 18]. Некоторые исследователи утверждают, что в возрастной когорте до 18 лет включительно чаще прочих встречается диффузно-склеротический вариант [13]. По нашим данным (см. табл. 2), у белорусских детей и подростков с тиреоидной карциномой независимо от этиологии заболевания на первом месте по частоте всегда находится классический вариант папиллярного рака.

Пациенты, получавшие лечение по поводу лимфомы Ходжкина, составили 40,1% от всех наблюдений «ятрогенной» карциномы. Дети заболели в возрасте до 7 лет, когда у мальчиков данная опухоль возникает гораздо чаще, чем у девочек (по нашим данным, 6 мальчиков и 3 девочки). И в обоих случаях неходжкинской лимфомы также болели лица мужского пола. В конечном итоге соотношение полов, характерное для первого процесса, предопределило доминирование мужчин в группе пациентов с индуцированным раком. Интересно, что в работе S. Acharya и соавт. (2003) из 33 пациентов с подтвержденным радиогенным анамнезом у 18 диагностировалась болезнь Ходжкина, еще у 10 – неходжкинская лимфома и еще у троих – лейкомия, но половое соотношение было 2,3:1 в пользу женщин. Точный возраст, в котором развилась первая злокачественная опухоль, не приводится (дается медиана – 12 лет и интервал – от 3,7 до 18,3 года), а кроме того, согласно приведенным в работе данным, рак щитовидной железы обнаруживался в промежутке от 6,2 до 30,1 года [5].

Остальные параметры, по которым установлены различия между неодинаковыми по этиологии формами ПРЦЖ, напрямую связаны с признаками морфологической агрессивности. Способность прорасти за пределы капсулы железы в большей степени присуща «ятрогенному» раку, а не «криптогенному» (56,5 и 32,7% соответственно; $P = 0,0351$). Фоновая патология распространена у больных «криптогенной» папиллярной карциномой (у 47 (31,9%) из 147 пациен-

тов). Обращает на себя внимание отсутствие тиреоидита у пациентов с «ятрогенной» карциномой при снижении выраженности моноклеарной реакции в ответ на рост опухоли, что, вероятно, связано с последствиями химиолучевого лечения. Высокая частота аутоиммунного тиреоидита (27,9%) вновь поднимает вопрос о том, что возникает первично: рак на фоне хронического воспалительного процесса либо наблюдаемые патологоанатом в операционном материале изменения, которые надо интерпретировать с точки зрения опухоли-ассоциированной иммунной реакции [19]. В то же время показана положительная роль хронического воспаления для риска развития органных метастазов (табл. 5), что может быть связано как с перестройкой стромы и механическими преградами на пути опухолевых комплексов, так и со специфическими противоопухолевыми иммунными реакциями.

Заключение. По результатам проведенных нами исследований выявлено несколько показателей, которые указывают на морфологические особенности папиллярного рака у пациентов с радиогенным анамнезом. По-видимому, необходимо продолжение исследований для поиска сходств и различий между ПРЩЖ, вызванным наружным и внутренним облучением, что даст возможность корректировать лечебную тактику с учетом индивидуальных этиологических особенностей карциномы.

Статья подготовлена в рамках проекта В-1910 Международного научно-технического центра.

За возможность работы с базами данных и консультативную помощь авторы выражают глубокую признательность сотрудникам Республиканского научно-практического центра детской онкологии и гематологии: руководителю О. В. Алейниковой, зав. отделением клинико-эпидемиологического анализа А. А. Зборовской, а также сотрудницам этого подразделения А. И. Змитрович и Л. Н. Лукашевич.

Литература

1. Li Volsi V. A., Abrosimov A. A., Bogdanova T. et al. // Clin. Oncol. 2011. Vol. 23. P. 261–267.
2. Demidchik Y. E., Demidchik E. P., Reiners C. et al. // Ann. of Surg. 2006. Vol. 243, N 4. P. 525–532.
3. Williams E. D., Abrosimov A. A., Bogdanova T. et al. // Br. J. Cancer. 2004. Vol. 90. P. 2219–2224.
4. Савва Н. Н. Злокачественные заболевания у детей Республики Беларусь: заболеваемость, выживаемость, смертность, паллиативная помощь. Минск, 2008.
5. Acharya S., Sarafoglou K., La Quaglia M. et al. // Cancer. 2003. Vol. 97, N 10. P. 2397–2403.
6. Naing S., Collins B. J., Schneider A. B. // Thyroid. 2009. Vol. 19, N 5. P. 479–485.
7. Seaberg R. M., Eski S., Freeman J. L. // Intern. J. of Surg. Pathol. 2005. Vol. 13, N 3. P. 291–294.
8. Taylor A. J., Croft A. P., Palace A. M. et al. // Intern. J. Cancer. 2009. Vol. 125, N 10. P. 2400–2405.
9. De Lellis R. A., Lloyd R. V., Heitz P. U., Eng C. World Health organization classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of endocrine organs. Lyon, 2004.
10. Li Volsi V. A. // Mod. Pathol. 2011. Vol. 24. P. S1–S9.
11. Rivera M., Ricarte-Filho J., Knauf J. et al. // Mod. Pathol. 2010. Vol. 23. P. 1191–1200.
12. Morris L. G., Shaha A. R., Tuttle R. M. et al. // Thyroid. 2010. Vol. 20, N 2. P. 153–158.
13. Koo J., Hong S., Park C. // Thyroid. 2009. Vol. 19, N 11. P. 1225–1231.
14. Sheu S. Y., Schwertheim S., Worm K. et al. // Mod. Pathol. 2007. Vol. 20, N 7. P. 779–787.
15. Mete O., Rotstein L., Asa S. L. // Ann. Surg. Oncol. 2010. Vol. 17. P. 386–391.
16. Grigsby P. W., Gal-or A., Michalski J., Doherty G. M. // Cancer. 2002. Vol. 95, N 4. P. 724–729.
17. Harach H. R., Williams E. D. // Br. J. Cancer. 1995. Vol. 72. P. 777–783.
18. O’Gorman C. S., Hamilton J., Rachmiel M. et al. // Thyroid. 2010. Vol. 20, N 4. P. 375–380.
19. Guarino V., Castellone M. D., Avilla E., Melillo R. M. // Molec. and Cell. Endocrin. 2010. Vol. 321. P. 94–102.
20. Ghossein R., Asa S. L., Barnes L. et al. // Protocol. web posting date: October 2009 – www.cap.org.

M. V. FRIDMAN, N. N. SAVVA, S. V. MANKOVSKAYA, I. P. ROMASHEVSKAYA, Yu. DEMIDCHIK

RETROSPECTIVE ANALYSIS OF “IATROGENIC” AND “CRYPTOGENIC” CHILD AND ADOLESCENT PAPILLARY THYROID CARCINOMA

Summary

The retrospective analysis was performed to compare the clinical and morphological data of “iatrogenic” and “cryptogenic” papillary thyroid carcinoma in children and adolescents. It is established that contrary to the “cryptogenic” carcinoma, “iatrogenic” cancer was more often diagnosed in males and characterized by the increased propensity for extrathyroidal extension, tendency to metastasize to ipsilateral lymph nodes and by the absence of background thyroiditis.

УДК 616.831-005.8:616-092.18

Л. Н. АНАЦКАЯ¹, Н. В. ГОНЧАРОВА², М. П. ПОТАПНЕВ², Н. И. ЩЕРБИНА¹,
Л. И. МАТУСЕВИЧ¹

РОЛЬ ЦИРКУЛИРУЮЩИХ ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫХ ПРОГЕНИТОРНЫХ КЛЕТОК И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОГО ФАКТОРА РОСТА В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ЛАКУНАРНЫХ ИНФАРКТОВ МОЗГА ПРИ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ МИКРОАНГИОПАТИИ

¹Республиканский научно-практический центр неврологии и нейрохирургии, Минск, Беларусь,

²Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий,
Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 04.04.2012)

Введение. Важным патогенетическим звеном в развитии лакунарных инфарктов мозга (ЛИМ) и хронических нарушений мозгового кровообращения (ХИМ) считается дисфункция эндотелия церебрального микроциркуляторного русла. Эндотелий артериол и пенетрирующих артерий чаще всего является органом-мишенью при артериальной гипертензии, сахарном диабете, дислипидемии и оксидантном стрессе, а также эффектором в патогенезе данных заболеваний [1–4].

Васкулярная система мозга в нормальных условиях стабильна, эндотелиоциты не пролиферируют и лишь изредка (1 раз в 7–10 лет) делятся. После ЛИМ неоваскуляризация зоны церебральной ишемии может осуществляться по одному из трех путей: васкулогенез, ангиогенез и артериогенез [5–7].

Васкулогенез представляет собой эмбриональный путь развития кровеносных судов из эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК), мобилизованных из костного мозга в периферическую кровь, которые способны дифференцироваться в зрелые эндотелиоциты [8]. В ряде работ было установлено, что с повышением уровня ЭПК в периферической крови у пациентов отмечается статистически достоверно лучший функциональный исход инфаркта мозга (ИМ) [9, 10]. Терапевтический потенциал ЭПК, а именно улучшение перфузии и увеличение плотности капилляров в зоне ишемии, был подтвержден при изучении эффективности трансплантации ЭПК мышам с острым ишемическим поражением головного мозга [7, 11].

Ангиогенез – многоступенчатый процесс, включающий в себя миграцию ЭПК, мобилизованных из костного мозга в периферическую кровь; эндотелиально-клеточную пролиферацию с вовлечением зрелых эндотелиальных клеток *in situ*, образование кровеносного сосуда, его разветвление и формирование анастомозов [5–7]. Ангиогенез инициируется продукцией сосудистого эндотелиального фактора роста – vascular endothelial growth factor (VEGF) и экспрессией на ЭПК его рецепторов – vascular endothelial growth factor receptor-2 (VEGFR-2) [6]. ЭПК определяются в периферической крови как CD133⁺, CD34⁺ клетки. Васкулоэндотелиальный фактор роста (VEGF), оказывающий выраженное влияние на проницаемость сосудов и гематоэнцефалического барьера, является потенциальным митогеном для эндотелиоцитов [12, 13]. У пациентов с ИМ отмечено увеличение концентрации VEGF в сыворотке крови в первые 7–14 дней после ИМ [8, 13].

Рост новых сосудов детерминирован балансом между стимуляторами и ингибиторами ангиогенеза. Стимуляторами ангиогенеза кроме VEGF, фактора роста фибробластов (*fibroblast growth factors* (FGF)) и эпидермального фактора роста (*epidermal growth factor* (EGF)), являются также ангиогенин, тромбоцитарный фактор роста (*platelet-derived growth factor* (PDGF)), трансформи-

рующий фактор роста (transforming growth factor) α и β (TGF- α и TGF- β), оксид азота (NO) и интерлейкин-8 [6, 13, 14]. К ингибиторам ангиогенеза относятся эндостатин, рецептор VEGFR-1 и тромбоспондин [1, 6]. Ангиогенез может быть индуцирован повышением концентрации стимуляторов роста сосудов или снижением уровня их ингибиторов, а также их комбинацией.

Артериогенез представляет собой формирование коллатералей от уже существующих артериол после окклюзии ствола основной артерии, образование анастомозов или ремоделирование пострадавших артерий, после чего вновь сформированные сосуды переходят в стабильное состояние [5, 6]. В отличие от ангиогенеза, артериогенез активируется повышением компрессионного давления на стенку артерии за счет полной или частичной окклюзии ее просвета, а не гипоксией. ЭПК также участвуют в ремоделировании церебрального микрососудистого русла и обеспечивают противодействие постоянно действующим факторам риска, индуцирующим повреждение эндотелия [11].

Пролиферация эндотелиальных клеток в пограничной зоне ишемии начинается в первые 12–24 ч после инсульта, достигая своего пика через 48 ч и возвращаясь к исходному состоянию через 168 ч [11]. Продуцируемый ЭПК эндотелиальный сосудистый фактор роста также выполняет нейропротекторную и эндотелиопротекторную роль [14]. Рядом авторов высказывается предположение, что основная функция ЭПК – не формирование новых сосудов, а секреция VEGF, FGF, которые способствуют уже начавшемуся ангиогенезу [2, 15, 16]. Снижение концентрации VEGF связывают с недостаточным уровнем пролиферации эндотелиальных клеток капилляров и дегенерацией эндотелиоцитов, особенно в области ангиогенных ниш для нейрональных стволовых клеток (НСК). В свою очередь НСК также способствуют ангиогенезу. Так, НСК субгранулярной зоны зубчатой извилины высвобождают такие ангиогенные факторы, как ангиопоэтин, VEGFR-2 и фактор роста фибробластов [8, 16].

Ранее было показано, что снижение уровня циркуляции в крови ЭПК свидетельствует о высоком факторе риска развития сосудистых осложнений церебрального и коронарного атеросклероза. В то же время увеличение их концентрации в крови способствует поддержанию эндотелиального гомеостаза и неоваскулогенезу при острой ишемии головного мозга [8, 10]. У пациентов с высоким уровнем ЭПК и с более высокой концентрацией VEGF в периферической крови отмечен статистически достоверно лучший исход инсульта. Однако до последнего времени окончательно не установлена роль ЭПК и VEGF в остром периоде ЛИМ при церебральной микроангиопатии в зависимости от состояния мозговой гемодинамики.

Цель исследования – определить роль ЭПК и VEGF в остром периоде ЛИМ при церебральной микроангиопатии.

Материалы и методы исследования. Изучены клинические особенности, уровень ЭПК, VEGF, VEGFR-1 и VEGFR-2, эндотелина-1 у 30 пациентов (средний возраст $64 \pm 1,7$ года) с ЛИМ при церебральной микроангиопатии на фоне ХИМ в первые трое суток от начала заболевания и после курса лечения, госпитализированных в Больницу скорой медицинской помощи г. Минска. Группу контроля составили 10 здоровых доноров ГУ «Республиканский научно-практический центр трансфузиологии и медицинских биотехнологий».

Клинический диагноз ЛИМ устанавливался на основании данных анамнеза (наличия характерных факторов риска), характерных клинических признаков (лакунарных синдромов), результатов нейровизуализации (рентгеновской компьютерной или магнитно-резонансной томографии головного мозга) и зонаграфии (дуплексного сканирования и доплерографии магистральных артерий головы), осмотра сосудов глазного дна, позволяющих исключить другие патогенетические варианты инфаркта мозга.

Для идентификации ЭПК применяли комбинации поверхностных антиген-специфичных моноклональных антител (МКА) – CD31/CD34/CD146, CD31/CD34/CD144, CD31/CD34/KDR, CD31/CD34/FLT1, CD36/CD34, CD31/vWF/CD34, CD31/CD133/CD34, CD31/CD45/CD34, меченных флуоресцеин-5-изотиоцианатом (FITC), фикоэритрином (PE) и фикоэритрин-цианином 5 (PC5) соответственно (Beckman Coulter, Abcam, США), и вторичные антимишьяные МКА IgG₁-PE (Beckman Coulter, США) в рабочем разведении 1:1000 и антикроличьи IgG₁-PE (Abcam) в рабочем разведении 1:100 [17]. В качестве контроля аутофлуоресценции использовали неокрашенные монону-

клеарные клетки периферической крови (МПК); для изотипического контроля применяли подкласс иммуноглобулинов G₁ (IgG₁) – FITC/IgG₁-PE/IgG₁-PC5 (Beckman Coulter) либо вторичные антимышинные МКА IgG₁-PE (Beckman Coulter) в рабочем разведении 1:1000 и антикроличьи IgG₁-PE (Abcam) в рабочем разведении 1:100. В целях коррекции неспецифического связывания в образцы МПК вносили реагенты для блока Fc-рецепторов и смешивали с содержимым пробирок.

МПК выделяли из стабилизированной гепарином свежезаготовленной венозной крови путем лизирования эритроцитов специальным буфером (BD FACS Lysing Solution, Becton Dickinson, США).

Аналитическую цитометрию проводили на проточном цитофлуориметре FACScan (Becton Dickinson, США) с 15 мВт аргон-ионным лазером. Для возбуждения флуоресценции использовали монохроматический луч лазера с длиной волны 488 нм. Под углом 90° измеряли переднее (forward scattering – FSC) и боковое (side scattering – SSC) светорассеивание анализируемых клеток. Регистрацию данных и расчет процентного содержания маркированных клеток, характеризующего изучаемую популяцию, производили с использованием программного обеспечения SELLQuest Software (Becton Dickinson). Популяции ЭПК оценивали после выделения логического «гейта» лимфоцитов в Dot/Plot по их линейному (FSC) и боковому (SSC) светорассеиванию и по региону клеток CD34⁺ и CD31⁺. Степень чистоты популяции клеток составляла не менее 94%. В каждой пробе анализировали не менее 200 000 клеток.

Количественное определение содержания VEGF и эндотелина-1 в сыворотке крови проводили иммуноферментным методом с тест-наборами фирмы DRG (США) на анализаторе фирмы BioTek производства США. Забор крови из кубитальной вены осуществляли в первые трое суток после ЛИМ и через 10 дней от начала заболевания.

Для статистической обработки данных 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.

Результаты и их обсуждение. Средний показатель количества микроангиопатических факторов риска составил $2,3 \pm 0,8$, т. е. у большинства пациентов отмечалось сочетание двух факторов риска (табл. 1).

У 66,7% пациентов с ЛИМ клинические проявления заболевания развились на фоне недостаточности кровообращения головного мозга (табл. 2). Анализ показателей линейной скорости

Т а б л и ц а 1. Клинические и лабораторные данные у пациентов с ЛИМ при церебральной микроангиопатии

Признак	Основная группа (n = 30)
Факторы риска, %:	
гиперлипидемия	63,3 (n = 19)
АГ II степени	66,7 (n = 20)
АГ III степени	30 (n = 9)
сахарный диабет	36,7 (n = 11)
сердечная недостаточность	66,7 (n = 20)
ИБС	76,7 (n = 23)
ХОБЛ	3,3 (n = 1)
Предшествующая ТИА, %	13,3 (n = 5)
Количество микроангиопатических факторов риска	$2,3 \pm 0,8$
Лабораторные данные (при поступлении):	
глюкоза, ммоль/л	$5,9 \pm 0,9^*$
холестерол, ммоль/л	$7,8 \pm 2,4^*$
триглицериды, ммоль/л	$2,4 \pm 1,3^*$
креатинин	$88,8 \pm 19,5$
Балл по шкале NIHSS:	
при поступлении	$3,1 \pm 1,1$
при выписке	$1,2 \pm 0,9$

П р и м е ч а н и е. * – различия достоверны по сравнению с нормальными показателями, $P < 0,001$. ИБС – ишемическая болезнь сердца, ХОБЛ – хронические обструктивные болезни легких, ТИА – транзиторная ишемическая атака.

Таблица 2. Показатели линейной скорости кровотока при доплерографии магистральных артерий головы и транскраниальной доплерографии у пациентов с ЛИМ

Артерия	Показатель ЛСК, см/с	P
Общая сонная (66,7 ± 10,3)	56,1 ± 11,9*	0,004
Наружная сонная (68,2 ± 19,5)	73,7 ± 12,6	0,3
Внутренняя сонная (61,9 ± 14,2)	57,9 ± 8,1	0,3
Переднемозговая (56,8 ± 7,1)	49,0 ± 7,8*	0,002
Среднемозговая (66,7 ± 10,3)	55,4 ± 11,7*	0,002
Заднемозговая (49,5 ± 7,4)	37,9 ± 4,1	–
Позвоночная (20,0 ± 7,2)	37,1 ± 13,5	–
Основная (40,9 ± 10,5)	30,1 ± 22,7*	0,05

кровотока (ЛСК) в магистральных артериях головы и в артериях основания мозга по данным доплерографии (ДГ) и транскраниальной доплерографии (ТКДГ) показал, что ЛИМ развивался на фоне статистически достоверной цереброваскулярной недостаточности преимущественно в бассейнах среднемозговых, позвоночных и основной артерий (табл. 2).

При определении фенотипического профиля ЭПК периферической крови выявлена экспрессия следующих маркеров: CD31, CD146, CD34, KDR, FLT1, CD144, CD36, CD133 и vWF (табл. 3). Сравнительный анализ экспрессии маркеров ЭПК в периферической крови у пациентов с ЛИМ до лечения и у лиц группы контроля позволил выявить достоверное увеличение содержания клеток, несущих наиболее ранние маркеры ЭПК – CD34 и CD133 (0,88 ± 0,13 и 0,75 ± 0,06% соответственно; $P < 0,001$). После 7 дней лечения отмечено достоверное увеличение количества CD34⁺-клеток – до 1,87 ± 0,25% ($P < 0,001$). Количество клеток с экспрессией конститутивно связанного с эндотелием интегрина CD146 также достоверно возросло и составило 3,99 ± 0,23% ($P < 0,05$). После 7 дней лечения в 1,2–1,4 раза увеличилось количество клеток, несущих рецепторы VEGFR-1 (FLT1) и VEGFR-2 (KDR, $P < 0,05$), характерные для васкулярных эндотелиальных клеток, ЭПК и моноцитов. Установлено снижение в 1,3 раза содержания клеток, несущих VE-cadherin ($P < 0,001$). Количество ранних прогениторных клеток (CD133⁺) увеличилось в 2,1 раза (от 0,75 ± 0,06 до 1,59 ± 0,62%).

На рис. 1 представлено распределение ЭПК клеток периферической крови пациентов с ЛИМ и доноров, несущих дифференцировочные маркеры CD31, CD146, KDR, FLT1, CD144 и vWF. CD31 (platelet/endothelial cell adhesion molecule – PECAM-1) – наиболее поздно появляющийся маркер эндотелия. У пациентов с ЛИМ содержание циркулирующих в периферической крови CD31⁺-клеток, несущих vWF, FLT1, KDR и CD146 маркеры, увеличено относительно значений контроля как до, так и спустя 7 дней от начала терапии. Количество клеток с более ранним фенотипом CD31⁺CD144⁺ снижено, что, вероятно, связано с активным вовлечением данного типа кле-

Таблица 3. Экспрессия маркеров циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток в периферической крови у пациентов с ЛИМ при церебральной микроангиопатии, %

Популяционный состав ЭПК, %	Группа 1 (n = 30)	Группа 2 (n = 20)	Контроль (n = 10)
CD31 ⁺	46,21 ± 1,84	50,49 ± 0,69	52,52 ± 1,78
CD146 ⁺	2,95 ± 0,33	3,99 ± 0,23 ^{■*}	2,51 ± 0,51
CD34 ⁺	0,88 ± 0,13	1,87 ± 0,25 ^{■***}	0,45 ± 0,11
KDR ⁺	1,89 ± 0,26 ^{**}	2,70 ± 0,27 ^{■*}	4,03 ± 0,60
FLT1 ⁺	1,99 ± 0,32	2,34 ± 0,24	3,28 ± 0,56
CD144 ⁺	2,32 ± 0,31	1,78 ± 0,11 [*]	3,57 ± 0,80
CD36 ⁺	27,4 ± 2,33 [*]	36,60 ± 2,40 [■]	44,19 ± 5,15
CD133 ⁺	0,75 ± 0,06 ^{**}	1,59 ± 0,62	0,31 ± 0,09
vWF ⁺	3,52 ± 0,67	4,50 ± 0,74	3,21 ± 0,60

Примечание. * — достоверные различия между группами 1 и 2 и группой здоровых доноров, $P < 0,01$; ** — $P < 0,001$; ■ — достоверные различия между группами 1 и 2, $P < 0,05$; ■■ — $P < 0,001$

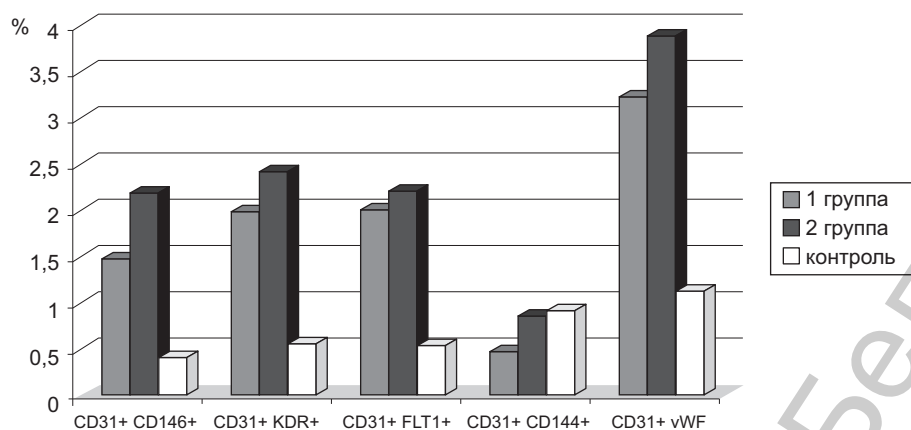


Рис. 1. Распределение клеток периферической крови по экспрессии эндотелиальных маркеров CD31, CD146, KDR, FLT1, CD144 и vWF. Группа 1 – пациенты с ЛИМ до лечения; группа 2 – после 7 дней лечения; контроль – группа здоровых доноров

ток в процесс созревания эндотелиоцитов для их участия в восстановлении поврежденных тканей.

Согласно полученным данным, отмечается увеличение содержания в периферической крови CD34⁺-клеток у больных с ЛИМ по сравнению с группой контроля (рис. 2). Структура популяции CD34⁺-клеток в периферической крови пациентов контрольной группы соответствует более зрелому фенотипу в связи с отсутствием факторов риска эндотелиальной дисфункции, тогда как структура эндотелиальной популяции у больных с ЛИМ несет признаки ранних стадий дифференцировки, обусловленной мобилизацией ЭПК из костного мозга и начавшимися процессами ангиогенеза. Фенотипический профиль ЭПК в структуре популяции CD34⁺ соответствовал ранее определенному фенотипу CD31⁺CD146⁺CD34⁺KDR⁺FLT1⁺CD144⁺CD133⁺vWF⁺ (табл. 4). После проведенной терапии уровни циркулирующих ЭПК с фенотипами CD34⁺CD31⁺KDR⁺ и CD34⁺CD31⁺FLT1⁺ достоверно увеличивались ($P < 0,05$). Один из самых ранних маркеров гемопоэтических прогениторных стволовых клеток CD133⁺ у пациентов с ЛИМ был повышен в 5,7 раза до лечения ($P < 0,001$) и в 7,9 раза после 7 дней терапии ($P < 0,001$).

Анализ популяции CD34⁺-клеток выявил, что содержание ЭПК в остром периоде ЛИМ колебалось от 6 до 16% ($6,41 \pm 0,72$ и $16,00 \pm 2,67\%$ для клеток с фенотипами CD34⁺CD31⁺CD133⁺ и CD34⁺CD31⁺CD144⁺ соответственно). После проведенного курса терапии количество ЭПК с фенотипом CD34⁺CD31⁺CD146⁺ увеличилось до $8,37 \pm 1,12\%$, а с фенотипом CD34⁺CD31⁺CD144⁺ – до $19,20 \pm 2,32\%$, т. е. определялась неравномерность экспрессии эндотелиальных маркеров. Так,

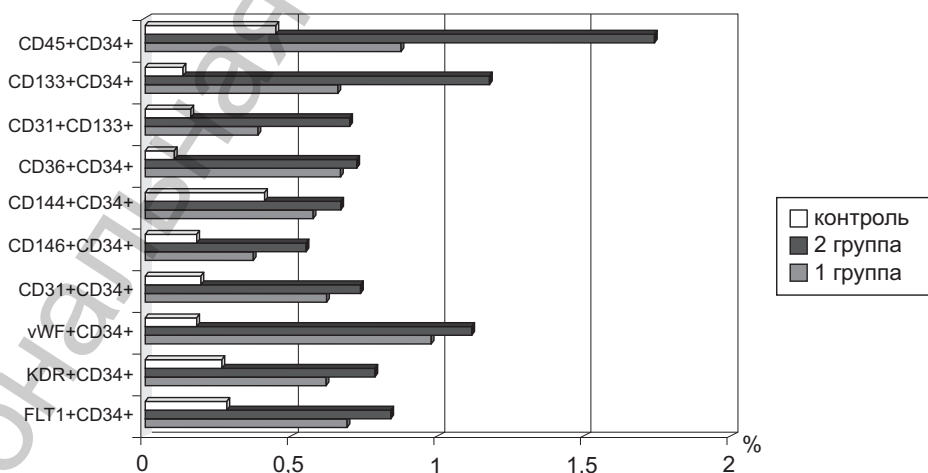


Рис. 2. Распределение клеток периферической крови по экспрессии CD34, CD45, CD133, CD36, CD31, CD146, KDR, FLT1, CD144 и vWF. Группа 1 – пациенты с ЛИМ до лечения; группа 2 – после 7 дней лечения; контроль – группа здоровых доноров

Таблица 4. Экспрессия маркеров циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток в периферической крови (в %) у больных с ЛИМ при церебральной микроангиопатии

Популяционный состав ЭПК, %	Группа 1 (n = 30)	Группа 2 (n = 20)	Контроль (n = 10)
CD34 ⁺ CD31 ⁺ CD146 ⁺	7,34 ± 1,46	8,37 ± 1,12	8,55 ± 0,17
CD34 ⁺ CD31 ⁺ KDR ⁺	8,81 ± 1,14**	14,81 ± 1,4 [■] ***	3,2 ± 0,28
CD34 ⁺ CD31 ⁺ FLT1 ⁺	10,65 ± 1,08**	16,04 ± 1,4 [■] ***	5,19 ± 0,14
CD34 ⁺ CD31 ⁺ CD144 ⁺	16,00 ± 2,67	19,20 ± 2,32*	10,5 ± 1,46
CD34 ⁺ CD31 ⁺ CD133 ⁺	6,41 ± 0,72***	8,93 ± 0,92***	1,13 ± 0,18
CD34 ⁺ CD31 ⁺ vWF ⁺	9,91 ± 1,70*	13,35 ± 1,64**	3,47 ± 0,77

Примечание. * – достоверные различия между группами 1 и 2 и группой здоровых доноров, $P < 0,05$; ** – $P < 0,01$, *** – $P < 0,001$; [■] – достоверные различия между группами 1 и 2, $P < 0,05$.

Таблица 5. Содержание сосудисто-эндотелиального фактора роста в сыворотке крови пациентов с ЛИМ при церебральной микроангиопатии до (группа 1) и после лечения (группа 2)

Группа пациентов	Значение VEGF, пг/мл		
	среднее	мах	мин
1 (n = 20)	30,4 (n = 1 (5%))	60,2	9,5 (n = 19 (95%))
2 (n = 20)	34,1 (n = 3 (15%))	101,3	8,8 (n = 17 (85%))

если первый и второй рецепторы VEGF (FLT1 и KDR) и vWF детектировались примерно на одном уровне от CD34-позитивных клеток (в первой группе – 9–11%, во второй – 13–16, в группе контроля – 3–5%), то уровень интегрина молекула S-Endo (CD146), которая обеспечивает блок адгезии эндотелиальных клеток, составил в первой группе 7%, во второй – 8% и в группе контроля – 9%. Наибольшая часть популяции ЭПК экспрессировала кальцийзависимую адгезивную молекулу VE-cadherin (CD144). Данная молекула обеспечивает образование капилляров и контролирует проницаемость сосудистого эндотелия. Полученные данные отражают структурную неоднородность популяции эндотелиальных стволовых клеток, находящихся на различных стадиях дифференцировки.

В первые трое суток ЛИМ показатели содержания VEGF были в пределах нормы только у 1 (5%) пациента, а у 19 (95%) – достоверно ниже нижней границы нормального диапазона, $P < 0,05$ (табл. 5). Нормальные границы значений VEGF у здоровых лиц находились в диапазоне от 50,0 до 700,0 пг/мл. После 7 дней лечения показатели VEGF в сыворотке крови в пределах нормальных значений отмечены только у 3 (15%) человек. У 17 пациентов (85%) концентрация VEGF оставалась достоверно ниже нижней границы нормального диапазона ($P < 0,05$).

Концентрация эндотелина-1 в сыворотке крови пациентов в остром периоде ЛИМ составила $1,8 \pm 1,1$ пг/мл и находилась в диапазоне от 0,1 до 3,98 пг/мл, при этом превышая в 5,1 раза нормальные значения (менее 0,35 фмоль/мл), что отражает выраженность вазоконстрикции и взаимосвязанной с ней церебральной гипоперфузии при ЛИМ. Полученные данные свидетельствуют также о тяжести течения АГ и о выраженности эндотелиальной дисфункции.

Заключение. В остром периоде ЛИМ на фоне ХИМ при церебральной микроангиопатии достоверные нарушения церебральной гемодинамики были обусловлены выраженной эндотелиальной дисфункцией, которая развилась при резком повышении уровня эндотелина-1. Ведущими маркерами эндотелиальной дисфункции явились дисрегуляция процессов ангиогенеза – низкий уровень в сыворотке крови сосудисто-эндотелиального фактора роста (VEGF) и его рецепторов – VEGFR-2 как в первые сутки ЛИМ, так и после лечения. Низкий уровень VEGF и VEGFR-2 на фоне резкого повышения эндотелина-1 может отражать уровень церебральной гипоперфузии, что определяет их эндотелиопротекторную роль за счет ингибирования апоптоза, а не ангиогенную, как предполагалось ранее. Неоднородность субпопуляционного состава ЭПК, находящихся на различных стадиях созревания, в периферической крови пациентов в острейшем периоде ЛИМ

также отражает хроническую эндотелиальную дисфункцию церебрального микроциркуляторного русла с перманентной эндотелиодеструкцией. Таким образом, проведенное исследование показало, что нарушение эндотелиального гомеостаза и системы ангиогенеза является одним из факторов прогрессирования церебральной микроангиопатии.

Литература

1. Birns J., Jarosz J., Markus H. S. et al. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 2009. Vol. 80. P. 1093–1098.
2. Knottnerus L. H., Govers-Riemslog J. W., Hamulyak K. // Stroke. 2010. Vol. 41. P. 1617–1622.
3. Knottnerus L. H., Cate H. T., Lodder J. et al. // Cerebrovasc. Dis. 2009. Vol. 27. P. 519–526.
4. Stevenson S. F., Doubal F. N., Shuler K. // Stroke. 2010. Vol. 41. P. e434–e442.
5. Beck H., Plate K. H. // Acta Neuropathol. 2009. Vol. 117, N 5. P. 481–496.
6. Font M. A., Arboix A., Krupinski J. // Curr. Cardiol. Rev. 2010. Vol. 6. P. 238–244.
7. Navaratna D., Guo S., Arai K. et al. // Cell Adhesion & Migration. 2009. Vol. 3, N 2. P. 216–223.
8. Zhang Z. G., Chopp M. // Eur. Neurol. Rev. 2011. Vol. 6, N 4. P. 246–248.
9. Milot M. H., Cramer S. C. // Curr. Opin. Neurol. 2008. Vol. 21. P. 654–659.
10. Schmidt-Lucke C., Ssig R., Fichtlscherer L. S. et al. // Circulation. 2005. Vol. 111. P. 2981–2987.
11. Young P. P., Vaughan D. E., Hatzopoulos A. K. // Prog. Cardiovasc. Dis. 2007. Vol. 49. P. 421–429.
12. Maharaj A. S., D'Amore P. A. // Microvasc. Res. 2007. Vol. 74, N 2–3. P. 100–113.
13. Narasimhan P., Liu J., Song Y. S. et al. // Stroke. 2009. Vol. 40. P. 1467–1473.
14. Orive G., Anitua E., Pedraz J. L., Emerich D. F. // Nat. Rev. Neurosci. 2009. Vol. 10, N 9. P. 682–692.
15. Fadini G. P., Miorin M., Facco M. et al. // J. Am. Coll. Cardiol. 2005. Vol. 45. P. 1449–1457.
16. Hagg T. // Neuroscientist. 2009. Vol. 15, N 1. P. 20–27.
17. George J., Shmilovich H., Deutsch V. et al. // Tissue Eng. 2006. Vol. 12. P. 331–335.

L. ANATSKAIA, N. GONCHAROVA, M. POTAPNEV, N. SHCHARBINA, L. MATUSEVICH

ROLE OF CIRCULATING ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS AND VASCULAR ENDOTHELIAL GROWTH FACTOR IN ACUTE LACUNAR STROKE RESULTING FROM CEREBRAL SMALL VESSELS DISEASE

Summary

This study was conducted in order to determine the relationship between levels of circulating endothelial progenitor cells (EPC), the vascular endothelial growth factor (VEGF), endothelin-1 and cerebral hemodynamics in acute lacunar infarctions (LI) resulting from the cerebral small vessel disease. The established subpopulation heterogeneity of EPC at different stages of maturation and the high level of endothelin-1 with a reduced cerebral blood flow in acute LI resulting from cerebral small vessels disease reflect a chronic endothelial dysfunction of cerebral small vessels leading to permanent endothelial destruction. A leading marker of endothelial dysfunction in acute LI was the dysregulation of angiogenesis, whereas VEGF performs the endothelioprotective function through the inhibition of apoptosis, but not the angiogenic one, as expected theoretically. These data coincide with the experimental results.

УДК 616.127-08:629.048.3

М. В. БАСАЛАЙ, В. Ч. БАРСУКЕВИЧ, А. Г. БУЛГАК, А. Г. МРОЧЕК

ЛОКАЛЬНОЕ И ДИСТАНТНОЕ ИШЕМИЧЕСКОЕ КОНДИЦИОНИРОВАНИЕ МИОКАРДА: ПОИСК ВОЗМОЖНОСТЕЙ КАРДИОПРОТЕКЦИИ

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

(Поступила в редакцию 02.05.2012)

Введение. В настоящее время болезни системы кровообращения, в частности ишемическая болезнь сердца (ИБС), являются важнейшей причиной смертности в промышленно развитых странах мира [1]. Широкое внедрение реперфузионной стратегии при острой коронарной недостаточности привело к существенному улучшению результатов лечения ИБС [1]. Вместе с тем имеются убедительные данные о том, что реперфузия ишемизированного миокарда сопровождается дополнительным негативным воздействием на кардиомиоциты, вызывая так называемое летальное реперфузионное повреждение [2, 3]. Таким образом, поиск новых кардиопротекторных методик относится к числу самых актуальных задач современной кардиологии.

Одним из наиболее эффективных способов защиты миокарда от ишемического/реперфузионного повреждения является локальное ишемическое прекондиционирование миокарда (ИПК). Данный феномен был открыт С. Е. Mungu и соавт. [4] более 25 лет назад в опытах на собаках. В силу воспроизводимости ИПК с использованием различных экспериментальных моделей и протоколов данный феномен в настоящее время служит «золотым стандартом» при поиске новых терапевтических воздействий, применяемых для ограничения размеров инфаркта миокарда. Ограничение необратимого повреждения миокарда у животных, подвергающихся перед длительным ишемическим периодом кратковременным ишемическим воздействиям, разделенным эпизодами реперфузии миокарда, достигает 50% и более [4, 5]. Однако возможности использования ИПК в клинике ввиду его инвазивности и необходимости точно знать время наступления ишемии миокарда ограничены кардиохирургической практикой [6–8]. Менее инвазивным, а следовательно, более приемлемым для широкого использования в клинической практике является дистантное ишемическое прекондиционирование (ДИПК) [9–12]. В экспериментальных и клинических исследованиях был продемонстрирован противоишемический эффект дистантной ишемии, осуществляемой в первые минуты после восстановления коронарного кровотока [2, 13]. Указанный феномен получил название дистантного ишемического посткондиционирования. Нами была показана эффективность окклюзии обеих бедренных артерий в ограничении ишемического и реперфузионного повреждения миокарда не только до начала ишемии, во время ишемии или в первые минуты реперфузии, но и через 10 мин после восстановления коронарного кровотока. Этот феномен получил название позднего дистантного ишемического посткондиционирования [14, 15]. Логически возникает вопрос о возможности потенцирования противоишемического эффекта при использовании различных ишемических воздействий в разное время по отношению к длительному периоду ишемии и реперфузии миокарда. С другой стороны, детальное изучение механизмов, лежащих в основе развития эффектов ишемического прекондиционирования миокарда, а также дистантного кондиционирования, позволит в конечном итоге синтезировать стабильный синтетический аналог эндогенных кардиопротекторных субстанций, образующихся в результате кратковременных ишемических эпизодов. Лекарственный препарат, созданный на основе этого синтетического аналога, будет основой новой терапевтической стратегии при остром инфаркте миокарда.

Цель настоящего исследования – оценить возможность потенцирования противоишемического эффекта при комбинированном воздействии позднего дистантного ишемического посткондиционирования с локальным или дистантным ишемическим прекондиционированием миокарда.

Материалы и методы исследования. Исследование было проведено на 40 белых нелинейных крысах-самцах массой 250–350 г. В качестве наркоза использовали этаминал натрия в дозе 50 мг/кг внутривенно с последующей внутривенной инфузией поддерживающей дозы 10 мг/кг·ч. Животных переводили на искусственное дыхание атмосферным воздухом через трахеостому с помощью аппарата искусственной вентиляции легких. При этом дыхательный объем поддерживали на уровне 8–10 мл/кг массы животного, частоту дыхания – на уровне 56–60 уд/мин. Наличие проходимости дыхательных путей контролировали по давлению в трахее, нормальным значением которого считалось 10–15 мм рт. ст. Для измерения артериального давления (АД) крысам канюлировали правую общую сонную артерию. Для оценки адекватности объема вентиляции легких животным проводили регулярное измерение рН, а также парциального напряжения O_2 и CO_2 в артериальной крови. В ходе экспериментов непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении и системное АД с помощью компьютерной программы Spike 4. Температуру тела поддерживали на уровне $37,0 \pm 0,2$ °С.

С целью доступа к сердцу выполняли торакотомию в четвертом межреберном промежутке. После вскрытия перикарда визуально определяли локализацию передней нисходящей коронарной артерии (ПНКА), под которую, в месте ее отхождения, с помощью асептической иглы (5–0) подводили тонкую полипропиленовую лигатуру. На оба конца лигатуры помещали пластиковую фишку, формируя скользящую петлю. После периода 15-минутной стабилизации крысам выполняли 30-минутную окклюзию ПНКА. Окклюзия артерии подтверждалась цианозом ишемизированной области, снижением среднего АД (AD_{cp}) на 10–20 мм рт. ст. и подъемом сегмента ST на ЭКГ. При наличии желудочковых нарушений ритма сердца (фибрилляции желудочков, пароксизмальной желудочковой тахикардии, парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии) на ЭКГ во время 30-минутной ишемии миокарда фиксировали их длительность. Реперфузия миокарда, которая составляла 120 мин, достигалась простым удалением фишки, подтверждалась исчезновением цианоза и снижением сегмента ST. Для идентификации зоны некроза использовали метод, основанный на определении активности дегидрогеназ, предложенный М. С. Fishbein и соавт. [16].

Для изучения противоишемического эффекта комбинированного воздействия позднего дистантного ишемического посткондиционирования с локальным прекондиционированием миокарда или дистантным ишемическим прекондиционированием было сформировано 6 групп животных (рис. 1). Животных первой группы (контроль; $n = 7$) подвергали только 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии (ОИМ) миокарда. Крысы опытных групп дополнительно подвергали воздействию локальной ишемии миокарда – три эпизода длительностью 3, 5 и 5 мин, разделенные между собой и отделенные от начала ОИМ 5-минутными интервалами реперфузии (ИПК; $n = 7$); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий за 25 мин до начала ишемии (ДИПК; $n = 7$); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий через 10 мин после окончания ишемии (ДИПостК10'; $n = 7$); комбинированному воздействию ИПК и ДИПостК10' ($n = 6$) либо комбинированному воздействию ДИПК и ДИПостК10' ($n = 6$).

Полученные результаты анализировали с использованием программного пакета GraphPad Prism (США). Статистическую значимость различий показателей гемодинамики (AD_{cp} и ЧСС), значений зон риска и зон некроза у животных изучаемых групп оценивали при помощи однофакторного дисперсионного анализа с использованием тестов множественных сравнений Данна и Бонферрони. Данные представлены в виде среднего \pm стандартной ошибки среднего. При сравнении длительности нарушений ритма у животных изучаемых групп использовали критерий Крускала–Уоллиса. Значения $P < 0,05$ рассматривали как достоверные.

Результаты и их обсуждение. Показатели гемодинамики (AD_{cp} и ЧСС) у животных всех экспериментальных групп представлены в таблице. Показатели AD_{cp} и ЧСС у крыс опытных и контрольной групп до начала эксперимента не различались между собой ($P > 0,05$). В ходе экспери-

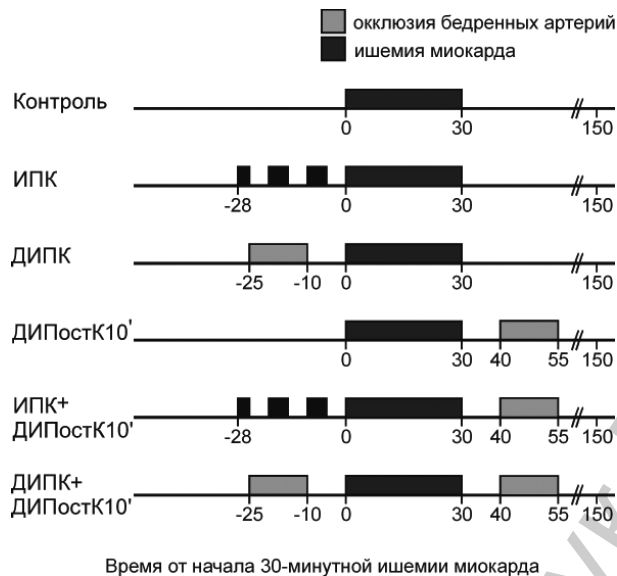


Рис. 1. Протоколы экспериментов. Животные контрольной группы (контроль) подвергались только 30-минутной ишемии (ОИМ) и 120-минутной реперфузии миокарда. Животные опытных групп дополнительно подвергались: воздействию локальной ишемии миокарда – три эпизода длительностью 3, 5 и 5 мин, разделенные между собой и отделенные от начала ОИМ 5-минутными интервалами реперфузии (ИПК); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий за 25 мин до начала ОИМ (ДИПК); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий через 10 мин после окончания ишемии миокарда (ДИПостК10'); комбинированному воздействию ИПК и ДИПостК10' (ИПК + ДИПостК10'); комбинированному воздействию ДИПК и ДИПостК10' (ДИПК + ДИПостК10')

мента ни в одной из групп значимых отличий АД_{ср} и ЧСС по сравнению с их начальными значениями также не отмечалось ($P > 0,05$).

Длительность нарушений ритма сердца у крыс изучаемых групп представлена на рис. 2. В группах ИПК и ДИПК у животных отмечалось значимое уменьшение длительности нарушений ритма сердца во время 30-минутной ишемии миокарда по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе ($P < 0,001$ и $P < 0,05$ соответственно). Статистически значимых

Показатели гемодинамики в ходе эксперимента у животных, подвергшихся 30-минутной ишемии (ОИМ) и 120-минутной реперфузии миокарда

Группа	Показатель	До начала ОИМ	Начало ОИМ	Реперфузия, мин		
				0	60	120
Контроль (n = 7)	АД _{ср}	77 ± 6	71 ± 5	81 ± 7	83 ± 8	89 ± 6
	ЧСС	377 ± 22	400 ± 22	415 ± 27	415 ± 26	445 ± 14
ИПК (n = 7)	АД _{ср}	94 ± 6	87 ± 7	98 ± 4	85 ± 3	81 ± 5
	ЧСС	430 ± 14	462 ± 6	458 ± 7	441 ± 7	444 ± 8
ДИПК (n = 7)	АД _{ср}	70 ± 3	74 ± 5	74 ± 4	81 ± 4	73 ± 4
	ЧСС	397 ± 7	405 ± 15	420 ± 17	414 ± 17	417 ± 14
ДИПостК10' (n = 7)	АД _{ср}	73 ± 3	74 ± 4	73 ± 3	78 ± 4	85 ± 3
	ЧСС	410 ± 16	428 ± 13	410 ± 23	410 ± 22	425 ± 16
ИПК + ДИПостК10' (n = 6)	АД _{ср}	68 ± 4	71 ± 4	72 ± 4	76 ± 4	70 ± 5
	ЧСС	398 ± 25	418 ± 23	435 ± 15	448 ± 22	441 ± 17
ДИПК + ДИПостК10' (n = 6)	АД _{ср}	78 ± 5	70 ± 5	68 ± 2	79 ± 3	74 ± 4
	ЧСС	405 ± 18	410 ± 31	406 ± 28	426 ± 20	443 ± 20

Примечание. Животные опытных групп дополнительно подвергались: воздействию трех эпизодов локальной ишемии миокарда длительностью 3, 5 и 5 мин, разделенных между собой и отделенных от начала ОИМ 5-минутными интервалами реперфузии (ИПК); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий за 25 мин до начала ОИМ (ДИПК); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий через 10 мин после окончания ишемии миокарда (ДИПостК10'); комбинированному воздействию ИПК и ДИПостК10' (ИПК + ДИПостК10'); комбинированному воздействию ДИПК и ДИПостК10' (ДИПК + ДИПостК10').

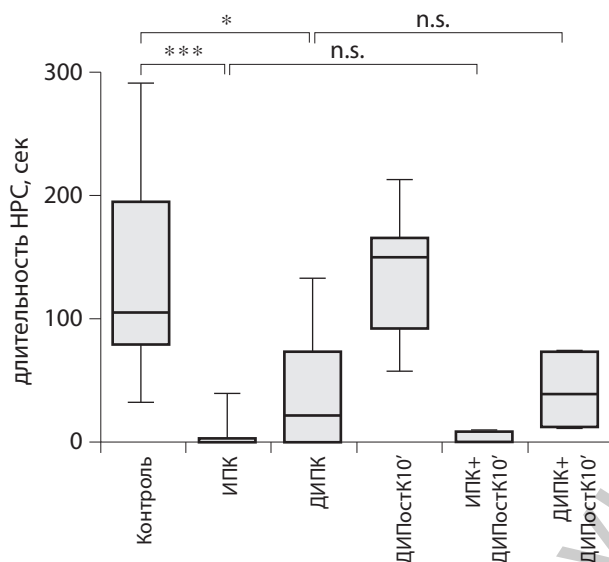


Рис. 2. Общая длительность нарушений ритма сердца (НРС) – фибрилляции желудочков, пароксизмальной желудочковой тахикардии, парной желудочковой экстрасистолии, желудочковой экстрасистолии по типу бигеминии – у животных во время 30-минутной ишемии миокарда. Животные опытных групп дополнительно подвергались воздействию локальной ишемии миокарда – три эпизода длительностью 3, 5 и 5 мин, разделенные между собой и отделенных от начала ОИМ 5-минутными интервалами реперфузии (ИПК); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий за 25 мин до начала ОИМ (ДИПК); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий через 10 мин после окончания ишемии миокарда (ДИПостК10'); комбинированному воздействию ИПК и ДИПостК10' (ИПК + ДИПостК10'); комбинированному воздействию ДИПК и ДИПостК10' (ДИПК + ДИПостК10'). *** – $P < 0,01$ – значимое уменьшение длительности НРС в группе ИПК в сравнении с контрольной группой; * – $P < 0,05$ – значимое уменьшение длительности НРС в группе ДИПК в сравнении с контрольной группой

различий длительности аритмий между крысами групп ИПК и ИПК + ДИПостК10', а также между животными групп ДИПК и ДИПК + ДИПостК10' не отмечалось ($P > 0,05$).

Значения зон риска и зон некроза в миокарде левого желудочка крыс представлены на рис. 3 (а и б соответственно). Зоны риска у животных всех экспериментальных групп статистически не различались ($P > 0,05$). Зона некроза у крыс контрольной группы составила $46 \pm 3\%$. Кратковременные ишемические воздействия, разделенные эпизодами реперфузии миокарда, осуществляемые до длительной ишемии миокарда, приводили к уменьшению (на 59%) размеров инфаркта миокарда по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе ($P < 0,001$). Двухсторонняя 15-минутная окклюзия бедренных артерий, выполняемая за 25 мин до начала ишемии миокарда и через 10 мин после восстановления коронарного кровотока, приводила к ограничению зоны некроза на 57 и 48% соответственно ($P < 0,001$ в сравнении с контрольной группой). При этом статистически значимых различий размеров зон некроза между животными, подвергавшимися воздействию ИПК, ДИПК и ДИПостК10', не отмечалось ($P > 0,05$). Комбинированное использование данных кардиопротекторных воздействий в нашем исследовании не оказывало дополнительного противоишемического эффекта. Зона некроза в группе комбинированного воздействия локального ишемического прекондиционирования с поздним дистантным ишемическим посткондиционированием составила $17 \pm 2\%$ ($P > 0,05$ по сравнению с группами ИПК и ДИПостК10'), в группе комбинированного воздействия дистантного ишемического прекондиционирования с поздним дистантным ишемическим посткондиционированием – $24 \pm 2\%$ ($P > 0,05$ по сравнению с показателями в группах ДИПК и ДИПостК10').

Ишемическое прекондиционирование миокарда показало высокую эффективность не только в экспериментальных исследованиях, но и в клинической практике [6–8]. В последние годы внимание исследователей привлекает феномен дистантного ишемического прекондиционирования [17, 18]. В литературе имеются данные, свидетельствующие о меньшей выраженности кардиопротекторного эффекта кратковременной дистантной ишемии по сравнению с эффектом ишемического прекондиционирования миокарда [19, 20]. В нашем исследовании эти феномены оказы-

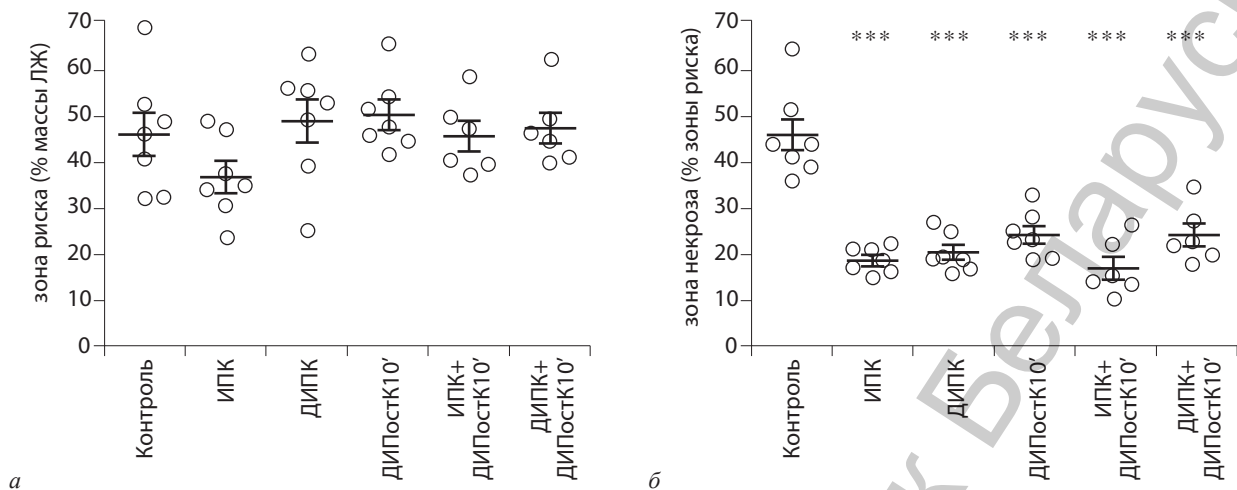


Рис. 3. Зона риска (а) и зона некроза (б) в миокарде левого желудочка у животных, подвергшихся 30-минутной ишемии и 120-минутной реперфузии миокарда. Животные опытных групп дополнительно подвергались: воздействию локальной ишемии миокарда – три эпизода длительностью 3, 5 и 5 мин, разделенные между собой и отделенные от начала ОИМ 5-минутными интервалами реперфузии (ИПК); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий за 25 мин до начала ОИМ (ДИПК); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий через 10 мин после окончания ишемии миокарда (ДИПК10'); комбинированному воздействию ИПК и ДИПК10' (ИПК + ДИПК10'); комбинированному воздействию ДИПК и ДИПК10' (ДИПК + ДИПК10'). *** – $P < 0,001$ – значимые различия размеров зоны некроза между группами: Контроль и ИПК, Контроль и ДИПК, Контроль и ДИПК10', Контроль и ИПК + ДИПК10', Контроль и ДИПК + ДИПК10'

вали сравнимый по выраженности противоишемический эффект. Ранее нами был получен кардиопротекторный эффект при воспроизведении кратковременной ишемии нижних конечностей у крыс не только до начала ишемии миокарда, но и через 10 мин после восстановления коронарного кровотока [14, 15]. В настоящем исследовании нами изучена возможность дополнительной кардиопротекции при комбинированном применении периферической ишемии конечностей, осуществляемой после длительной ишемии с локальным или дистантным ишемическим прекодиционированием миокарда. Теоретической основой этого исследования являлось логическое предположение, что существуют различия в механизмах, лежащих в основе развития каждого из этих феноменов. Однако нами не получено дополнительного кардиопротекторного эффекта при комбинированном воздействии позднего дистантного ишемического посткодиционирования как с локальным, так и с дистантным ишемическим прекодиционированием миокарда. Объяснением этому может служить ряд причин.

В настоящее время широко обсуждается роль киназ – фосфатидилинозитол-3-киназы-Akt (PI3K-Akt) и внеклеточной сигнал-опосредованной киназы (ERK), получивших название RISK (The Reperfusion Injury Salvage Kinase), в развитии кардиопротекторного эффекта ИПК [21–23] и ДИПК [24]. Процесс фосфорилирования PI3K-Akt и ERK, запускаемый кратковременными эпизодами ишемии и реперфузии, наблюдается не только во время воздействия кратковременных ишемических стимулов, но и во время реперфузии – после окончания длительного периода ишемии [22, 23]. Более того, активация RISK на этапе реперфузии оказывает кардиопротекторное действие независимо от наличия или отсутствия терапевтических воздействий до наступления длительной ишемии миокарда [21]. Помимо основного пути (RISK) описан альтернативный, SAFE-путь (Survivor Activating Factor Enhancement), направленный на ограничение реперфузионного повреждения миокарда и, возможно, участвующий в механизмах ишемического пре- и посткодиционирования [25]. Однако существуют значительные видовые различия в активации этих путей, а кроме того, рядом исследователей ставится под сомнение их значение в механизмах защиты миокарда от повреждения, вызванного ишемией и реперфузией [26]. Феномен позднего дистантного ишемического посткодиционирования был открыт нами впервые, поэтому механизмы его развития изучены еще недостаточно. Нами показано, что периферические аф-

ферентные нервы и парасимпатическая иннервация являются обязательным звеном в развитии противоишемического эффекта дистантного ишемического прекондиционирования, но не позднего дистантного ишемического посткондиционирования [15]. Известно также, что в основе развития феномена ишемического прекондиционирования миокарда и дистантного ишемического прекондиционирования лежат механизмы, связанные с активацией АТФ-зависимых калиевых каналов [27, 28] и пор временной митохондриальной проницаемости [28–30]. Вместе с тем, по результатам большинства исследований, кардиопротекторный эффект, получаемый от активации RISK- и SAFE-путей, так же как и роль пор временной митохондриальной проницаемости, важны только в первые минуты реперфузии. Возможные механизмы кардиопротекции в более поздние временные интервалы от начала реперфузии в настоящее время не изучены, что требует проведения дальнейших исследований.

Таким образом, отсутствие дополнительного противоишемического эффекта при комбинированном воздействии позднего дистантного ишемического посткондиционирования миокарда с локальным или дистантным ишемическим прекондиционированием может свидетельствовать об общности вовлечения в кардиопротекторный эффект мембраносвязанных рецепторов, внутриклеточных сигналопосредованных путей и конечных эффекторов, которыми, как упоминалось выше, являются, вероятно, АТФ-зависимые калиевые каналы [27, 28] и поры временной митохондриальной проницаемости [28–30].

Выводы

1. При комбинированном воздействии позднего дистантного ишемического посткондиционирования миокарда с локальным и дистантным ишемическим прекондиционированием потенцирования противоишемического эффекта, характерного для каждого из этих феноменов, не наблюдается.

2. Отсутствие потенцирования противоишемического эффекта при комбинированном воздействии позднего дистантного ишемического посткондиционирования миокарда с локальным и дистантным ишемическим прекондиционированием может свидетельствовать об общности внутриклеточных механизмов, лежащих в основе этих феноменов.

Литература

1. Lloyd-Jones D. [et al.] // *Circulation*. 2009. Vol. 119, N 3. P. 480–486.
2. Ovize M. [et al.] // *Cardiovasc. Res*. 2010. Vol. 87, N 3. P. 406–423.
3. Tsang A., Haunsenloy D. J., Yellon D. M. // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2005. Vol. 289, N 1. P. 2–7.
4. Murry C. E., Jennings R. B., Reimer K. A. // *Circulation*. 1986. Vol. 74, N 5. P. 1124–1136.
5. Ludman A. J., Yellon D. M., Haunsenloy D. J. // *Disease Models and Mechanisms*. 2010. Vol. 3, N 1–2. P. 35–38.
6. Venugopal V. [et al.] // *Eur. J. Cardiothorac. Surg*. 2009. Vol. 35, N 6. P. 977–987.
7. Amr Y. M., Yassin I. M. // *Semin. Cardiothorac. Vasc. Anesth*. 2010. Vol. 14, N 3. P. 205–211.
8. Walsh S. R. [et al.] // *Eur. J. Cardiothorac. Surg*. 2008. Vol. 34, N 5. P. 985–994.
9. Rentoukas I. [et al.] // *JACC Cardiovasc. Interv*. 2010. Vol. 3, N 1. P. 49–55.
10. Haunsenloy D. J. [et al.] // *Lancet*. 2007. Vol. 370 (9587). P. 575–579.
11. Venugopal V. [et al.] // *Heart*. 2009. Vol. 95, N 19. P. 1567–1571.
12. Przyklenk K. [et al.] // *Circulation*. 1993. Vol. 87, N 3. P. 893–899.
13. Jiménez-Navarro M. F. [et al.] // *Cardiology*. 2011. Vol. 119, N 3. P. 164–169.
14. Барсукевич В. Ч. [и др.] // *Кардиология в Беларуси*. 2012.
15. Basalay M. [et al.] // *Exp. Physiol*. 2012. Vol. 97. P. 1–10.
16. Fishbein M. C. [et al.] // *Am. Heart J*. 1981. Vol. 101, N 5. P. 593–600.
17. Haunsenloy D. J., Yellon D. M. // *Cardiovasc. Res*. 2008. Vol. 79, N 3. P. 377–386.
18. Xiong J. [et al.] // *Chin. Med. J. (Engl)*. 2011. Vol. 124, N 14. P. 2209–2215.
19. Ahmed L. A. [et al.] // *Life Sci*. 2012. Vol. 90, N 7–8. P. 249–256.
20. Xin P. [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2010. Vol. 298, N 6. P. H1819–H1831.
21. Haunsenloy D. J., Yellon D. M. // *Cardiovasc. Res*. 2004. Vol. 61, N 3. P. 448–460.
22. Haunsenloy D. J. [et al.] // *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2005. Vol. 288, N 2. P. H971–H976.
23. Haunsenloy D. J., Tsang A., Yellon D. M. // *Trends Cardiovasc. Med*. 2005. Vol. 15, N 2. P. 69–75.
24. Li J. [et al.] // *Clin. Sci. (Lond)*. 2011. Vol. 120, N 10. P. 451–462.

25. Heusch G., Schulz R. // *Cardiovasc. Res.* 2009. Vol. 84, N 1. P. 11–14.
26. Skyschally A. [et al.] // *Circ. Res.* 2009. Vol. 104, N 1. P. 15–18.
27. Loukogeorgakis S. P. [et al.] // *Circulation.* 2007. Vol. 116, N 12. P. 1386–1395.
28. Ferdinandy P., Schulz R., Baxter G. F. // *Pharmacol. Rev.* 2007. Vol. 59, N 4. P. 418–458.
29. Haunsenloy D. J., Ong S. B., Yellon D. M. // *Basic Res. Cardiol.* 2009. Vol. 104, N 2. P. 189–202.
30. Lim S. Y. [et al.] // *Cardiovasc. Res.* 2007. Vol. 75, N 3. P. 530–535.

M. V. BASALAY, V. Ch. BARSUKEVICH, A. G. BULGAK, A. G. MROCHEK

**LOCAL AND REMOTE ISCHAEMIC CONDITIONING OF THE MYOCARDIUM:
POSSIBILITIES FOR CARDIOPROTECTION**

Summary

The aim of this study was to investigate the cardioprotective effect induced by a combination of delayed remote ischaemic postconditioning (RPostc10') with classical myocardial preconditioning (IPc) or remote ischaemic preconditioning (RPc). Forty male-rats, 250–350 g in weight, were included into the study. The control group of animals was subjected to 30 min ischaemia and 120 min reperfusion only ($n = 7$); the second group of animals was additionally subjected to three episodes of myocardial ischaemia for 3, 5 and 5 min, respectively, each separated with 5 min reperfusion (IPc; $n = 7$); the third group was subjected to 15 min occlusion of both femoral arteries, starting with 25 min before the onset of ischaemia (RPc; $n = 7$); the fourth group was subjected to femoral arteries occlusion started with 10 min after the onset of reperfusion (RPostc10'; $n = 7$); the fifth and sixth groups were subjected to a combination of IPc and RPostc10' (IPc + RPostc10'; $n = 6$) or a combination of RPc and RPostc10' (RPc + RPostc10'; $n = 6$). The infarct size in the control group was $46 \pm 3\%$. IPc, RPc and RPostc10' reduced the infarct size by 59%, 57 and 48% respectively ($P < 0.001$ vs. Control). No additional cardioprotection was observed in IPc + RPostc10' and RPc + RPostc10' groups (17 ± 2 and $24 \pm 2\%$, respectively, $P > 0.05$ compared to IPc, RPc and RPostc10' groups). These results suggest that no additional cardioprotection can be achieved if delayed remote ischaemic postconditioning is combined with classical myocardial preconditioning or remote ischaemic preconditioning.

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

Я. И. ИСАЙКИНА, Ю. Е. МАРЕЙКО, Д. В. ПРУДНИКОВ, Н. В. МИНАКОВСКАЯ,
Л. В. СПИВАК, О. В. АЛЕЙНИКОВА

ВОССТАНОВЛЕНИЕ ГЕМОПОЭЗА ПОСЛЕ АЛЛОГЕННОЙ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ГЕМОПОЭТИЧЕСКИХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК У ДЕТЕЙ С ОНКОГЕМАТОЛОГИЧЕСКИМИ ЗАБОЛЕВАНИЯМИ

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

(Поступила в редакцию 04.07.2012)

Введение. Трансплантация гемопоэтических стволовых клеток (ТГСК) после миелоаблативной терапии или терапии с редуцированной интенсивностью преследует цель замещения несостоятельного, поврежденного костного мозга (КМ), получения реакции «трансплантат против опухоли». Быстрое восстановление гемопоэза до необходимого уровня снижает риск посттрансплантационных осложнений – инфекций, анемии, кровотечения.

Изучению влияния различных факторов, таких как возраст пациента, нозология заболевания, количество курсов предшествующей химиотерапии, лучевой терапии, состав трансплантата и др., на скорость восстановления гемопоэза после аллогенной ТГСК (аллоТГСК) посвящено много работ. Данные из различных источников о влиянии состава трансплантата, включая дозу CD34+ клеток, остаются противоречивыми. Значение доз ядросодержащих клеток (ЯСК) и CD34+ клеток в трансплантате для восстановления гемопоэза дискутируется с самого начала внедрения процедуры ТГСК в клиническую практику. Тем не менее, большинство исследователей солидарны в том, что одним из основных условий быстрого приживления трансплантата является его достаточность по основным количественным характеристикам, а именно по содержанию ЯСК и CD34+ клеток.

Кроме того, имеются противоречивые данные о влиянии совместимости пары донора и реципиента по HLA (Human leukocyte antigen) на скорость приживления трансплантата. Так, в большом мультицентровом исследовании на базе CIBMTR (Center for International Blood and Marrow Transplant Research), NCBP (National Cord Blood Program) и The Acute Leukemia Working Party of the EBMT, в котором было задействовано 2629 пациентов, не было выявлено какой-либо статистически значимой зависимости между приживлением КМ, мобилизованных в периферическую кровь стволовых клеток (ПСК), пуповинной крови и наличием HLA-несовместимости [1]. С другой стороны, анализ 3857 аллоТГСК, проведенный в рамках NMDP (The National Marrow Donor Program), установил зависимость успешного приживления трансплантата ГСК от HLA-совместимости клеток донора и реципиента, продемонстрировав, что чем больше аллелей несовместимы, тем выше риск замедленного приживления и отторжения трансплантата [2].

Первоначальные исследования влияния дозы CD34+ клеток после их селекции на приживление трансплантата показали необходимость мегадозы этих клеток для быстрого восстановления гемопоэза. Так, P. Lang, P. Bader [3] выявили запаздывание приживления трансплантата, если доза CD34+ клеток составляет менее $8 \cdot 10^6$ на кг массы тела реципиента. Получение таких доз трансплантата сопряжено с трудностями мобилизации большого количества ГСК у донора, особенно старшего возраста, с увеличением риска осложнений у донора, со сложностями процесса и не исключает отторжения трансплантата. Дальнейшее развитие технологий обработки

трансплантата позволило снизить дозу CD34+ клеток в случае сохранения в трансплантате некоторого объема Т-лимфоцитов, которые обеспечивают более быстрое приживание трансплантата и иммунную реконституцию [4]. Поэтому развитие новых стратегий, таких как деплеция Т-лимфоцитов и другие манипуляции с трансплантатом, а также использование менее токсичных режимов кондиционирования являются в настоящее время областью изучения при ТГСК от HLA-несовместимых и гаплоидентичных доноров.

В рамках первоначальных исследований наблюдалась выраженная зависимость между режимами кондиционирования и сроками приживания трансплантата у пациентов при несовместимой ТГСК. Однако внедрение новых подходов к немиелоаблативному кондиционированию, например усиление иммуносупрессии, привело к нивелированию данного эффекта [5].

Цель работы – исследование влияния на динамику восстановления гемопоэза в раннем посттрансплантационном периоде совместимости по HLA антигенам клеток донора и реципиента при различных режимах кондиционирования, а также источников и методов обработки аллогенного трансплантата у пациентов с незлокачественными и злокачественными гематологическими заболеваниями после аллогенной трансплантации.

Материалы и методы исследования. Всего обследовано 126 пациентов в возрасте 1–18 лет с незлокачественными врожденными и приобретенными заболеваниями гемопоэтической системы или со злокачественными гематологическими заболеваниями (высокой группы риска), которым после проведения основного этапа лечения была выполнена аллоТГСК в период с 1998 по 2011 г. Обязательным условием являлось наличие письменного информированного согласия родителей или самих пациентов на проведение ТГСК. Донорами ГСК являлись родственники или волонтеры, как HLA-совместимые, так и HLA-несовместимые. Нозологические группы пациентов и режимы кондиционирования, примененные при проведении аллоТГСК, были следующие: 38 детей с острым лимфобластным лейкозом (ОЛЛ), 3 детей с острым бифенотипическим лейкозом и 1 пациент с Т-клеточной анапластической лимфомой получили режим кондиционирования, содержащий бусульфан или TBI (Total Body Irradiation); 27 детей с острым миелобластным лейкозом (ОМЛ) и 7 детей с миелодиспластическим синдромом (МДС) – бусульфан; 15 пациентов с хроническим миелолейкозом (ХМЛ) – TBI; 29 пациентов с апластической анемией (АА) – флударабин; 5 детей с приобретенным иммунодефицитом (ПИД) – бусульфан и/или флударабин.

Пациентам проводилась трансплантация ГСК, при которой реципиент и донор либо совместимы по HLA локусам (Match HLA) либо несовместимы (Mismatch HLA).

Гематологическими критериями посттрансплантационного восстановления кроветворения, согласно рекомендациям EBMT, считали:

абсолютное количество лейкоцитов в периферической крови более $1 \cdot 10^9/\text{л}$ (1000/мкл) в течение 3 дней подряд;

абсолютное количество нейтрофилов в периферической крови более $0,5 \cdot 10^9/\text{л}$ (500/мкл) в течение 3 дней подряд;

абсолютное количество тромбоцитов в периферической крови при отсутствии трансфузий тромбоконцентрата более $20,0 \cdot 10^9/\text{л}$ (20 000/мкл) в течение 3 дней [6].

Трансплантат ГСК для пациентов получали путем эксфузии КМ у доноров под анестезией в операционной в объеме 600–1400 мл в зависимости от веса донора и реципиента или афереза ПСК. Мобилизацию ПСК у доноров проводили с использованием Г-КСФ в дозе 10 мкг/кг в сутки до 5 дней, при ежедневном контроле количества лейкоцитов в периферической крови. При содержании лейкоцитов в периферической крови $25 \cdot 10^9/\text{л}$ и более выполняли аферез стволовых клеток на сепараторе клеток крови CS-3000+ (Baxter, США) или Spectra Optia (Caridian/Gambro Bct, США).

Получение фракции CD34+ клеток для последующей трансплантации проводили методом иммуномагнитной селекции из продукта афереза мобилизованных ПСК (CliniMACS, Miltenyi Biotec, Германия) в соответствии с протоколом.

Подсчет ЯСК производили в образце КМ или ПСК методом микроскопии, содержание CD34+ клеток в трансплантате определяли методом проточной цитофлуориметрии. Для каждого трансплантата дозы ЯСК и CD34+ рассчитывали на килограмм массы тела пациента.

Статистическая обработка данных включала методы описательной статистики. Достоверность различий в рядах, описывающих параметры трансплантата и сроки восстановления кроветворения после аллогенной ТГСК, оценивали по тесту Манна–Уитни для рядов с непараметрическим распределением. Зависимость между параметрами аллотрансплантата и скоростью восстановления гемопоэза определяли с использованием корреляционного метода Спирмена. Статистически значимыми считались различия при $P < 0,05$. При расчетах использовали программы Excel и STATISTICA для Windows 6.0

Результаты и их обсуждение. Проведена сравнительная оценка основных параметров аллотрансплантата у пациентов в зависимости от совместимости по HLA антигенам между донором и реципиентом. Из 75 пациентов, получивших аллотрансплантат КМ, 69 получили его от HLA-совместимых доноров ГСК и 6 детей – от HLA-несовместимых. Анализ данных выявил отсутствие достоверных отличий по содержанию ЯСК/кг и CD34+ клеток/кг в аллотрансплантате в обеих группах. Так, количество ЯСК и CD34+ клеток в КМ от HLA-совместимых доноров составило $3,57 (1,40-6,40) \cdot 10^8/\text{кг}$ и $2,65 (0,23-12,50) \cdot 10^6/\text{кг}$, а от HLA-несовместимых – $3,10 (1,89-6,50) \cdot 10^8/\text{кг}$ и $2,50 (1,20-5,90) \cdot 10^6/\text{кг}$ соответственно. Не наблюдалось различий по срокам восстановления гемопоэза в раннем посттрансплантационном периоде в зависимости от HLA-совместимости между донором и реципиентом, когда в качестве трансплантата ГСК использовали КМ.

Тридцати шести пациентам была выполнена аллогенная трансплантация ПСК. Двадцать пациентов, с такими заболеваниями, как ОМЛ ($n = 6$), ОЛЛ ($n = 8$), ХМЛ ($n = 4$), МДС ($n = 1$), врожденная АА Блекфана–Даймонда ($n = 1$), получили ПСК, совместимые по HLA антигенам. Шестнадцать пациентов (ОМЛ – 6 пациентов, ОЛЛ – 6, ХММЛ – 1, врожденная АА Фанкони – 1, приобретенная АА – 2 пациента) получили HLA-несовместимый трансплантат. Как видно из приведенных данных, обе группы сопоставимы по нозологическому спектру. Показатели содержания ЯСК и CD34+ клеток в трансплантате свидетельствуют также об отсутствии достоверных отличий в параметрах трансплантата ПСК у пациентов обеих групп (см. таблицу).

Параметры трансплантата ПСК в группах пациентов с разной совместимостью по HLA между клетками донора и реципиента ($M \pm m$)

Совместимость по HLA в группах	Количественные параметры аллотрансплантата	
	ЯСК, $\times 10^8/\text{кг}$	CD34+, $\times 10^6/\text{кг}$
Match HLA ($n = 20$)	$10,66 \pm 1,66$	$8,19 \pm 0,99$
Mismatch HLA ($n = 16$)	$9,13 \pm 3,36$	$7,26 \pm 4,38$

Анализ влияния совместимости по HLA антигенам показал, что восстановление всех ростков кроветворения происходило достоверно быстрее у пациентов, получивших совместимые по HLA антигенам ПСК (рис. 1). Так, восстановление лейкоцитов ($> 1 \cdot 10^9/\text{л}$), нейтрофилов ($> 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$), тромбоцитов ($> 20 \cdot 10^9/\text{л}$) в группе с Match HLA наблюдалось на 16-й (13–24), 14-й (12–24) и 15-й (8–84) дни соответственно, тогда как в группе с Mismatch HLA – на 20-й (13–35), 21-й (14–38) и 18-й (10–270) дни ($P < 0,05$).

В группе пациентов, которым проведена трансплантация Match HLA ПСК, не обнаружено корреляционной зависимости между сроком восстановления различных ростков кроветворения и содержанием в трансплантате ЯСК/кг и CD34+ клеток/кг. В то же время в группе пациентов, получивших Mismatch HLA ПСК, наблюдалась обратная зависимость как между содержанием ЯСК/кг и временем восстановления лейкоцитов и нейтрофилов ($-0,67 (P = 0,02)$ и $-0,70 (P = 0,01)$ соответственно), так и количеством инфузированных CD34+ клеток/кг и сроками восстановления лейкоцитов и нейтрофилов ($-0,69 (P = 0,02)$ и $-0,63 (P = 0,01)$ соответственно) (рис. 2), но отсутствовал доза-эффект между количеством трансплантированных ГСК и скоростью восстановления тромбоцитов.

Пятнадцати пациентам проведена аллогенная трансплантация фракции CD34+ клеток после иммуномагнитной селекции. Из них 4 ребенка были с ОМЛ, 2 – с ОЛЛ, 1 – с острым бифенотипическим лейкозом, 2 – с ПИД, 5 – с ХМЛ, 1 – с АА. Одиннадцать пациентов получили в среднем $(5,89 \pm 3,92) \cdot 10^6/\text{кг}$ ГСК от Mismatch HLA доноров и 4 пациента – $(8,61 \pm 2,98) \cdot 10^6/\text{кг}$ ГСК от

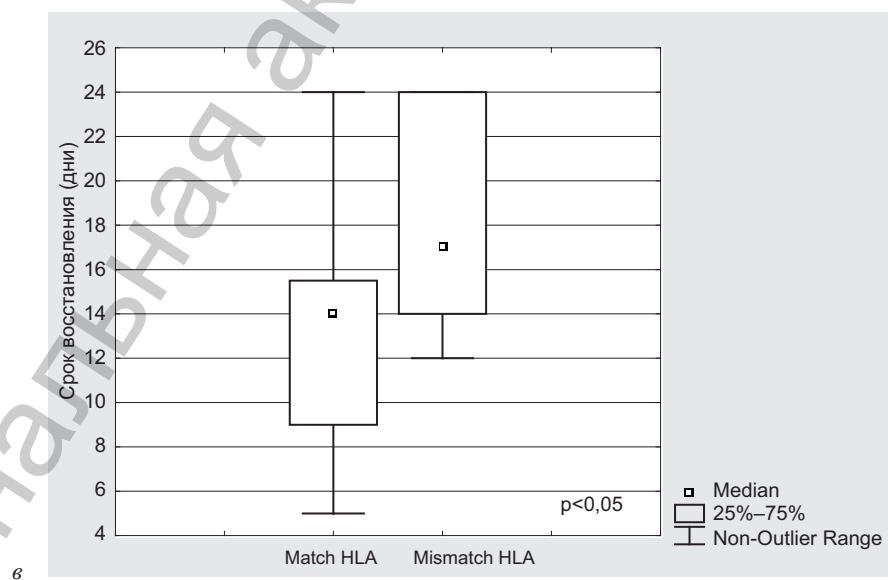
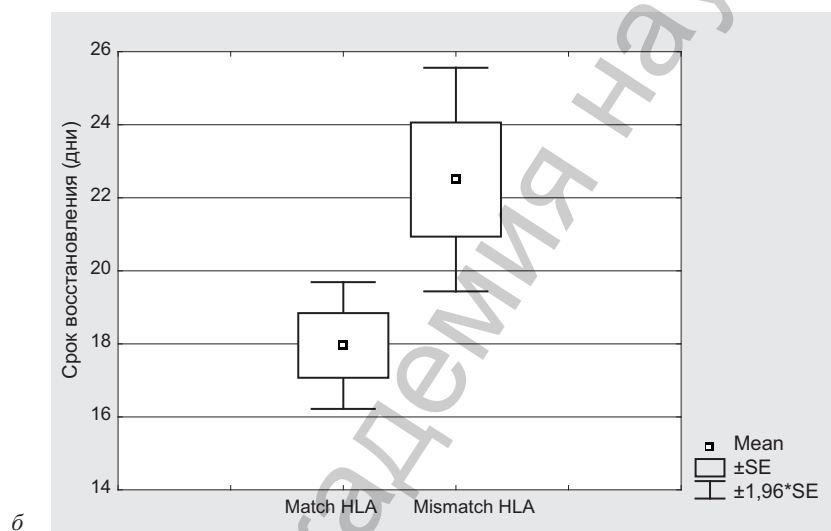
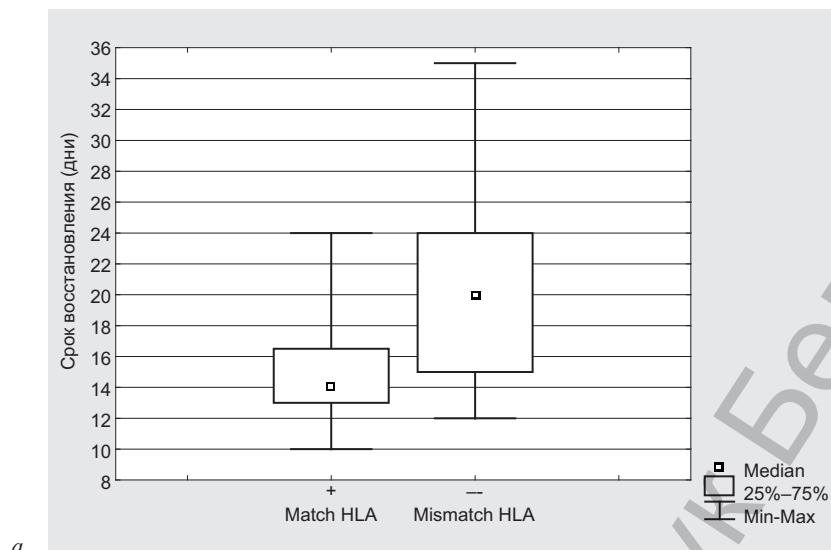


Рис. 1. Восстановление гемопоэза после аллоТПСК при совместимости и несовместимости по HLA антигенам между донором и реципиентом: *a* – восстановление лейкоцитов ($> 1,0 \cdot 10^9/\text{л}$); *б* – восстановление нейтрофилов ($> 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$); *в* – восстановление тромбоцитов ($> 20 \cdot 10^9/\text{л}$)

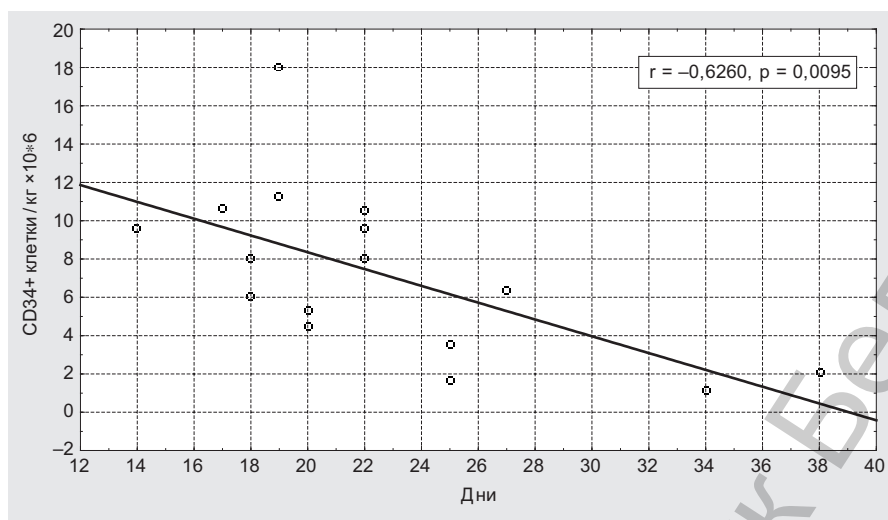


Рис. 2. Корреляция между числом трансплантированных CD34+/кг и восстановлением нейтрофилов ($> 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$) при HLA несовместимости между донором ПСК и реципиентом

Match HLA доноров. Сравнительная оценка влияния совместимости клеток донора с клетками реципиента по HLA антигенам на скорость восстановления гемопоэза среди этих пациентов показала, что, несмотря на отсутствие достоверной разницы в количестве трансплантированных пациентам двух групп CD34+ клеток, все ростки кроветворения восстанавливаются достоверно медленнее при аллогенной трансплантации несовместимых по HLA антигенам ГСК. Так, лейкоциты ($> 1,0 \cdot 10^9/\text{л}$), нейтрофилы ($> 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$) и тромбоциты ($> 20 \cdot 10^9/\text{л}$) после проведения аллогенной трансплантации фракции CD34+ клеток от Match HLA донора восстанавливались на 13-й (10–16), 14-й (10–16) и 15-й (11–16) дни, тогда как после трансплантации от Mismatch HLA донора – на 20-й (11–26), 19-й (12–26) и 25-й (8–33) дни соответственно ($P < 0,05$).

Наиболее выраженное влияние несовместимости по HLA на задержку восстановления кроветворения после аллогенной трансплантации CD34+ клеток наблюдалось среди 11 пациентов, получивших перед трансплантацией миелоаблативный режим кондиционирования (MAC). Четыре из них (1 – с ОЛЛ, 3 – с ХМЛ) получили Match HLA CD34+ клетки в средней дозе ($8,51 \pm 1,49$)/кг и 7 детей (3 – с ОМЛ, 2 – с ХМЛ, 1 – с бифенотипический лейкозом и 1 – с ПИД) – Mismatch HLA CD34+ клетки в средней дозе ($4,76 \pm 1,09$)/кг. Достоверных различий в содержании CD34+ клеток/кг в трансплантатах у пациентов обеих групп не установлено, но у детей, получивших трансплантат от Mismatch HLA донора, лейкоциты и нейтрофилы после аллотрансплантации восстанавливались достоверно медленнее (рис. 3), а в одном случае наблюдалось неприживление донорского трансплантата. Так, восстановление лейкоцитов и нейтрофилов в группе Match HLA происходило на 13-й (10–16) и 14-й (10–16) дни, тогда как в группе Mismatch HLA – на 22-й (16–26) и 23-й (17–26) дни ($P < 0,001$). Различий по срокам восстановления тромбоцитов в обеих группах не наблюдалось.

Анализ влияния дозы CD34+ клеток на сроки приживления трансплантата в группе пациентов с Mismatch HLA ($n = 11$) выявил зависимость между количеством CD34+ клеток в трансплантате и сроком восстановления лейкоцитов ($R = -0,73$; $P < 0,05$), нейтрофилов ($R = -0,58$; $P < 0,05$) и тромбоцитов ($R = -0,82$; $P < 0,05$) у 90% обследованных.

Существуют противоречивые данные о наличии влияния режима кондиционирования на сроки приживления трансплантата [6–11].

В группе из 11 детей, получивших Mismatch HLA фракцию CD34+ клеток после иммуномагнитной селекции, 7 пациентам (3 – с ОМЛ, 2 – с ХМЛ, 1 – с бифенотипическим лейкозом, 1 – с ПИД) проведен миелоаблативный режим кондиционирования MAC, 4 (1 – с ОМЛ, 1 – с ОЛЛ, 1 – с анемией Фанкони, 1 – с ПИД) – немиелоаблативный режим кондиционирования (RIC). У одного пациента, получившего MAC, не произошло приживления донорского трансплантата и восстановилось собственное кроветворение. Оценка сроков восстановления гемопоэза показа-

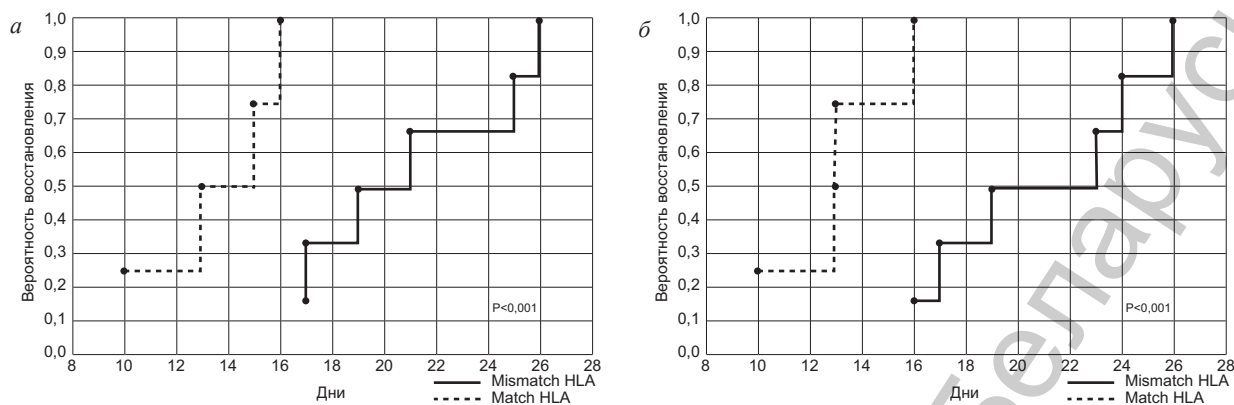


Рис. 3. Восстановление гемопоэза после аллотрансплантации фракции CD34+ клеток при совместимости и несовместимости по HLA между донором и реципиентом: а – восстановление нейтрофилов ($> 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$); б – восстановление лейкоцитов ($> 1,0 \cdot 10^9/\text{л}$)

ла, что у остальных 6 пациентов, получивших МАС, достоверно медленнее нормализовались показатели периферической крови, чем у детей, которым проводили RIC, в то время как в среднем пациенты этих двух групп получили одинаковый по содержанию CD34+ клеток трансплантат ($(4,76 \pm 2,66) \cdot 10^6/\text{кг}$ и $(5,35 \pm 2,27) \cdot 10^6/\text{кг}$ соответственно). Так, при кондиционировании МАС восстановление лейкоцитов происходило на 22-й (16–26) день, нейтрофилов – на 21-й (17–26), в то время как при кондиционировании RIC – соответственно на 12-й (11–24) и 12-й (12–18) дни ($P < 0,05$) (рис. 4). Достоверных различий по времени восстановления тромбоцитов между двумя группами не наблюдалось.

Необходимо отметить, что среди 16 пациентов, которым проведена аллотрансплантация несовместимых по HLA ПСК, 12 детей (6 – с ОМЛ, 5 – с ОЛЛ, 1 – с ХММЛ) получили режим кондиционирования МАС перед трансплантацией, 4 пациента (3 – с АА и 1 – с ОЛЛ) – режим кондиционирования RIC. У пациентов, получивших МАС перед трансплантацией ПСК, наблюдалась тенденция к более быстрому восстановлению гемопоэза, чем у детей, которым проводили RIC, тогда как при трансплантации фракции CD34+ клеток после селекции результат был противоположным.

В ряде исследований, проведенных с участием большего числа пациентов, не установлено влияния HLA-совместимости между клетками донора и реципиента на скорость восстановления гемопоэза после аллотрансплантации [7, 12, 13]. Так, Y.-J. Chang и соавт. [12] продемонстрировали значение дозы CD34+ клеток при аллотрансплантации у 133 детей лишь для восстановления тромбоцитов при ТГСК

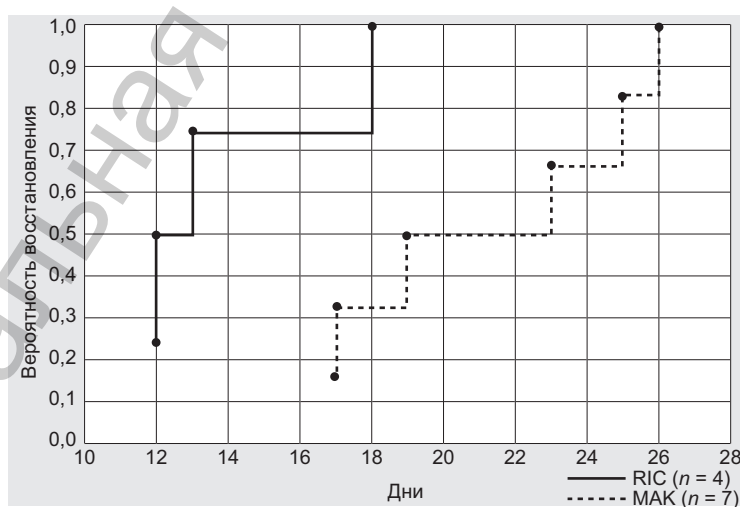


Рис. 4. Скорость восстановления нейтрофилов ($> 0,5 \cdot 10^9/\text{л}$) после аллотрансплантации фракции Mismatch HLA CD34+ клеток при режимах кондиционирования МАС и RIC

от несовместимого родственного донора, но не гранулоцитов. А. J. Mead и соавт. [13] в исследовании с участием 157 пациентов также не обнаружили влияния HLA-совместимости донора и реципиента на приживление трансплантата, но необходимо отметить, что в исследовании не проводился отдельный анализ в группах пациентов, получивших КМ ($n = 58$) и ПСК ($n = 99$). В работе С. Zhang и соавт. [7] мультивариантный анализ факторов, влияющих на приживление трансплантата у 105 пациентов, получивших ГСК от несовместимых и гаплоидентичных родственных доноров КМ и ПСК, не выявил зависимости срока восстановления кроветворения от дозы CD34+ клеток, пола, возраста, режима кондиционирования, несовместимости по HLA-системе, АВ0-совместимости и диагноза заболевания пациента.

Нами также не обнаружено зависимости сроков приживления ГСК от HLA-совместимости между клетками донора и реципиента, когда в качестве трансплантата ГСК использовался КМ. Вероятной причиной отсутствия различий может служить малое количество пациентов в группе, получивших несовместимый по HLA антигенам трансплантат. Такие же результаты получены и Р. Sedlacek и соавт. [11], которые также не установили статистически значимой зависимости между приживлением клеток КМ и их HLA-совместимостью с клетками реципиента.

С другой стороны, полученные нами данные по влиянию HLA-совместимости между клетками донора и реципиента на скорость восстановления гемопоэза после ТПСК свидетельствуют о более медленном восстановлении в случае использования Mismatch HLA трансплантата. Это полностью соответствует выводам С. Anasetti и соавт. [5], которые в мультицентровом анализе с участием 1199 пациентов показали значимость HLA-совместимости донора и реципиента для восстановления кроветворения (чем больше локусов несовместимости, тем выше риск замедления приживления и отторжения трансплантата). J. Kanda и соавт. [14] в рамках регистра доноров Японии на 797 пациентах также продемонстрировали влияние несовместимости по HLA антигенам на приживление и исход аллотГСК. Как и в нашем исследовании, показано замедленное приживление нейтрофилов в случае трансплантации от HLA-несовместимого донора (более выраженное при HLA-B несовместимости или несовместимости по нескольким антигенам).

Нами установлена высокая степень зависимости между содержанием ЯСК/кг и CD34+ клеток/кг в трансплантате ПСК и скоростью восстановления лейкоцитов и нейтрофилов при аллотрансплантации Mismatch HLA ПСК. Значимость дозы CD34+ клеток при трансплантации от HLA-несовместимого донора для преодоления HLA-барьера наблюдалась и в других исследованиях [5]. В то же время нами не обнаружена зависимость между дозой как ЯСК, так и CD34+ клеток в трансплантате и скоростью восстановления различных ростков кроветворения у пациентов, получивших совместимые по HLA антигенам ПСК, что согласуется с выводами D. Pastore и др. [15], которые, изучая восстановление кроветворения у 30 пациентов с ОМЛ после трансплантации ПСК от HLA-совместимого донора, также не наблюдали влияния дозы CD34+ клеток на сроки приживления трансплантата.

Анализ результатов нашего исследования показал необходимость трансплантации более высокой дозы донорских CD34+ клеток после селекции при HLA-несовместимости донора и реципиента для успешного приживления трансплантата. С. Peters и соавт. [16] в одном из первых исследований с участием 14 детей, получивших родственный Mismatch HLA трансплантат фракции CD34+ клеток, также показали необходимость больших доз стволовых клеток для успешного приживления трансплантата и восстановления гемопоэза.

Установленный нами факт значительной задержки восстановления гемопоэза при аллотрансплантации Mismatch HLA фракции CD34+ клеток у пациентов, получивших миелоаблативный режим кондиционирования, и зависимость скорости восстановления кроветворения у пациентов этой группы от количества полученных CD34+ клеток/кг согласуется с результатами, полученными Klingebiel и соавт. [17] у 27 детей с ОЛЛ и Handgretinger и соавт. [18] у 33 детей с онкогематологической патологией после аллотГСК, которые выявили необходимость больших доз CD34+ клеток после селекции для быстрого приживления трансплантата и иммунной реконституции при миелоаблативном режиме кондиционирования.

Результаты нашего исследования показали, что режим кондиционирования, проводимый перед трансплантацией фракции HLA-несовместимых CD34+ клеток, влияет на скорость реконститу-

ции гемопоэза и у пациентов, которым проводили RIC, кроветворение восстанавливается быстрее, чем у пациентов, получивших MAC. Аналогичные результаты быстрого и стойкого приживления аллотрансплантата у детей с острыми лейкозами при использовании RIC кондиционирования и CD34+ селекции или CD3/CD19-деплеции были продемонстрированы R. Handgretinger и соавт. [19] у 25 пациентов и F. Aversa и соавт. [20] у 104 пациентов, а также Lang и соавт. [21].

Kamran Alimoghaddam и соавт. [23], исследуя приживление аллогенного трансплантата ПСК у 617 пациентов с ОМЛ, не выявили влияния режима кондиционирования на восстановление гемопоэза при данном виде ТГСК. Ogawa и соавт. [24] опубликовали результаты гаплоидентичных трансплантаций HLA-несовместимых ПСК с использованием режима кондиционирования RIC, после которых у 25 из 26 пациентов с онкогематологической патологией было достигнуто быстрое восстановление нейтрофилов.

Результаты нашего исследования свидетельствуют, что у пациентов, получивших кондиционирование MAC и аллотрансплантацию ПСК, кроветворение восстанавливалось быстрее, чем у детей, которым проводили RIC. Во-первых, причиной может быть значительно более высокое содержание гемопоэтических клеток в трансплантате пациентов, которым провели режим MAC. Количество полученных ими ЯСК/кг в среднем составило $(10,14 \pm 6,39) \cdot 10^8/\text{кг}$, CD34+ клеток – $(8,36 \pm 3,88) \cdot 10^6/\text{кг}$, в то время как в группе пациентов, получивших RIC, средняя доза ЯСК была $(7,12 \pm 3,36) \cdot 10^8/\text{кг}$, а CD34+ клеток – $(3,88 \pm 1,9) \cdot 10^6/\text{кг}$. Во-вторых, этиопатогенетические механизмы развития апластической анемии (в группе пациентов с RIC 3 пациента с АА и 1 с ОЛЛ) с недостаточностью стромы для поддержки гемопоэза, также могут затруднять приживления трансплантата. P. Satwani и соавт. [25] при анализе приживления трансплантата в зависимости от режима кондиционирования, как и в нашем исследовании, показали, что приживление трансплантата ПСК и становление химеризма происходит значительно быстрее в группе детей после MAC, чем после RIC, к тому же в группе MAC реже наблюдалось отторжение трансплантата.

Несмотря на хорошие результаты использования RIC, в ряде публикаций отмечается, что использование этих режимов увеличивает риск отторжения трансплантата, как первичного (неприживление), так и вторичного (после восстановления нейтрофилов, тромбоцитов) [4, 24, 26].

Заключение. Результаты проведенной нами сравнительной оценки скорости восстановления гемопоэза у пациентов, перенесших аллогенную трансплантацию ГСК, свидетельствуют:

о негативном влиянии несовместимости по HLA локусам между донором и реципиентом на скорость реконституции кроветворения при трансплантации как ПСК, так и CD34+ клеток после селекции, а также о высокой степени зависимости в случае HLA-несовместимости сроков восстановления лейкоцитов и нейтрофилов от содержания в трансплантате ЯСК/кг и CD34+/кг;

о влиянии режима кондиционирования на скорость восстановления гемопоэза у пациентов после трансплантации фракции аллогенных CD34+ клеток и на более быстрое приживление донорского трансплантата при проведении пациентам кондиционирования RIC.

Установленная нами группа риска по задержке восстановления гемопоэза в раннем посттрансплантационном периоде после аллогенной ТГСК и, соответственно, по удлинению периода цитопении с угрозой развития ассоциированных с ней осложнений состоит из пациентов:

получивших несовместимые по HLA локусам мобилизованные ПСК с низким содержанием ЯСК и CD34+ клеток;

получивших низкую дозу несовместимых по HLA локусам CD34+ клеток после селекции, особенно после миелоаблативного режима кондиционирования.

Литература

1. Eapen M., Rocha V., Sanz G. et al. // *The Lancet Oncol.* 2010. Vol. 11. Iss. 7. P. 653–660.
2. Lee S. J., Klein J., Haagenson M. et al. // *Blood.* 2007. Vol. 110. P. 4576–4583.
3. Lang P., Bader P., Schumm M. et al. // *Br. J. Haematol.* 2004. Vol. 124. P. 72–79.
4. Fuchs E. J., Symons H. J. *Allogeneic Stem Cell Transplantation Contemporary Hematol.* 2010. P. 299–343. DOI: 10.1007/978-1-59745-478-0_18.
5. Anasetti C., Aversa F. // *Thomas' Hematopoietic Cell Transplantation: Stem Cell Transplantation.* Fourth ed. Publ. Online MAR 2009. Chap. 46. P. 657–674.

6. Luo X. H., Chang Y. J., Xu L. P. et al. // Bone Marrow Transplant. 2009. Vol. 43, N 1. P. 29–36.
7. Zhang C. et al. // Transfusion and Apheresis Sci. 2011. Vol. 44. P. 249–255.
8. Giral S. // Hematology / Eds. by N. Berliner, S. J. Lee, M. Linenberger, G. B. Vogelsang. Washington, 2005. P. 384–389.
9. Wachowiak J., Sykora K-W., Cornish J. et al. // Bone Marrow Transplantation. 2011. Vol. 46. P. 1510–1518.
10. Koh K. N., Im H. J., Kim B. E. et al. // Br. J. of Haematol. 2012. Vol. 157. P. 125–154.
11. Sedlacek P., Formankova R., Mejstrikova E. et al. // Pediatr. Transplantation. 2008. Vol. 12. P. 24–31.
12. Chang Y. J., Xo L., Liu D. et al. // Pediatric Blood & Cancer. 2009. Vol. 53. Iss. 6. P. 1100–1106.
13. Mead A. J., Thomson K. J., Morris E. C. et al. // Blood. 2010. Vol. 115. P. 5147–5153. DOI:10.1182/blood-2010-01-265413
Prepubl. online April 6, 2010.
14. Kanda J., Saji H., Fukuda T. et al. // Blood. 2012. Vol. 119. P. 2409–2416.
15. Pastore D., Mestice I. A., Perrone I. T. et al. // Bone Marrow Transplantation. 2008. Vol. 41. P. 977–981.
16. Peters C., Matthes-Martin S., Fritsch G. et al. // Leukemia. 1999. Vol. 13, N 12. P. 2070–2078.
17. Klingebiel T., Handgretinger R., Lang P. et al. // Blood Rev. 2004. Vol. 18. Iss. 3. P. 181–192.
18. Handgretinger R., Klingebiel T., Lang P. et al. // Bone Marrow Transplantation. 2001. Vol. 27, N 8. P. 777–783.
19. Handgretinger R., Chen X., Pfeiffer M. et al. // Ann. NY Acad. Sci. 2007. Vol. 1106. P. 279–289.
20. Aversa F., Terenzi A., Tabilio A. et al. // J. Clin. Oncol. 2005. Vol. 23. P. 3447–3454.
21. Lang P., Schumm M., Greil J. et al. // Klin. Pediatr. 2005. Vol. 217. P. 334–338.
22. Lang P., Greil J., Bader P. et al. // Blood Cells Mol. Dis. 2004. Vol. 33. P. 281–287.
23. Alimoghaddam K., Jahani M., Mousavi S. et al. // Inter. J. of Hematol.-Oncol. and Stem Cell Res. 2011. Vol. 5, N 3. P. 24–31.
24. Ogawa H., Ikegame K., Yoshihara S. et al. // Biol. Blood Marrow Transplant. 2006. Vol. 12. P. 1073–1084.
25. Satwani P., Cooper N., Rao K. et al. // Bone Marrow Transplantation. 2008. Vol. 41. P. 173–182.
26. O'Donnell P. V., Luznik L. et al. // Biol. Blood Marrow Transplant. 2002. Vol. 8. P. 377–386.

Y. ISAIKINA, Y. MAREIKA, D. PRUDNIKOV, N. MINAKOVSKAYA, L. SPIVAK, O. ALENIKOVA

HEMATOPOIETIC RECONSTITUTION AFTER ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION IN CHILDREN WITH ONCOHEMATOLOGIC DISEASES

Summary

We have investigated the influence of HLA matching between donor and recipient, different conditioning regimes and the cellular composition of the graft on hematopoietic recovery in children after allogeneic transplantation of HSCs. The study included 126 patients at the age of 1–18 years. The results showed no differences in terms of hematopoietic recovery depending on the HLA match for bone marrow transplantation. We have identified the risk group with delay hematopoietic recovery after allogeneic HSCT and therefore elongation of the cytopenia period. These are patients who have received the HLA mismatch graft of mobilized PBSC with low TNC/kg and CD34+/kg, or children who are transplanted with a low dose of HLA mismatch CD34+ cells after selection, particularly after myeloablative conditioning.

УДК 616.98:578.828 + 616-002.5

Л. К. СУРКОВА

ПАТОМОРФОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ТУБЕРКУЛЕЗА ЛЕГКИХ НА ПОЗДНИХ СТАДИЯХ ВИЧ-ИНФЕКЦИИ

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

(Поступила в редакцию 04.05.2012)

Введение. В последние годы в Республике Беларусь среди инфицированных вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) отмечается неуклонный рост заболеваемости туберкулезом, который и является основной причиной смерти таких пациентов [1–3].

За период с 2002 по 2011 г. в Республике Беларусь кумулятивное число ВИЧ-ассоциированного туберкулеза (ВИЧ/ТБ) увеличилось в 27,7 раза и составило на 01.01.2012 г. 1804 человека. Известно, что у лиц, инфицированных ВИЧ и МБТ, ежегодная вероятность развития туберкулеза составляет около 10%, тогда как у не инфицированных ВИЧ эта вероятность не превышает 10% на протяжении всей жизни.

Стремительное нарастание множественной лекарственной устойчивости возбудителя туберкулеза, в том числе у ВИЧ-инфицированных, резко ограничило возможности излечения туберкулеза и привело к увеличению летальных исходов [4, 5].

При анализе морфологических проявлений туберкулезного воспаления у умерших от ВИЧ-инфекции на стадии СПИД отмечается преимущественно генерализованный характер поражения с минимальными проявлениями продуктивной гранулематозной реакции и преобладанием экссудации и некроза [6–8]. Своевременная диагностика туберкулеза при сочетании его с ВИЧ-инфекцией, особенно на стадии СПИД, представляет большие трудности как по клинико-лабораторным, так и морфологическим данным [9, 10].

Неблагоприятная эпидемическая ситуация по туберкулезу среди ВИЧ-инфицированных, сложность своевременной диагностики туберкулеза, особенно на поздних стадиях ВИЧ-инфекции, требуют переоценки сложившихся ранее представлений о туберкулезе и изучения патоморфологических проявлений на современном этапе.

Цель работы – выявить особенности патоморфологических проявлений туберкулеза при патологоанатомическом исследовании умерших от ВИЧ-инфекции на стадии СПИД.

Материалы и методы исследования. Проанализированы результаты патологоанатомических вскрытий в двух группах пациентов, умерших в клинике РНПЦ пульмонологии и фтизиатрии за период с 2006 по 2011 г., с изучением протоколов вскрытий, патологоанатомических эпикризов и историй болезни.

В первую группу были включены 15 умерших пациентов (8 мужчин, 7 женщин) с сочетанием туберкулеза и ВИЧ/СПИД-инфекции (основная группа), вторую группу (контрольную) составили 10 пациентов (5 мужчин, 5 женщин), умерших от туберкулеза без ВИЧ-инфекции.

Во всех случаях аутопсий проводили макроскопическое и микроскопическое исследование препаратов легких и других органов. Аутопсийный материал, взятый из различных органов, фиксировали в 10%-ном растворе нейтрального формалина, затем производили заливку кусочков органов в парафиновые блоки. Гистологические срезы окрашивали гематоксилином и эозином, по ван Гизону, Цилю–Нильсену и Романовскому–Гимзе (выборочно).

Также делали мазки-отпечатки с поверхности разреза легких и лимфатических узлов с последующей окраской по Цилю–Нильсену. Определение антител к ВИЧ в сыворотке крови проводили методом иммуноферментного анализа (ИФА).

Согласно классификации ВОЗ, у 13 умерших ВИЧ-инфекция была на IV стадии (СПИД), у 2 – на III стадии [3]. Средний возраст умерших ВИЧ-инфицированных, больных туберкулезом, составил $34,1 \pm 1,3$ года. Большинство ($n = 14$) пациентов с коинфекцией (ВИЧ и туберкулез) не работали, из них двое были инвалидами II и III групп, трое прибыли из ИТУ и один БОМЖ. Двое страдали хроническим алкоголизмом, двое были наркозависимыми (один из них инъекционный наркоман).

Контрольная группа была идентична по возрасту.

ВИЧ-инфекция была первичной у 11 человек, на фоне уже имеющегося туберкулеза ВИЧ-инфекция возникла у 1, туберкулез и ВИЧ-инфекция были выявлены одновременно у 3 пациентов.

Все пациенты получали соответствующие режимы противотуберкулезной терапии, 6 из них находились на антиретровирусной терапии (АРТ).

Помимо туберкулеза и ВИЧ/СПИД-инфекции у 7 (46,6%) умерших на аутопсии были выявлены другие СПИД-ассоциированные заболевания, которые не были диагностированы при жизни и развивались в процессе прогрессирования ВИЧ-инфекции. Пневмоцистная пневмония была выявлена у троих умерших, в том числе в сочетании с кандидозной пневмонией, инвазивным бронхолегочным аспергиллезом и криптококкозом легкого – у одного. У троих умерших выявлена герпетическая инфекция, в том числе в сочетании с криптококкозом легкого и криптоспорадиозным энтеритом – у одного.

В одном случае выявлен диссеминированный микобактериоз с поражением легких, лимфатических узлов, селезенки, вызванный *M. avium-intracellulare*. У 4 пациентов кроме туберкулеза в сочетании с указанными выше ВИЧ-ассоциированными инфекциями при жизни имелся гепатит С. У всех умерших методом бактериоскопии и/или посева при жизни выявлены микобактерии туберкулеза, из них микобактерии туберкулеза с множественной лекарственной устойчивостью были у 5, с полирезистентностью – у 1 человека.

Результаты и их обсуждение. Непосредственной причиной летального исхода у 11 (73,3%) пациентов с ВИЧ/ТБ явился диссеминированный туберкулез легких с гематогенной и лимфогематогенной генерализацией, сопровождающейся поражением других внутренних органов: печени – у 6, селезенки – у 8, почек – у 3, лимфатических узлов – у 8, ЦНС – у 3 пациентов. У двух человек непосредственной причиной смерти явилась казеозная пневмония (КП). В одном наблюдении КП осложнилась развитием туберкулезного менингоэнцефалита, в другом – генерализацией туберкулезной инфекции с поражением внутренних органов. В одном случае непосредственной причиной смерти явился фиброзно-кавернозный туберкулез легких, осложненный КП. У одного пациента непосредственной причиной смерти явился диссеминированный микобактериоз в сочетании с герпетической пневмонией, криптококкозом легких и ВИЧ-ассоциированным энцефалитом. Туберкулезный менингоэнцефалит при ВИЧ/СПИД-инфекции развивался у трех пациентов на фоне острого прогрессирования и генерализации туберкулеза с обширными поражениями внутренних органов. ВИЧ-ассоциированный менингоэнцефалит с некробиотическими изменениями и выпадением нейронов головного мозга выявлен только у двух умерших.

У 5 умерших пациентов диссеминированный туберкулез легких наряду с генерализацией во внутренние органы осложнился развитием КП, у 1 – абдоминальным туберкулезом и у 4 – полисерозитом.

В одном случае при отсутствии высокоактивной антиретровирусной терапии отмечено быстрое прогрессирование туберкулеза и множественных СПИД-ассоциированных заболеваний с летальным исходом на фоне клинической декомпенсации цирроза печени алкогольной этиологии и генерализованной герпетической инфекции.

Следовательно, на поздней терминальной стадии ВИЧ/СПИД-инфекции непосредственной причиной смерти являлся остро прогрессирующий туберкулез с гематогенной и лимфогематогенной генерализацией с поражением многих внутренних органов, ЦНС, лимфатических узлов.

В контрольной группе (туберкулез без ВИЧ-инфекции) причинами смерти явились: казеозная пневмония, диссеминированный и фиброзно-кавернозный туберкулез легких без признаков генерализации туберкулеза.

Одной из особенностей туберкулеза на стадии СПИД являлась склонность к быстрой генерализации процесса, которая носила лимфогематогенный характер. Другой особенностью ВИЧ/ТБ являлась высокая частота сочетания туберкулеза с другими СПИД-ассоциированными заболеваниями (у 46,6% умерших). Туберкулезное воспаление у ВИЧ-инфицированных на стадии СПИД имело своеобразную морфологическую картину. В картине туберкулезного воспаления преобладала экссудативно-некротическая тканевая реакция, практически отсутствовала продуктивная реакция, что приводило к утрате черт специфичности туберкулезного воспаления. Формирующиеся гранулемы, которые выявлялись, как правило, при проведении противотуберкулезной и антиретровирусной терапии, не имели типичного строения и были представлены макрофагами, лейкоцитами, немногочисленными эпителиоидными клетками. Кое-где определялись гигантские многоядерные клетки Пирогова–Лангханса.

Характерно наличие однотипных по морфологическому строению очагов казеозно-гнойного и/или гнойно-некротического воспаления. При окраске срезов по Цилю–Нильсену в гнойно-некротических очагах выявлялось большое количество кислотоупорных микобактерий (КУБ). В туберкулезный процесс вовлекались кровеносные сосуды с развитием как специфических, так и неспецифических васкулитов. Признаков организации и отграничения фокусов гнойно-некротического воспаления не отмечалось. Наблюдалась высокая частота вовлечения в процесс различных групп лимфатических узлов (периферических, внутригрудных (переднего и заднего средостения), мезентериальных) – у 8 (53,3%) умерших от ВИЧ/ТБ-инфекции. Туберкулезное поражение лимфатических узлов носило тотальный либо субтотальный характер. В сохранившихся участках лимфоузлов наблюдалось истощение лимфоидной ткани с редукцией фолликулов.

В структуре ВИЧ-инфицированных грибковых инфекций преобладающими являлись поражения легких, ЦНС, лимфатических узлов, реже – печени, кишечника, сальника, ротоглотки. Изменения были многообразные – от гнойно-некротических очагов воспаления до пневмонических очагов и очагов мононуклеарно-гистиоцитарной инфильтрации, и только выявление возбудителя в очагах воспалительной инфильтрации позволяло определить этиологию поражения.

Криптококкоз, вызываемый дрожжевым грибом *Cryptococcus neoformans*, у 3 пациентов протекал с поражением легких, ЦНС, печени, лимфатических узлов, кишечника в ассоциации с другими оппортунистическими инфекциями. Во всех случаях подтверждением диагноза служило обнаружение скоплений криптококков в виде округлых, реже овальных клеток с двухконтурной оболочкой в виде светлого ореола.

Пневмоцистная пневмония, вызываемая условнопатогенным грибом необычного типа (*Pneumocystis jiroveci*), была обнаружена у трех умерших, причем двое из них получали АРТ.

При гистологическом исследовании в просвете альвеол обнаруживались гомогенные пенные эозинофильные массы, в которых определялись пневмоцисты с дочерними формами. Вокруг скоплений пневмоцист наблюдались нейтрофилы, макрофаги, плазматические клетки.

При кандидозной пневмонии в легких определялась лейкоцитарная инфильтрация, местами с абсцедированием, и отмечался рост мицелия грибов кандид с наличием спорообразующих форм. В просвете альвеол выявлялись слущенный эпителий, макрофаги, эозинофильное содержимое. Просветы были заполнены грибами *Candida*.

Герпетическая инфекция при ВИЧ/СПИД-ассоциированном туберкулезе проявлялась в виде герпетической пневмонии, менингоэнцефалита, поражения сердца, печени, полости рта, подчелюстной железы и протекала в ассоциации с грибковыми поражениями, в частности с криптококкозом легких.

Заключение. Особенностью туберкулеза у ВИЧ-инфицированных на стадии СПИД являлась развитие генерализованного туберкулеза с полиорганным поражением в 73,3% наблюдений и высокая частота присоединения вторичных оппортунистических инфекций (у 46,6% умерших), которые также принимали прогрессирующий или генерализованный характер. Морфологические проявления туберкулезного воспаления характеризовались:

утратой черт специфичности и признаков волнообразности течения туберкулезного воспаления;
мономорфностью казеозно-некротических или гнойно-некротических очагов без тенденции отграничения;
преобладанием гнойного расплавления очагов с обилием распадающихся полиморфных лейкоцитов;
отсутствием элементов продуктивного воспаления и типичных гранулем;
наличием перифокально выраженной экссудативной реакции;
наличием большого количества КУБ в некротических очагах.

Частое присоединение другой оппортунистической инфекции, имеющих сходные с туберкулезом морфологические изменения, создают трудности в морфологической верификации туберкулеза и требуют применения дополнительных методов окраски срезов и/или мазков-отпечатков по Цилю–Нильсену либо бактериологического посева тканевых объектов на микобактерии туберкулеза. Другие оппортунистические инфекции (криптококкоз, пневмоцистная пневмония, бронхолегочный кандидоз, аспергиллез, герпетическая инфекция) требуют поиска самих возбудителей и специфических изменений в тканях.

Литература

1. *Пантелеев А. М.* [и др.] // Пробл. туберкулеза и болезней легких. 2005. № 10. С. 46–48.
2. Расширенная программа DOTS по борьбе с туберкулезом. Глобальная инициатива «Остановить туберкулез» / ВОЗ. Женева, 2002.
3. ТБ/ВИЧ: клин. руководство / ВОЗ. 2-е изд. Женева, 2004.
4. *Ерохин В. В., Корнилова З. Х., Алексеева Л. П.* // Пробл. туберкулеза и болезней легких. 2005. № 10. С. 20–27.
5. Руководство по программному ведению лекарственно-устойчивого туберкулеза / ВОЗ. Женева, 2007.
6. *Ерохин В. В., Лепеха Л. Н., Пархоменко Ю. Г.* и др. // Арх. патологии. 2007. № 3. С. 26–28.
7. *Пархоменко Ю. Г., Тишкевич О. А., Зюзя Ю. Р.* // Арх. патологии. 2008. № 6. С. 44–48.
8. *Красавцев Е. Л., Зиновкин Д. А., Тумаиш О. Л.* и др. // Проблемы патоморфологической диагностики современных инфекций и других заболеваний: материалы II съезда патологоанатомов Республики Беларусь, Гомель, 26–27 мая 2011 г. Гомель, 2011. С. 121–125.
9. *Пархоменко Ю. Г., Зюзя Ю. Р., Флигиль Д. М.* // Арх. патологии. 2011. № 5. С. 9–12.
10. *Бабаева И. Ю., Демикова О. В., Кравченко А. В.* // Туберкулез и болезни легких. 2010. № 8. С. 57–61.

L. K. SURKOVA

PATHOMORPHOLOGICAL FEATURES OF PULMONARY TUBERCULOSIS AT THE LATE HIV INFECTION STAGES

Summary

The cause of mortality and the pathoanatomical manifestations of tuberculosis were studied from pathoanatomical autopsy of patients died from tuberculosis in combination with HIV-AIDS infection (15 patients) and from tuberculosis without HIV infection (10 patients).

It is found that generalized forms of tuberculosis were the immediate cause of the death of 73.3% of patients died from HIV/TB, in what follows tuberculosis in 46.6% of patients was one of several other diseases which developed during the period of progression of HIV infection (cryptococcosis, pneumocystis pneumonia, bronchopulmonary aspergillosis, moniliasis pneumonia, herpetic infection).

Specific features of pathomorphological manifestations of HIV associated tuberculosis, allowing the optimization of morphological diagnosis of tuberculosis at the advanced stages of HIV infection, were revealed.

УДК 616.314-089:616.314-76-026.569

И. К. ЛУЦКАЯ, В. П. КАВЕЦКИЙ

КРИТЕРИИ КАЧЕСТВА ПРЕПАРИРОВАНИЯ ОПОРНЫХ ЗУБОВ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ АДГЕЗИВНЫХ ВОЛОКОННЫХ КОНСТРУКЦИЙ

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

(Поступила в редакцию 07.02.2012)

Введение. Одной из актуальных задач современной стоматологии является замещение малых включенных дефектов зубного ряда [1–3]. Адгезивные волоконные конструкции (АВК) – сравнительно новое, перспективное направление терапевтической и ортопедической стоматологии, позволяющее решать данную проблему с минимальным инвазивным вмешательством на твердых тканях опорных зубов [4–7]. Благодаря органосохраняющему подходу при изготовлении современных адгезивных конструкций они приобретают все большую популярность среди врачей и пациентов [8–11]. Первоначально адгезивные протезы рассматривались как обратимые конструкции, что, соответственно, вообще не предусматривало препарирования опорных зубов [2]. На современном этапе такой подход оправдан только при изготовлении временных адгезивных конструкций [2].

В настоящее время существует множество подходов и методов препарирования под АВК [12–16]. Широкий интерес к реализации этапа препарирования продиктован не только разнообразием встречающихся в практике клинических ситуаций, но и наличием объективно присущих данным конструкциям проблематичных зон, которые являются причиной снижения сроков их эксплуатации. Основная и практически единственная проблема АВК – это разрушение адгезионного соединения промежуточной части протезов с опорными зубами либо путем нарушения фиксации ретенционных элементов, либо в результате их повреждения [14–16]. Поэтому остаются весьма актуальными вопросы усиления АВК при сохранении их минимальной инвазивности.

По данным литературных источников, большинство авторов уделяют внимание вопросам, связанным с дизайном, площадью и глубиной препарирования опорных зубов при изготовлении АВК [9, 11, 13]. Нисколько не преуменьшая важность вышеперечисленных аспектов, не менее принципиальным, на наш взгляд, является качество проведения этапа препарирования. Функциональность и эстетичность АВК, их долговечность, состояние опорных зубов в ближайшие и отдаленные сроки наблюдения во многом зависят от качественной подготовки опорных зубов.

Цель исследования – разработка критериев, позволяющих оценить качество препарирования опорных зубов при изготовлении основных видов адгезивных волоконных конструкций.

Перед изготовлением АВК оценивается гигиеническое состояние полости рта, особое внимание уделяется обследованию опорных зубов. Исследование проводится визуально невооруженным глазом, с помощью зубоврачебного зонда, красителей и оптических систем. Изготовление АВК возможно лишь при полном отсутствии зубного налета, зубного камня, шероховатостей на всех поверхностях коронок, корней и шеек зубов. При обнаружении любого количества зубного налета, камня, шероховатостей необходимо провести их удаление, после чего повторно оценить гигиеническое состояние полости рта. При получении отличного результата можно приступить к следующему этапу изготовления АВК – препарированию опорных зубов.

По окончании препарирования визуально невооруженным глазом, с помощью зубоврачебного зонда и оптических систем оценивается качество проведенного этапа подготовки опорных зу-

бов. По результатам комплексного обследования препарированных площадок выставляется оценка по следующей градации: «отлично», «хорошо», «удовлетворительно».

Изготовление АВК в боковом участке зубного ряда. Оценка «отлично» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – не менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина соответствует ширине выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на проксимальной поверхности площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края. Оклюзионный контакт не попадает на границу «пломба–зуб». Глубина площадок на окклюзионных поверхностях составляет 2,0–2,5 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, мелкие раковины, трещины и шероховатости. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «хорошо» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – не менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина – на 1,0–1,5 мм больше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на проксимальной поверхности площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края. Оклюзионный контакт не попадает на границу «пломба–зуб». Глубина площадок на окклюзионных поверхностях составляет 2,0–2,5 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, трещины, имеются единичные шероховатости и незначительное количество (5–10) мелких раковин. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «удовлетворительно» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям: размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина – меньше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на проксимальной поверхности площадки располагается на 2,0–2,5 мм выше уровня десневого края. Оклюзионный контакт попадает на границу «пломба–зуб». Глубина площадок на окклюзионных поверхностях составляет 0,5–1,0 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, наружные кромки площадок сглажены, имеются отдельные выступы, шероховатости и значительное количество мелких раковин. Рельеф дна площадки не соответствует рельефу пульпарной полости.

Изготовление АВК в переднем участке зубного ряда. Оценка «отлично» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – не менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина соответствует ширине, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 2 мм ниже уровня режущего края. Оклюзионный контакт не попадает на границу «пломба–зуб». Глубина площадок на оральных поверхностях составляет 1,5–2,0 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок; отсутствуют выступы, сколы, мелкие раковины, трещины и шероховатости. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «хорошо» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – не менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина – на 1,0–1,5 мм больше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 1 мм ниже уровня режущего края. Оклюзионный контакт не попадает на границу «пломба–зуб». Глубина площадок на оральных поверхностях составляет 1,5–2,0 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, трещины, имеются единичные шероховатости и незначительное количество (5–10) мелких раковин. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «удовлетворительно» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина – меньше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной площадки располагается на 2,0–2,5 мм выше уровня десневого края. Окклюзионный контакт попадает на границу «пломба–зуб». Глубина площадок на оральных поверхностях составляет 0,5 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, наружные кромки площадок сглажены, имеются отдельные выступы, шероховатости и значительное количество мелких раковин. Рельеф дна площадки не соответствует рельефу пульпарной полости.

Изготовление АВК при наличии кариозных полостей на опорных зубах. Оценка «отлично» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Отсутствуют остатки ранее выполненных реставраций, не определяется размягченный дентин, зонд скользит, не задерживается. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – не менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина соответствует ширине, выбранной для изготовления каркаса ленты. Окклюзионный контакт не попадает на границу «пломба–зуб». Граница отпрепарированной площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края. Глубина площадок на окклюзионных поверхностях составляет 2,0–2,5 мм. При изготовлении АВК в переднем отделе зубного ряда граница отпрепарированной площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 2 мм ниже режущего края. Глубина площадок на оральных поверхностях составляет 1,5–2,0 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, мелкие раковины, трещины и шероховатости. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «хорошо» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Отсутствуют остатки ранее выполненных реставраций, не определяется размягченный дентин, зонд скользит, не задерживается. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – не менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина – на 1,0–1,5 мм больше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Окклюзионный контакт не попадает на границу «пломба–зуб». Граница отпрепарированной площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края. Глубина площадок на окклюзионных поверхностях составляет 2,0–2,5 мм. При изготовлении АВК в переднем отделе зубного ряда граница отпрепарированной площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 1 мм ниже уровня режущего края. Глубина площадок на оральных поверхностях составляет 1,5–2,0 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, трещины, имеются единичные шероховатости и незначительное количество (5–10) мелких раковин. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «удовлетворительно» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Присутствуют остатки ранее выполненных реставраций, определяется размягченный дентин, зонд не скользит, задерживается. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина – меньше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Окклюзионный контакт попадает на границу «пломба–зуб». Граница отпрепарированной на проксимальной поверхности площадки располагается на 2,0–2,5 мм выше уровня десневого края. Глубина площадок на окклюзионных поверхностях составляет 0,5–1,0 мм. При изготовлении АВК в переднем отделе зубного ряда граница отпрепарированной на проксимальной поверхности площадки располагается на 2,0–2,5 мм выше уровня десневого края. Глубина площадок на оральных поверхностях составляет 0,5 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, наружные кромки площадок сглажены; имеются отдельные выступы, шероховатости и значительное количество мелких раковин. Рельеф дна площадки не соответствует рельефу пульпарной полости.

Изготовление АВК с использованием вестибулярных поверхностей зубов. Оценка «отлично» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям:

размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – не менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина соответствует ширине, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на проксимальной и вестибулярной поверхностях площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 2 мм ниже уровня режущего края. Выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под прямым углом ко дну. Глубина площадок на вестибулярных поверхностях составляет 1,5–2,0 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, мелкие раковины, трещины и шероховатости. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «хорошо» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – не менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина – на 1,0–1,5 мм больше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на проксимальной и вестибулярной поверхностях площадки располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 1 мм ниже уровня режущего края. Выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под прямым углом ко дну. Глубина площадок на вестибулярных поверхностях составляет 1,5–2,0 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, трещины, имеются единичные шероховатости и незначительное количество (5–10) мелких раковин. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «удовлетворительно» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Размеры отпрепарированных площадок для расположения адгезивных накладок составляют: длина – менее 1/2 мезио-дистального размера опорного зуба, ширина – меньше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на проксимальной и вестибулярной поверхностях площадки располагается на 2,0–2,5 мм выше уровня десневого края. Не выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под тупым углом ко дну. Глубина площадок на вестибулярных поверхностях составляет 0,5 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, наружные кромки площадок сглажены, имеются отдельные выступы, шероховатости и значительное количество мелких раковин. Рельеф дна площадки не соответствует рельефу пульпарной полости.

Изготовление шинирующей АВК. Оценка «отлично» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Отпрепарированная борозда расположена частично на проксимальных поверхностях и по всей выбранной для фиксации волокна поверхности (оральной, вестибулярной, окклюзионной), ширина соответствует ширине, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на оральной (вестибулярной) поверхности борозды располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 2 мм ниже уровня режущего края. Выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под прямым углом ко дну. Отпрепарированная борозда имеет одинаковую глубину на всем протяжении. Глубина площадок на вестибулярных поверхностях составляет 1,5–2,0 мм, на окклюзионных – 2,0–2,5 мм. Окклюзионный контакт не попадает на границу «пломба–зуб». При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, мелкие раковины, трещины и шероховатости. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «хорошо» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям: отпрепарированная борозда расположена частично на проксимальных поверхностях и по всей выбранной для фиксации волокна поверхности (оральной, вестибулярной, окклюзионной), ширина – на 1,0–1,5 мм больше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на оральной (вестибулярной) поверхности борозды располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 1 мм ниже уровня режущего края. Выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под прямым углом ко дну. Отпрепарированная борозда имеет одинаковую глубину на всем протяжении. Глубина

площадок на вестибулярных поверхностях составляет 1,5–2,0 мм, на окклюзионных – 2,0–2,5 мм. Окклюзионный контакт не попадает на границу «пломба–зуб». При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, трещины, имеются единичные шероховатости и незначительное количество (5–10) мелких раковин. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «удовлетворительно» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Отпрепарированная борозда расположена только по всей выбранной для фиксации волокна поверхности (оральной, вестибулярной, окклюзионной) и не заходит на проксимальные поверхности, ширина – меньше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной на оральной (вестибулярной) поверхности борозды располагается на 2,0–2,5 мм выше уровня десневого края. Не выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под тупым углом ко дну. Отпрепарированная борозда имеет неодинаковую глубину на всем протяжении. Глубина площадок на вестибулярных поверхностях составляет 0,5 мм, на окклюзионных – менее 1,0 мм. Окклюзионный контакт попадает на границу «пломба–зуб». При зондировании определяются скругленные внутренние углы, наружные кромки площадок сглажены, имеются отдельные выступы, шероховатости и значительное количество мелких раковин. Рельеф дна площадки не соответствует рельефу пульпарной полости.

Изготовление шинирующей АВК с круговой фиксацией. Оценка «отлично» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Отпрепарированная борозда расположена по всему периметру зуба, ширина соответствует ширине, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной борозды располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 2 мм ниже уровня режущего края. Выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под прямым углом ко дну. Отпрепарированная борозда имеет одинаковую глубину на всем протяжении. Глубина площадок составляет 1,0–1,5 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, мелкие раковины, трещины и шероховатости. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «хорошо» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Отпрепарированная борозда расположена по всему периметру зуба, ширина – на 1,0–1,5 мм больше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной борозды располагается на 1 мм выше уровня десневого края и на 1 мм ниже уровня режущего края. Выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под прямым углом ко дну. Отпрепарированная борозда имеет одинаковую глубину на всем протяжении. Глубина площадок составляет 1,0–1,5 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, сглаженные наружные кромки площадок, отсутствуют выступы, сколы, трещины, имеются единичные шероховатости и незначительное количество (5–10) мелких раковин. Рельеф дна площадки соответствует рельефу пульпарной полости.

Оценка «удовлетворительно» выставляется, когда результаты препарирования отвечают следующим требованиям. Отпрепарированная борозда расположена по всему периметру зуба, ширина – меньше ширины, выбранной для изготовления каркаса ленты. Граница отпрепарированной борозды располагается на 2,0–2,5 мм выше уровня десневого края. Не выполнен скос эмали в сторону режущего края, придесневая стенка площадки отпрепарирована под тупым углом ко дну. Отпрепарированная борозда имеет неодинаковую глубину на всем протяжении. Глубина площадок составляет менее 0,5 мм. При зондировании определяются скругленные внутренние углы, наружные кромки площадок сглажены, имеются отдельные выступы, шероховатости и значительное количество мелких раковин. Рельеф дна площадки не соответствует рельефу пульпарной полости.

При определении качества подготовки опорных зубов с оценкой «отлично» врач имеет возможность перейти к последующим этапам изготовления волоконного АМП без дополнительных манипуляций. Если уровень качества подготовки зубов оценивается как «хорошо», врач обязан проанализировать выявленные недостатки препарирования, провести их коррекцию, а затем по-

вторно оценить качество работ по всем признакам и в случае получения результата «отлично» приступить к выполнению последующих этапов изготовления АМП. При выявлении недостатков, не зависящих от манипуляций стоматолога (неравномерная структура поверхности, флюороз, прижизненные трещины, тонкая пришеечная стенка и др.) и не позволяющих провести этап препарирования на «отлично» врач должен более тщательно выполнять манипуляции, которые позволят в процессе изготовления конструкции нивелировать выявленные недостатки. В дальнейшем конструкции, изготовленные с учетом этих недостатков, подвергаются более пристальному динамическому наблюдению. При оценке «удовлетворительно» качества проведенных работ врач должен повторно провести весь этап препарирования с учетом выявленных недостатков. Затем повторно оценить качество работ по всем признакам и в случае получения результата «отлично» приступить к выполнению последующих этапов изготовления АМП. При изготовлении шинирующей конструкции производится оценка качества подготовки каждого зуба в отдельности. Выполнение последующих этапов изготовления АМП возможно лишь при определении качества подготовки всех опорных зубов с оценкой «отлично». Оценка «неудовлетворительно» не включена в исследование, поскольку грубые ошибки на этапе подготовки опорных зубов приведут в дальнейшем к нарушению изготовления всей конструкции.

Заключение. Внедрение в практику разработанных критериев оценки качества препарирования опорных зубов позволит повысить уровень оказания стоматологической помощи пациентам с малыми включенными дефектами зубных рядов и заболеваниями периодонта, а также увеличит сроки функционирования конструкций, снизит количество ошибок и осложнений при применении данного вида восстановительного лечения.

Литература

1. Наумович С. А., Борунов А. С., Кайдов И. В. // Современная стоматология. 2006. № 2. С. 34–38.
2. Петрикас О. А. Несъемные адгезивные протезы // Стоматология. 2004. № 2. С. 39–40.
3. Чумаченко Е. Н., Арутюнов С. Д., Лебедево И. Ю. Математическое моделирование напряженно-деформированного состояния зубных протезов. М., 2003. – 271 с.
4. Гришин С. Ю., Жолудев С. Е. // Институт стоматологии. 2006. № 4. С. 50–53.
5. Кузнецова Е. А. Биомеханика адгезивных мостовидных протезов с арамидной нитью и их клинорентгенологическая оценка: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.21 / ЦНИИ стоматологии РФ. М., 2000. – 23 с.
6. Луцкая И. К. Основы эстетической стоматологии. Минск, 2005. – 333 с.
7. Ряховский А. Н. // Панорама ортопед. стоматологии. 2002. № 3. С. 2–9.
8. Ервандян А. Г., Аветисян Р. А. // Образование, наука и практика в стоматологии: сб. тр. Всерос. науч.-практ. конф. М., 2004. С. 122–124.
9. Мокренко Е. В., Семикозов О. В. // Клиническая стоматология. 2006. № 2. С. 26–29.
10. Мышкова Е. А. // Организация, профилактика, новые технологии и реабилитация в стоматологии: материалы IV съезда стоматологов Беларуси. Витебск, 2000. С. 247–249.
11. Ряховский А. Н., Каранетян А. А., Кузнецова Е. А. и др. // Зубной техник. 2000. Т. 19, № 2. С. 18–21.
12. Пархамович С. Н., Наумович С. А. // Современная стоматология. 2007. № 4. С. 25–29.
13. Петрикас О. А., Клюев Б. С. // Стоматология. 1997. № 3. С. 46–50.
14. Соколова И. В., Петрикас О. А., Петрикас И. В. // Клиническая стоматология. 2008. № 3. С. 64–66.
15. Dyer S. R., Lassila L. V. J., Alander P., Vallittu P. K. // J. of Oral Rehabilitation. 2005. N 32. P. 351–357.
16. Kolbeck C., Rosentritt M., Behr M. et al. // J. of Oral Rehabilitation. 2002. N 29. P. 668–674.

I. K. LUTSKAYA, V. P. KAVETSKY

TEETH PREPARATION QUALITY EVALUATION CRITERIA FOR FIBER ADHESIVE STRUCTURES DEVELOPMENT

Summary

Supporting teeth preparation during the development of fiber adhesive structures is considered. Evaluation criteria of teeth preparation quality with different reinforcing frame layouts are proposed. The preparation quality influence on the next stages of adhesive structures development was analyzed. Basic requirements for the supporting teeth prepared cavities of different prostheses types were refined.

УДК 616.8-009.832 + 616.853

С. А. ЛИХАЧЕВ, В. Д. РЫБАКОВА, Л. П. ПАРХАЧ

ОЦЕНКА ОКСИГЕНАЦИИ КОРЫ ГОЛОВНОГО МОЗГА У ПАЦИЕНТОВ С ПРЕХОДЯЩИМИ ПОТЕРЯМИ СОЗНАНИЯ ПО ДАННЫМ ЦЕРЕБРАЛЬНОЙ ОКСИМЕТРИИ

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

(Поступила в редакцию 14.05.2012)

Введение. К преходящим потерям сознания (ППС) относят нейрогенные обмороки (НО) и эпилептические приступы (ЭП), которые часто трудно дифференцировать [1–4]. НО – одна из наиболее часто встречающихся форм расстройств сознания, связанных с нарушением регуляции сосудистого тонуса и ритма сердца [5]. Механизм потери сознания при обмороках обусловлен развитием транзиторной церебральной гипоперфузии вследствие острой гемодинамической реакции, вызванной внезапным повышением активности парасимпатической и уменьшением активности симпатической нервной системы при избыточной афферентной импульсации от рецепторных зон блуждающего нерва, сопровождающейся снижением периферического сопротивления сосудов, уменьшением возврата крови по венам к сердцу и сердечного выброса. Большое значение имеют исходная функциональная неполноценность церебральных структур, регулирующих гемодинамику, формирование «синкопальной готовности» в результате нарастания дисфункции стволовых структур на фоне повторных гипоксических состояний, развитие устойчивого патологического состояния мозга с дефектом систем, обеспечивающих адекватный общий и церебральный кровоток [6].

Основные механизмы эпилептогенеза обусловлены нарушениями внутриклеточного и межклеточного метаболизма в головном мозге, в частности изменениями в системах нейронов, их мембран, синапсов возбуждающего и тормозного типа, глии [7]. Расстройства метаболической генерации энергии, изменение ингибиторных и возбуждающих интермедиаторов приводят к электролитному дисбалансу, спонтанной деполяризации и колебаниям стабильности мембран. Несоответствие уровня эпилептической активности и гемодинамического обеспечения определенных участков мозга в комбинации с венозной гиперемией способствует развитию циркуляторной гипоксии мозга и прогрессированию эпилептического процесса [8].

Внедрение в клиническую практику методов неинвазивной оценки оксигенации мозга, в частности метода церебральной оксиметрии на основе использования принципа оптической спектроскопии, позволяет получить информацию о балансе между доставкой кислорода в головной мозг и его потреблением [9, 10].

Оценка насыщения тканей кислородом с применением оксиметрии у пациентов с ППС представляет несомненный интерес для объективизации имеющихся нарушений с последующей разработкой путей их коррекции. В доступной литературе не найдены работы по использованию церебральных оксиметров у пациентов с эпилепсией и обмороками в межприступном периоде.

Цель исследования – изучение оксигенации тканей у пациентов с нейрогенными обмороками и эпилептическими приступами в межприступном периоде с применением церебральной оксиметрии.

Материалы и методы исследования. Изучены параметры оксигенации (rSO_2) у 94 пациентов с ППС (13 мужчин и 81 женщина) в возрасте от 17 до 44 лет. Первая группа состояла из 41 па-

циента с НО (медиана возраста 23,0 года, межквартильный интервал 19,5–28,5 года), вторая – из 53 человек с фокальными и вторично-генерализованными ЭП (медиана возраста 26, межквартильный интервал 20–31 год). В контрольную группу вошел 41 здоровый доброволец – 5 мужчин и 36 женщин (медиана возраста 25, межквартильный интервал 23–34 года). Все испытуемые были правшами.

Пациенты проходили обследование и лечение в РНПЦ неврологии и нейрохирургии г. Минска в период с 2009 по 2011 г. Диагноз эпилепсии устанавливали по данным клинического, электрофизиологического, нейровизуализационного обследований [11], диагноз НО и дифференциальный диагноз – в соответствии с принятыми большинством исследователей критериями [12].

При оценке биоэлектрической активности головного мозга методом электроэнцефалографии (ЭЭГ) у пациентов с ЭП в межприступном периоде выявлены эпилептиформные паттерны в 96,2% наблюдений. Региональная эпилептиформная активность (ЭА) установлена у 64,1% пациентов (локализация в правом полушарии головного мозга – у 30,2%, в левом – у 33,9%), мультирегиональная ЭА – у 7,5%, генерализованная ЭА – у 24,5%. Изучение показателей регионарного насыщения гемоглобина кислородом (rSO_2) в кортикальных отделах лобных долей головного мозга ($CrSO_2$) и скелетных мышц (*brachioradialis muscle*) в области предплечий ($MrSO_2$) осуществлялось с использованием оксиметра Somanetics 5100C (INVOS cerebral/somatic oximeter) производства Somanetics Corporation (США). В приборе применена технология измерения насыщения крови кислородом на основе спектрофотометрии оксигемоглобина в ближней инфракрасной области с использованием излучения низкой интенсивности. Уровень насыщения кислородом крови в сосудах тканей, расположенных под сенсором, определяли при непосредственном контактном накладывании датчика SomaSensog (с защитной пленкой) на кожу пациента в течение 30 с (обновление сигнала каждые 4 с) и рассчитывали средний показатель rSO_2 . Измеряемый параметр: rSO_2 – отношение концентрации оксигенированного гемоглобина к общему гемоглобину, выраженный в процентах. Церебральная оксиметрия оценивает насыщение гемоглобина кислородом преимущественно в церебральных венозных сосудах. В приборе представлена конструкция сенсора с одновременным использованием двух датчиков, улавливающих отраженный инфракрасный свет. Расположение датчиков на определенном расстоянии друг от друга определяет изолированно ту часть светового пучка, которая отражается от церебральных структур. Использование данной конструкции сенсора и математического аппарата позволяет точно определять церебральную оксигенацию за счет автоматического вычитания экстрацеребрального компонента [13].

$CrSO_2^{слева}$ и $CrSO_2^{справа}$ – значения показателя оксигенации кортикальных отделов полушарий головного мозга при установке датчика в лобной области слева и справа соответственно.

$MrSO_2^{слева}$ и $MrSO_2^{справа}$ – значения показателя оксигенации скелетных мышц при установке датчика в области предплечий слева и справа соответственно.

Нами предложены следующие коэффициенты:

$|МПА|$ – модуль коэффициента межполушарной асимметрии, соответствующий абсолютному значению разности параметров оксигенации двух полушарий относительно минимального показателя либо слева, либо справа (выражали в процентах):

$$|МПА| = \frac{|CrSO_2^{справа} - CrSO_2^{слева}|}{\min(CrSO_2)} \cdot 100\% .$$

МПА – коэффициент (без модуля) межполушарной асимметрии, примененный нами для оценки направленности изменений оксигенации полушарий. Положительные значения МПА указывали на то, что $CrSO_2^{справа}$ больше $CrSO_2^{слева}$, отрицательные указывали на обратную взаимосвязь.

$|МА|$ – модуль коэффициента мышечной асимметрии и МА – коэффициент мышечной асимметрии (без модуля) рассчитывали как абсолютное значение разности параметров оксигенации мышц предплечий справа и слева, соотносили к минимальному показателю либо слева, либо справа (выражали в процентах):

$$|MA| = \frac{|\text{MrSO}_2^{\text{справа}} - \text{MrSO}_2^{\text{слева}}|}{\min(\text{MrSO}_2)} \cdot 100\%$$

$|ЦМА|$ и ЦМА – модуль коэффициента и коэффициент (без модуля) церебрально-мышечной асимметрии рассчитывали по соотношению разности показателей оксигенации двух полушарий к оксигенации мышц предплечий и к минимальному показателю (выражали в процентах):

$$|ЦМА| = \frac{|\text{MrSO}_2 - \text{CrSO}_2|}{\min(\text{MrSO}_2, \text{CrSO}_2)} \cdot 100\%$$

Статистическую обработку данных выполняли с использованием программ Excel, Statistica 6.0. Проводили проверку данных на характер распределения при помощи критерия Шапиро–Уилка. Данные были представлены в виде медианы и 25–75 перцентилей. Для сравнения применяли критерий Манна–Уитни, корреляционный анализ Спирмена. Различия считали статистически значимыми при $P < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Средние значения показателя оксигенации коры полушарий головного мозга у здоровых лиц в лобной области составили: $\text{CrSO}_2^{\text{слева}} - 67,7$ (64,3; 70,9), $\text{CrSO}_2^{\text{справа}} - 67,5$ (63,5; 72,3). Выявлено превышение $r\text{SO}_2$ в области предплечий по сравнению с оксигенацией коры полушарий с обеих сторон ($P < 0,05$). Результаты средних значений показателя оксигенации у пациентов с ППС и у здоровых лиц представлены на рис. 1.

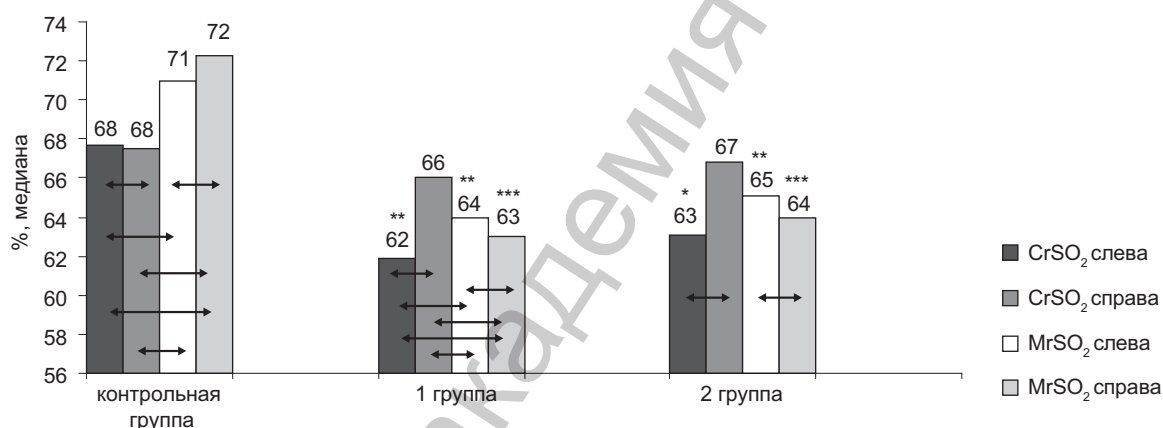


Рис. 1. Параметры оксигенации ($r\text{SO}_2$) у здоровых лиц и у пациентов с ППС. * – $P < 0,05$; ** – $P \leq 0,005$; *** – $P < 0,001$ при сравнении с контрольной группой. \leftrightarrow – корреляционная связь

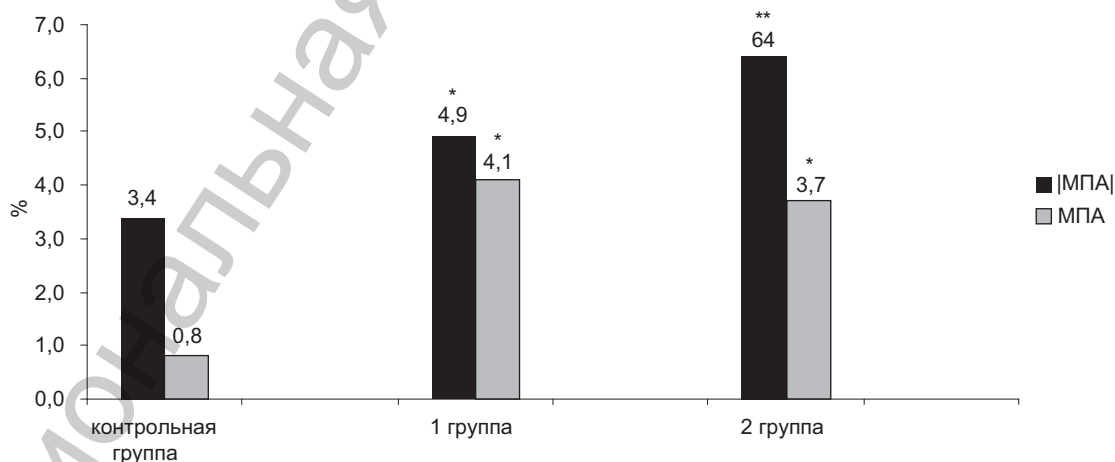


Рис. 2. Коэффициент межполушарной асимметрии у здоровых лиц и у пациентов с ППС. * – $P < 0,05$; ** – $P < 0,005$ при сравнении с контрольной группой

У пациентов с ППС значения rSO_2 были ниже, чем у здоровых лиц: в левой лобной области ($P \leq 0,005$, $P < 0,05$) и в области предплечий ($P \leq 0,005$, $P < 0,001$). Различий в показателях $CrSO_2$ слева, $CrSO_2$ справа, $MrSO_2$ слева, $MrSO_2$ справа между пациентами с НО и ЭП не выявлено ($P > 0,05$).

У здоровых лиц наблюдалась межполушарная асимметрия [МПА], однако у пациентов с ЭП она была увеличена почти в 2 раза ($P = 0,001$) (рис. 2). При этом, по данным ЭЭГ, вне зависимости от латерализации эпилептиформной активности показатель МПА у пациентов с ЭП по сравнению со здоровыми испытуемыми был выше за счет более высоких значений $CrSO_2$ справа ($P = 0,03$).

Аналогичные изменения были выявлены у больных с НО при сравнении со здоровыми лицами: увеличение коэффициента [МПА] ($P = 0,03$) и МПА за счет высоких значений $CrSO_2$ справа ($P = 0,003$).

В группах обследованных лиц различий по коэффициенту [ЦМА] не установлено ($P > 0,05$), однако наблюдался разнонаправленный характер его изменений (рис. 3). У здоровых испытуемых установлено превышение параметров $MrSO_2$ над $CrSO_2$ (ЦМА > 0). У пациентов с ЭП наблюдалось превышение показателей оксигенации в лобной области по сравнению с областью предплечий ($P = 0,04$), прослеживалась тенденция к увеличению rSO_2 у пациентов с НО ($P = 0,08$).

В ходе исследования у здоровых лиц установлена определенная закономерность: сильная корреляция между показателями оксигенации кортикальных отделов левого и правого полушарий головного мозга ($r = 0,85-0,83$), а также скелетных мышц в области предплечий билатераль-

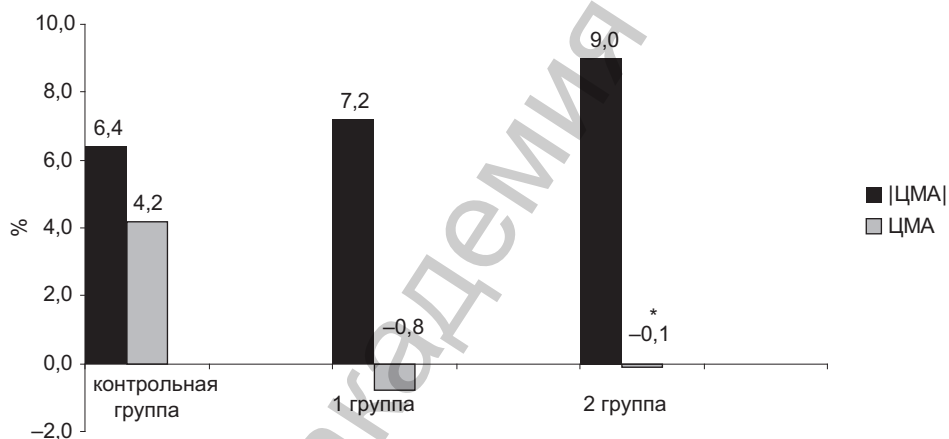


Рис. 3. Коэффициент церебрально-мышечной асимметрии у здоровых лиц и у пациентов с ППС. * – $P < 0,05$ при сравнении с контрольной группой

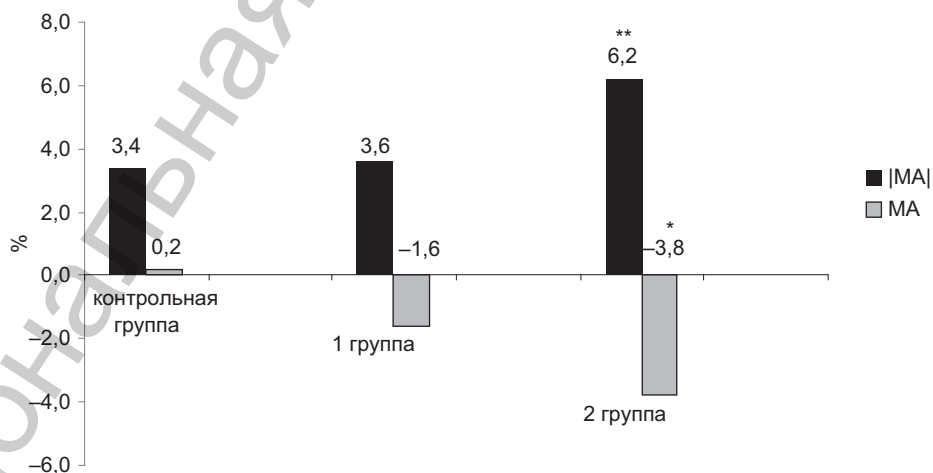


Рис. 4. Коэффициент мышечной асимметрии у здоровых лиц и у пациентов с ППС. * – $P < 0,05$; ** – $P \leq 0,005$ при сравнении с контрольной группой

но (см. рис. 1). Средняя корреляция выявлена между параметрами оксигенации в левой, правой лобной областях и в областях предплечий слева, справа ($r = 0,54-0,53$; $P = 0,0005-0,002$).

У пациентов с НО и ЭП корреляционная зависимость «правое–левое полушарие», а также «правое–левое предплечье» практически не изменялась ($r = 0,8-0,77$). Отличия наблюдались при анализе связей между показателями rSO_2 головного мозга и скелетных мышц: у пациентов с НО корреляционная связь ослабевала ($r = 0,34-0,3$; $P = 0,03-0,04$), у пациентов с ЭП – отсутствовала.

Следует отметить, что отсутствие корреляционных связей у пациентов с ЭП (рис. 1), свидетельствующее о нарушении координационных взаимоотношений rSO_2 головного мозга и скелетных мышц, сопровождалось не только возрастанием коэффициента межполушарной [МПА], но и увеличением асимметрии оксигенации мышц предплечий [МА] ($P = 0,002$). Значения показателей [МА], МА у пациентов с ППС и у здоровых лиц представлены на рис. 4.

Таким образом, у пациентов с НО и ЭП наблюдались более низкие значения показателей оксигенации в области кортикальных отделов головного мозга и мышц предплечий по сравнению со здоровыми лицами. Высокие значения коэффициента межполушарной асимметрии и увеличение значений оксигенации в лобной области над областью предплечий наиболее часто встречались при ЭП. У пациентов с ППС наблюдалось превышение значений rSO_2 в кортикальных отделах правого полушария головного мозга по сравнению с левым.

Функционирование сердечно-сосудистой системы направлено на сохранение адекватного кровотока в головном мозге как фактора, необходимого для выживания организма. Известно, что головной мозг по сравнению с другими органами имеет более развитую анатомо-физиологическую организацию системы регионарного кровотока (РК), вследствие чего механизмы регуляции церебрального кровотока (ЦК) отличаются высокой сложностью и многоуровневым характером своих проявлений, которые позволяют поддерживать стабильную циркуляцию крови. Срыв механизмов саморегуляции ЦК приводит к потере сознания. Так как ЦК является частью системы кровообращения целостного организма, важное значение имеет сочетанное исследование центральной и мозговой гемодинамики.

Экспериментально установлено, что увеличение экстракции кислорода из притекающей к мозгу крови и, как следствие, снижение насыщения гемоглобина кислородом в оттекающей венозной крови, являются одними из первых компенсаторных механизмов, направленных на ликвидацию тканевого дефицита при развитии гипоксии и ишемии [14].

Роль взаимоотношений между полушариями в эпилептогенезе известна, однако механизмы этого взаимодействия до конца не изучены [7]. Было установлено особое значение левого полушария. Показано, что при левополушарных очагах в генерализации эпилептической активности вначале принимает участие левое полушарие, а затем и правое. При правополушарных очагах также вначале вовлекаются структуры левого полушария и только потом правого. Установлено, что по мере нарастания тяжести заболевания происходит увеличение синхронности потенциалов биоэлектрической активности именно в левом полушарии [15].

Данные исследований биоэлектрической активности головного мозга во время развития НО неоднозначны. М. А. Mercader и соавт. [16] показали, что при воспроизведении обморока в ходе пробы с пассивным ортостазом (тилт-тест) у 5 из 6 пациентов наблюдается появление на ЭЭГ неэпилептиформных изменений в виде медленных волн, исходящих преимущественно из левой церебральной гемисферы. Данные других исследователей свидетельствуют о диффузном распространении медленноволновой активности при обмороке [17]. В свою очередь Д. Дупляков и соавт. [18] при проведении тилт-теста зарегистрировали на ЭЭГ эпилептиформную активность у 20 (22%) из 91 пациентов с НО.

Результаты магнитно-резонансной томографии, выявляющей структурные повреждения и аномалии мозга, демонстрируют уменьшение регионального объема среднего и продолговатого мозга, серого вещества в области левого хвостатого ядра у пациентов с обмороками по сравнению со здоровыми лицами [19]. Показано, что больные с резистентной эпилепсией имеют меньший объем мозга и/или мозжечка по сравнению с лицами группы контроля [20].

В последние десятилетия с появлением методов функциональной нейровизуализации стало возможным изучение особенностей кровотока при ЭП и НО как во время приступа, так и в меж-

приступном периоде. У пациентов с ЭП увеличение кровотока в эпилептогенном очаге наблюдается в момент приступа [21–23], а локальная гипоперфузия – в межприступном периоде [24]. Прогрессирование заболевания приводит к эпилептизации мозга с возникновением на биохимическом и молекулярном уровнях функциональных перестроек, таких как изменение постоянного потенциала мозга, избыточной лабильности мембран нейронов, синаптических связей и информационной функции нейронов. Эти изменения сопровождаются активацией катаболических процессов, необходимых для повышенных энергетических затрат эпилептических нейронов на фоне относительной недостаточности кровоснабжения, возникающей при ишемии после припадка, гипометаболизме в очаге, превышении метаболического «спроса» над «предложением» [7].

Во время развития НО данные однофотонной эмиссионной томографии свидетельствуют о снижении РК в ряде структур головного мозга: правой передней островковой зоне, левой парагиппокампальной зоне, латеральной затылочно-височной, средней и нижней височной извилине билатерально, левой язычной извилине, предклинье и задней доле мозжечка билатерально. Отмечено, что чем выше частота эпизодов обмороков, тем ниже показатели РК в правой префронтальной коре, и чем длительнее заболевание, тем более выраженные изменения наблюдаются в области правой поясной извилины. Предполагается, что снижение РК в различных регионах мозга может способствовать развитию вегетативной дисрегуляции с появлением неадекватных реакций на эмоциональный стресс у пациентов с НО. Не исключено, что повторные эпизоды потери сознания могут приводить к фронтальной дисфункции [25].

Таким образом, выявленные в ходе исследования у пациентов с ППС изменения показателей оксигенации кортикальных отделов лобных долей головного мозга и экстрацеребрального массива обусловлены сложностью межполушарных взаимоотношений и неоднозначностью реализующих механизмов, направленных на сохранение адекватных процессов, связанных с доставкой и потреблением кислорода в условиях развившихся нарушений.

Заключение. Применение метода церебральной оксиметрии с использованием предложенных коэффициентов у пациентов с ППС в межприступном периоде позволяет количественно оценить величину регионарной оксигенации крови кортикальных отделов головного мозга и мышц предплечий. Установлено снижение показателей rSO_2 у пациентов с ППС по сравнению со здоровыми лицами. У пациентов с ЭП вне зависимости от латерализации эпилептиформной активности по данным ЭЭГ и у пациентов с НО выявлено превышение rSO_2 в кортикальных отделах правого полушария головного мозга. Установлено, что высокие значения коэффициента межполушарной асимметрии, превышение rSO_2 в кортикальных отделах головного мозга над показателями rSO_2 мышц предплечий характерны для пациентов с ЭП.

Литература

1. Карлов В. А., Певзнер А. В., Соболева В. А. и др. // Неврол. журн. Т. 7, № 4. С. 25–29.
2. Britton W., Benarroch E. // Clin. Auton. Res. 2006. Vol. 16. P. 18–28.
3. Grubb B., Gerard G., Roush K. et al. // Ann. Intern. Med. 1991. Vol. 115. P. 871–876.
4. Lempert T., Bauer M. et al. // Ann. Neurol. 1994. Vol. 36. P. 233.
5. Байдаулетова А. И., Азимова Ю. Э. и др. // Журн. неврол. и психиатр. 2006. Т. 106, № 9. С. 61–63.
6. Ерохина Л. Г. Клиника и лечение синкопальных состояний при некоторых формах церебральной и соматической патологии: метод. рекомендации. М., 1993. С. 25.
7. Карлов В. А. Эпилепсия у детей и взрослых женщин и мужчин. М., 2010.
8. Гузева В. И. Эпилепсия и неэпилептические пароксизмальные состояния у детей. М., 2007.
9. Крылов В. В., Лазарев В. В. и др. // Неврол. журн. 2001. № 3. С. 43–47.
10. Таранова И. И., Кохно В. Н. // Анестезиология и реаниматология. 2008. № 2. С. 64–67.
11. Chadwick D. [et al.] // BMJ. 2002. Vol. 324. P. 495–496.
12. Moya A., Sutton R., Ammirati F. et al. // Eur. Heart J. 2009. Vol. 30. P. 2631–2671.
13. Илюкевич Г. В., Прушак А. В. Применение церебральной оксиметрии в анестезиологии. http://www.belmapo.by/downloads/.../2009/primenenie_cirebralnoj.pdf.
14. Шмигельский А. В., Лубнин А. Ю., Лукьянов В. И. // Анестезиология и реаниматология. 2000. № 4. С. 11–19.
15. Селицкий Г. В. Нейрофизиологическая регуляция эпилептогенеза: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. М., 1991.
16. Mercader M. A., Varghese P. J., Potolicchio S. J. et al. // Heart. 2002. Vol. 88. P. 217–221.
17. Ammirati F., Colivicchi F., Di Battista G. et al. // Stroke. 1998. Vol. 29. P. 2347–2351.

18. Duplyakov D., Golovina G., Garkina S., Lyukshina N. // J. Cardiol. 2010. Vol. 17, N 4. P. 420–427.
19. Beacher F. D. // Neuroimage. 2009. Vol. 47. P. 937–945.
20. Черняк З. В. // Неврол. журн. 2001. Т. 6, № 4. С. 59–63.
21. Duncan R., Patterson J., Roberts R. et al. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatr. 1993. Vol. 56. P. 141–148.
22. Lee H. W., Hong S. B., Tae W. S. // Brain. 2000. Vol. 123. P. 2150–2159.
23. Won M. J., Chang K. H., Cheon J. E. et al. // Am. J. Neuroradiol. 1999. Vol. 20. P. 593–599.
24. Theodore W. H., Gaillard W. D., DeCarli C. et al. // Epilepsia. 2001. Vol. 42. P. 130–133.
25. Joo E. Y. et al. // Neurology. 2011. Vol. 258, N 3. P. 366–372.

S. A. LIKHACHEV, V. D. RYBAKOVA, L. P. PARKHACH

EVALUATION OF REGIONAL OXYGEN SATURATION OF THE BRAIN AREA IN PATIENTS WITH TRANSIENT LOSS OF CONSCIOUSNESS ACCORDING TO CEREBRAL OXIMETER

Summary

The parameter assessment of regional oxygen saturation (rSO_2) of the brain area and the skeletal muscle tissue area in patients with transient loss of consciousness (T-LOC) with the use of oximeter Somanetics 5100C (INVOS cerebral/somatic oximeter) is studied. A decrease in rSO_2 parameters in patients with T-LOC in comparison with healthy persons is established. The excess of rSO_2 in the cortical section of the right-brain area is observed in patients with epileptic seizures without the dependence on the lateritization of epileptiform activity on electroencephalography and in patients with neurogenic syncope. High values of the interhemispheric asymmetry factor, the excess of rSO_2 in the brain area over rSO_2 parameters of forearms muscles were typical for patients with epileptic seizures.

УДК 615.214.32:591.4.08

А. В. ГАЙДУК, Н. А. БИЗУНОК, Б. В. ДУБОВИК

ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АНТИДЕПРЕССАНТОВ ТИАНЕПТИНА И СЕРТРАЛИНА

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

(Поступила в редакцию 23.05.2012)

Введение. Комбинированное применение лекарственных средств (ЛС) – один из наиболее продуктивных подходов в повышении эффективности фармакотерапии различных соматических и психических болезней. Целью такого подхода является достижение фармакодинамического синергизма или потенцирования ЛС наряду с уменьшением дозовых нагрузок и улучшением переносимости лекарств. Клиническая реализация данного подхода, однако, требует надежного экспериментального обоснования на доклиническом уровне вследствие значительной непредсказуемости взаимодействия ЛС, обладающих не только очевидными, хорошо известными свойствами, но и скрытым фармакодинамическим потенциалом.

Цель исследования – поиск эффективных комбинаций антидепрессантов. Актуальность этого поиска определяется тем, что результативность монотерапии депрессивных расстройств не достаточно высока, и в качестве одной из наиболее перспективных тактик ее повышения рассматривается комбинированное применение антидепрессантов различных групп [1].

В работе представлены результаты изучения комбинации двух антидепрессантов – тианептина и сертралина – в традиционных скрининг-тестах, используемых в психофармакологии для отбора и изучения соединений, обладающих антидепрессивными свойствами. Интерес к этой комбинации основан на предположении, что тианептин и сертралин, различным образом модифицируя серотонинергическую нейротрансмиссию, могут действовать синергично.

Материалы и методы исследования. Изучение комбинации сертралина и тианептина выполнено с использованием поведенческих тестов, моделирующих неизбежные авersive ситуации – теста «вынужденное плавание» (тест Порсольта, Forced Swimming Test (FST)) и теста «подвешивание за хвост» (Tail Suspension Test (TST)) [2]. Эксперименты выполнены на двух видах лабораторных животных, линии которых традиционно используют в названных испытаниях. Животные содержались в стандартных условиях вивария с 12-часовым искусственным освещением (с 8.00 до 20.00), имели свободный доступ к воде и пище.

Организация работы соответствовала международным этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных [3], требованиям Надлежащей лабораторной практики [4], рекомендациям по экспериментальному (доклиническому) изучению антидепрессантов [5] и методическим принципам комбинаторной фармакологии [6].

Реагенты и субстанции: тианептин (Les Laboratoires Servier Industrie, Франция), сертралин (Pfizer Italia S. r. l. Latina, Италия). Испытуемые соединения вводили в желудок через зонд в виде суспензии на 1%-ном крахмальном геле в объеме 5 мл/кг массы тела (крысы) и 20 мл/кг массы тела (мыши), животные контрольных групп получали эквивалентное количество растворителя.

Тест Порсольта (FST) выполняли на 42 крысах-самцах линии Wistar массой 180–250 г, разделенных на 7 групп, по 6 животных в каждой. Тест состоял из двух сессий. В первую сессию («претест») животных поочередно на 15 мин помещали в прозрачный стеклянный цилиндр высотой 50 см и диаметром 20 см, заполненный водой на 13 см (температура воды 25 ± 2 °C).

Через 24 ч (вторая сессия) животных помещали в тот же цилиндр на 5 мин («тест») и регистрировали суммарное время иммобильности [2]. Испытуемые соединения вводили трехкратно – за 1 сут, 4 ч и 1 ч до сеанса тестирования в дозах, эффективных для крыс: тианептин – 9 и 27 мг/кг, сертралин – 10 и 30 мг/кг [7]. Комбинацию испытывали на двух дозовых уровнях: 9 мг/кг тианептина + 10 мг/кг сертралина и 27 мг/кг тианептина + 30 мг/кг сертралина (молярное соотношение 1:1,5).

Тест подвешивания за хвост (TST) выполняли на 42 мышах-самцах линии C57Bl/6, массой 18–24 г, разделенных на 7 групп, по 6 животных в каждой. В работе использовали установку, позволяющую обеспечить стандартные условия выполнения теста [8]. Тестирование продолжалось 6 мин с регистрацией суммарного времени иммобильности. Исследуемые соединения вводили за 1 ч до теста в дозах, эффективных для мышей: тианептин – 5 и 15 мг/кг, сертралин – 10 и 30 мг/кг [9, 10]; комбинацию испытывали на двух дозовых уровнях: 5 мг/кг тианептина + 10 мг/кг сертралина и 15 мг/кг тианептина + 30 мг/кг сертралина (молярное соотношение 1:3).

При проведении обоих тестов осуществляли непрерывную видеозапись с целью последующей верификации результатов.

Статистическую обработку результатов исследования выполняли с использованием ППП Statistica 6.1. Для оценки различий показателей опытных и контрольных групп использовали непараметрические методы статистического анализа (ранговый дисперсионный анализ по Краскелу–Уоллису и тест Манна–Уитни), различия считали достоверными при $P \leq 0,05$. Анализ фармакодинамического взаимодействия выполняли по методу T. Chou [6] при помощи специально разработанного алгоритма в программной оболочке MS Excel.

Результаты и их обсуждение. В плавательном тесте Порсольта время иммобильности животных контрольной группы составило 268 с при весьма узком индивидуальном разбросе значений (234–285 с). Тианептин в испытанных дозах лишь несколько расширял границы рассеяния этого показателя в направлении уменьшения, тогда как сертралин дозозависимо и статистически достоверно уменьшал продолжительность иммобильного состояния ($P < 0,05$); 50%-ный эффект (E_{50}) достигался при дозе 30 мг/кг. Действие комбинации тианептина и сертралина в данном тесте обнаружило заметный антагонистический эффект – продолжительность иммобильности животных возросла в сравнении с аналогичным показателем индивидуального действия сертралина (рис. 1).

В тесте подвешивания мышей за хвост (TST) время иммобильности животных контрольной группы составило 150 (30–182) с. Как и в предыдущем тесте, тианептин не влиял на исследуемый показатель в дозе 5 мг/кг (123 (100–164) с), при трехкратном увеличении дозы (15 мг/кг) отмечалась тенденция к снижению времени иммобильности (85 (48–178) с). Сертралин дозозависимо сокращал время иммобильности, при дозе 30 мг/кг оно уменьшилось в 3 раза (33 (20–45) с). Комбинация антидепрессантов «15 мг/кг тианептина + 30 мг/кг сертралина» по эффективности была сопоставима с сертралином в дозе 30 мг/кг (рис. 2).

Анализ результатов TST показал, что фармакодинамическое взаимодействие тианептина и сертралина носит дозозависимый характер. При сочетании 5 мг/кг тианептина и 10 мг/кг сертралина (молярное соотношение 1:3) обнаруживается тенденция к слабому антагонизму компонентов, которая при пропорциональном увеличении доз сменяется умеренным синергизмом (см. таблицу).

Тест «вынужденное плавание» и тест «подвешивание за хвост» являются основными скрининг-тестами для отбора соединений с потенциальной антидепрессивной активностью. Об уровне депрессивности судят по продолжительности периода иммобильности животных, помещенных в условия неизбежного аверсивного воздействия. Выбор в пользу «активного» поведения свидетельствует о высоком психо-энергетическом потенциале и служит эквивалентом антидепрессивного действия, а «пассивное» поведение с доминированием иммобильности, напротив, расценивают как депрессивно-подобное действие [11]. Несмотря на то что предсказательная способность обоих тестов достаточно высока, их результаты имеют различное толкование и прогностическое значение.

В последнее десятилетие показано, что более релевантным тестом для скрининга антидепрессантов является TST в своем исходном (классическом) варианте [12]. Что касается теста

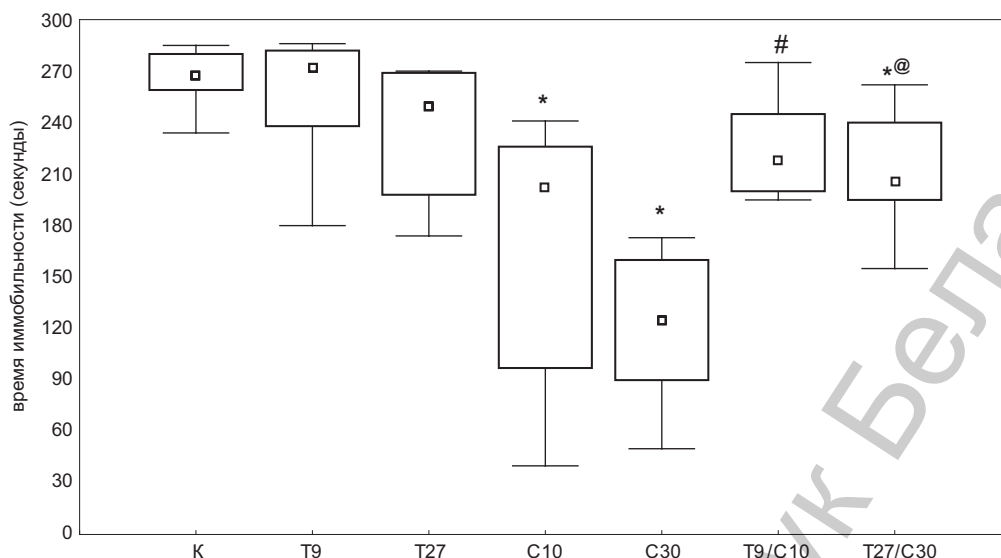


Рис. 1. Индивидуальное и комбинированное действие тианептина и сертралина у крыс в плавательном тесте Порсольта (FST). Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25–75%) минимальных и максимальных значений суммарного времени иммобильности животных ($n = 6$). К – контроль; T9 и T27 – тианептин в дозах 9 и 27 мг/кг; C10 и C30 – сертралин в дозах 10 и 30 мг/кг; T9/C10 – комбинация тианептина (9 мг/кг) и сертралина (10 мг/кг); T27/C30 – комбинация тианептина (27 мг/кг) и сертралина (30 мг/кг); # – различия достоверны по сравнению с контролем при одностороннем критерии оценки ($P \leq 0,05$), * – различия достоверны по сравнению с контролем при двустороннем критерии оценки ($P \leq 0,05$), @ – различия достоверны по сравнению с группой, получавшей сертралин в дозе 30 мг/кг ($P < 0,05$) (U-критерий Манна–Уитни)

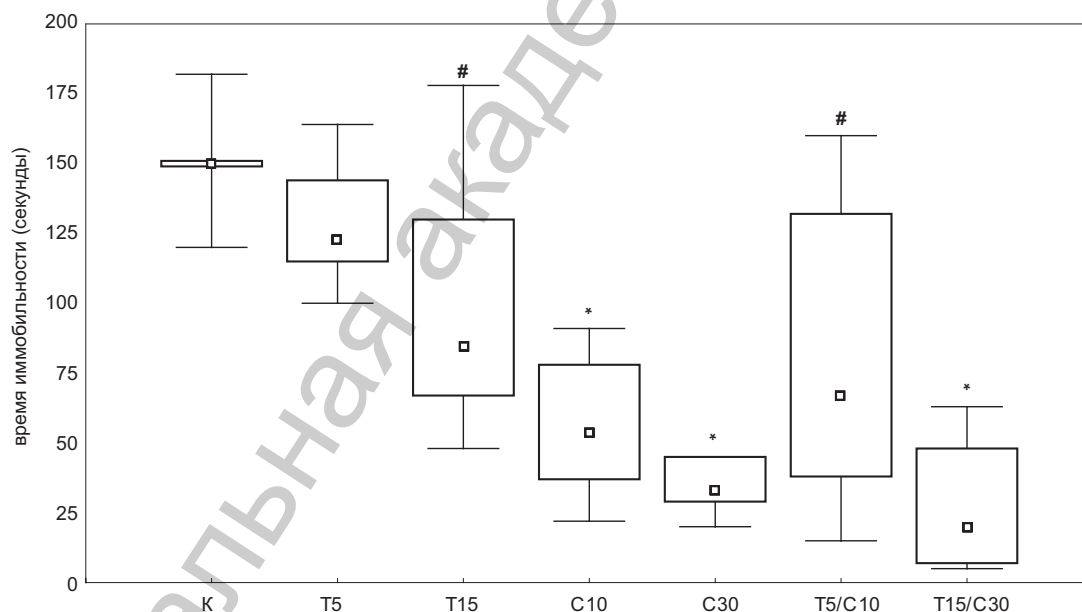


Рис. 2. Индивидуальное и комбинированное действие тианептина и сертралина у мышей в тесте подвешивания мышей за хвост (TST). Данные представлены в виде медианы, интерквартильного размаха (25–75%) минимальных и максимальных значений суммарного времени иммобильности животных (в контрольной группе – $n = 5$, в остальных – $n = 6$). К – контроль; T5 и T15 – тианептин в дозах 5 и 15 мг/кг; C10 и C30 – сертралин в дозах 10 и 30 мг/кг; T5/C10 – комбинация тианептина (5 мг/кг) и сертралина (10 мг/кг); T15/C30 – комбинация тианептина (15 мг/кг) и сертралина (30 мг/кг); # – различия достоверны по сравнению с контролем при одностороннем критерии оценки ($P \leq 0,05$), * – различия достоверны по сравнению с контролем при двустороннем критерии оценки ($P \leq 0,05$) (U-критерий Манна–Уитни)

Фармакодинамическое взаимодействие тианептина и сертралина при оценке по величине комбинаторного индекса (CI)

Соединение	Доза		CI		Сила и направленность взаимодействия	Результат
	мг/кг	-log, моль/кг	M	ДИ ₉₅		
Тианептин	5	-5,0	1,16	1,75/0,81	-	Слабый антагонизм
Сертралин	10	-4,5				
Тианептин	15	-4,5	0,75	1,00/0,61	++	Умеренный синергизм
Сертралин	30	-4,0				

Примечание. M – усредненное значение комбинаторного индекса, ДИ₉₅ – 95%-ный доверительный интервал.

Порсольта, то его двухэтапность (претест и собственно тест) создает условия для формирования габитуации (привыкания) – адаптивного поведения, классифицируемого как неассоциативное обучение. В 1989 г. J. M. De Pablo предположил, что во время первого сеанса тестирования («претест») животное обучается принимать неподвижную позу как наиболее биологически целесообразную, позволяющую минимизировать энергозатраты. При повторном тестировании животное воспроизводит эту стратегию поведения («выученная иммобильность»). Эти положения получили подтверждение в эксперименте, и в настоящее время тест Порсольта широко используют в психофармакологии для изучения способности к неассоциативному обучению, вариантом которого является габитуация [11]. Габитуация формируется как следствие запоминания животным стрессующей ситуации и выбора более рациональной стратегии поведения при ее повторении. Известно, что такие когнитивные усилители, как ингибиторы ацетилхолинэстеразы, улучшающие консолидацию памяти, поддерживают габитуацию в FST [13].

Вышеизложенные особенности тестов дают ключ к объяснению полученных результатов. В TST оба антидепрессанта при индивидуальном действии демонстрировали дозозависимое сокращение времени иммобильности животных (см. рис. 2), а их комбинация обнаружила дозозависимый синергизм (см. таблицу). В тесте Порсольта картина иная (см. рис. 1). Если сертралин, как и в предыдущем тесте, укорачивал время иммобильности, то тианептин не оказывал отличного от контроля влияния как при индивидуальном введении, так и в комбинации с сертралином. При этом тианептин как бы нивелировал эффекты сертралина. Понимание сущности теста Порсольта дает основание рассматривать такое действие тианептина как проявление эффекта когнитивного усиления. Очевидно, что тианептин усиливает процессы габитуации и делает поведение животных в «знакомой» стрессовой ситуации более рациональным. В этой связи следует отметить, что в наших исследованиях комбинацию вводили после обучения, в период формирования памятного следа (консолидации памяти). Важно и то, что это действие проявляется на фоне такого мощного активатора серотонинергической и дофаминергической нейротрансмиссии, как сертралин.

Согласно выдвинутой в 2009 г. гипотезе, фармакодинамическое действие тианептина обеспечивается аксональной активацией обратного захвата серотонина с одновременным усилением его высвобождения, а также подавлением активности моноаминоксидазы глиальных клеток, истощающей запасы серотонина в синапсе. Таким образом, увеличивая скорость синаптического оборота серотонина, тианептин создает основу для функциональной перестройки работы серотонинергических нейронов с восстановлением чувствительности серотониновых рецепторов, что в последующем проявляется стойким антидепрессивным действием [14]. Российскими учеными показано, что на первом «остром» этапе действия тианептина ведущее значение приобретает усиление выброса серотонина в синапс практически во всех заинтересованных структурах мозга, включая гиппокамп [15]. Это позволяет объяснить анксиолитическое действие тианептина, обнаруженное ранее, а также синергичное действие тианептина и сертралина в TST наряду с эффектом когнитивного усиления в FST. Полученные результаты дают основание предполагать терапевтическую эффективность комбинации тианептина и сертралина при депрессиях, сочетающихся с когнитивными нарушениями, и таких состояниях, как, например, синдром дефицита внимания и гиперактивности.

Заключение. Таким образом, когнитивный эффект комбинации сертралина с тианептином может быть обусловлен согласованным взаимодействием различных нейротрансмиттерных систем. Важно, что сертралин усиливает антидепрессивное действие тианептина, не угнетая его когнитивных эффектов.

Усиление габитуации тианептином и сохранение его на фоне сертралина, а также синергичное действие тианептина и сертралина по антидепрессивному потенциалу обнаружены впервые. Комбинации антидепрессантов, обладающие синергизмом по основному действию и одновременно такими дополнительными свойствами, как когнитивное или анксиолитическое действие, исключительно востребованы в клинической практике, поскольку любое депрессивное расстройство сопровождается снижением исходного когнитивного потенциала и нередко эмоциональными нарушениями в виде тревоги, агитации и низкой стресс-устойчивости.

Литература

1. *Horgan D.* // *Austr. Family Physician.* 2011. Vol. 40, N 6. P. 397–400.
2. *Castagne V.* // *Curr. Protoc. Neurosci.* 2011. Suppl. 55. P. 8.10A.1–8.10A.14.
3. Постановление Межпарламентской Ассамблеи государств – участников СНГ 31 октября 2007 г. № 29–17 о модельном законе «Об обращении с животными».
4. *OECD Principles on Good Laboratory Practice (OECD/ENV/MC/CHEM).* 1997. Vol. 98, N 17.
5. *Хабриев Р. У.* Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005.
6. *Chou T-Ch.* // *Pharmacol. Rev.* 2006. Vol. 58. P. 621–681.
7. *Detke M. J.* // *Psychopharmacology.* 1995. Vol. 121. P. 66–72.
8. *Steru L.* // *Psychopharmacology.* 1985. Vol. 85. P. 367–370.
9. *Solich J.* // *Pharmacol. Reports.* 2008. Vol. 60. P. 1008–1013.
10. *Varty G. B.* // *Behav. Pharmacol.* 2003. Vol. 14, N 1. P. 87–95.
11. *Thierry B.* // *Behav. Neural. Biol.* 1984. Vol. 41. P. 180–189.
12. *Cryan J. F.* // *Neurosci. and Biobehav. Rev.* 2005. Vol. 29. P. 571–625.
13. *Parre A.* // *Psichothema.* 1999. Vol. 11, N 2. P. 239–246.
14. *Узбеков М. Г.* // *Журн. неврологии и психиатрии им. С. С. Корсакова.* 2009. Т. 109, № 1. С. 67–69.
15. *Кудрин В. С.* // *Эксперим. и клин. фармакология.* 2010. Т. 73, № 3. С. 7–10.

A. V. GAIDUK, N. A. BIZUNOK, B. V. DUBOVIK

PHARMACODYNAMIC INTERACTION OF ANTIDEPRESSANTS: TIANEPTINE AND SERTRALINE

Summary

In the tail suspension test carried out on male C57Bl/6 mice with a combination of drugs: tianeptine and sertraline revealed the synergic antidepressant effect estimated with the use of immobility time criteria. In the forced swimming test carried out on male Wistar rats the combination of tianeptine and sertraline discovered a marked cognitive potential appearing as the enhancement of gabituation.

УДК 616.441-006.6-089.168.1-097

Т. А. МИТЮКОВА¹, Т. А. ЛЕОНОВА¹, Н. М. ОКУЛЕВИЧ¹, Т. Ю. ПЛАТОНОВА¹, В. М. ДРОЗД²

АНТИТЕЛА К АНТИГЕНАМ БЕТА-КЛЕТОК ПОДЖЕЛУДОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ У ОПЕРИРОВАННЫХ ПАЦИЕНТОВ С КАРЦИНОМОЙ ЩИТОВИДНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

¹Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск,

²Международный фонд «Арника», Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 11.06.2012)

Введение. Вопросы, связанные с аутоиммунными процессами, часто привлекают внимание эндокринологов, поскольку имеют важное диагностическое и прогностическое значение. Аутоантитела в крови являются предикторами аутоиммунной, эндокринной и/или онкологической патологии, поэтому оправдано их определение на стадии доклинических проявлений. Выявление антител к тиреоглобулину (АТ-ТГ) при узловой патологии щитовидной железы (ЩЖ) является фактором риска развития дифференцированного рака ЩЖ (ДРЩЖ), независимо от проявлений аутоиммунного тиреоидита [1–3]. Появились данные о том, что наличие АТ-ТГ свидетельствует о предрасположенности пациента к широкому спектру аутоиммунной патологии [4]. Показано частое сочетание у детей аутоиммунных процессов различной локализации, например аутоиммунного тиреоидита (АИТ) с аутоиммунным гепатитом и сахарным диабетом первого типа (СД1). У взрослых носительство АТ-ТГ чаще всего сочетается с заболеваниями сердца, суставов и ЖКТ, онкозаболеваниями (соответственно в 1,5; 6 и 14 раз чаще по сравнению с теми, у кого АТ-ТГ не обнаружены) [4].

В работе [5] нами было отмечено, что частота встречаемости АТ-ТГ у пациентов, прооперированных по поводу ДРЩЖ, сопоставима с частотой данного показателя в группе контроля – около 11%. Однако уровень антигена для выработки данных антител – ТГ, циркулирующего в крови у больных с тотальной тиреоидэктомией (ТТЭ), был на порядок ниже, чем у практически здоровых лиц с сохранной ЩЖ. Это позволяет предположить повышенную сенсibilизацию при выработке тиреоидных аутоантител у пациентов с ДРЩЖ.

Рядом авторов показана связь между тиреоидитом Хашимото и, соответственно, наличием антител к ТГ и к тиреопероксидазе с кластером аутоиммунных процессов ЖКТ, включая поджелудочную железу [4, 6]. Сопоставляя проявления аутоиммунного полигландулярного синдрома у лиц с тиреоидитом Хашимото и у лиц с болезнью Грейвса, авторы [6] показали, что СД1 встречается чаще при АИТ (15,9%), чем при болезни Грейвса (9,2%). Наличие циркулирующих в крови аутоантител к бета-клеткам поджелудочной железы при этих двух заболеваниях встречалось с частотой 25,4 и 15,6% соответственно [6]. Поскольку появление в крови антител к антигенам инсулярной ткани служит предиктором аутоиммунного поражения островкового аппарата поджелудочной железы и развития СД1, то при наблюдении пациентов с повышенной аутоиммунной сенсibilизацией оправданна не только оценка этих параметров, но и начальных проявлений снижения функции островкового аппарата поджелудочной железы (уровень глюкозы, инсулина и др.). Высокая доля лиц с избыточной массой тела и наличие у них биохимических признаков метаболического синдрома (повышенные уровни глюкозы, холестерина и коэффициента атерогенности), выявленных нами ранее у пациентов с ДРЩЖ [7], указывают на необходимость оценки всех изучаемых показателей в зависимости от массы тела.

Таким образом, исходя из данных литературы и собственных наблюдений, представляло интерес продолжить изучение аутоиммунной отягощенности и сопутствующих показателей у пациентов с ДРЩЖ.

Цель работы — оценить частоту носительства антител к антигенам бета-клеток поджелудочной железы и начальных проявлений функциональной недостаточности инсулярного аппарата у пациентов с ДРЩЖ на фоне комплексного лечения основного заболевания, а также связь с носительством АТ-ТГ.

Материалы и методы исследования. Основная группа состояла из пациентов с ДРЩЖ, перенесших ТТЭ. Общая численность – 151 человек (101 женщина, 50 мужчин). Средний возраст ($X \pm Sd$) – $26,83 \pm 5,27$ (18–42) года. Обследование было проведено однократно в период 2009–2010 гг. Все пациенты были разделены по индексу массы тела ($ИМТ = \text{масса тела (кг)} / \text{рост}^2 (\text{м}^2)$) на две подгруппы: 1) с нормальным индексом массы тела ($ИМТ = 18,0–24,5 \text{ кг/м}^2$, средний уровень $ИМТ (X \pm Sd) = 21,43 \pm 2,24 \text{ кг/м}^2$), всего 76 человек; 2) с избыточной массой тела и ожирением первой степени ($ИМТ = 25–35 \text{ кг/м}^2$, среднее значение $ИМТ = 29,03 \pm 3,82 \text{ кг/м}^2$), всего 75 человек. Длительность лечения по поводу основного заболевания составляла в среднем ($X \pm Sd$) $9,06 \pm 5,31$ года. Все пациенты получали L-тироксин (L-T4) с целью супрессии уровня тиреотропного гормона ($ТТГ < 0,3 \text{ мМЕ/л}$) в средней дозе $2,54 \pm 0,56 \text{ мкг/кг}$ массы тела. По данным последнего визита, около 64% пациентов имели уровень супрессии $ТТГ < 0,3 \text{ мМЕ/л}$, 34% – $ТТГ$ в интервале нормы ($0,31–4,0 \text{ мМЕ/л}$) и 2% – некомпенсированный послеоперационный гипотиреоз ($ТТГ > 4,0 \text{ мМЕ/л}$). Большинство пациентов (98 чел.) получали радиоiodотерапию (РИТ), от 1 до 12 курсов ($2–53 \text{ ГБк}$), остальные (53 чел.) имели минимальные дозовые нагрузки, связанные с радиоiodдиагностикой (РИД), – в пределах $0,3–1,2 \text{ ГБк}$.

Группа сравнения (условный контроль) состояла из практически здоровых лиц (161 чел., из них 116 женщин, 45 мужчин), проживающих в Минской и Гомельской областях. Средний возраст составлял $28,31 \pm 6,14$ (18–42) года. Группа сравнения также была подразделена на две аналогичные подгруппы по индексу массы тела: 1) $ИМТ = 21,14 \pm 1,52 \text{ кг/м}^2$, 83 человека; 2) $ИМТ = 29,17 \pm 3,51 \text{ кг/м}^2$, 81 человек.

Протокол обследования включал клинический осмотр эндокринологом с определением антропометрических показателей (рост, масса тела, ИМТ), ультразвуковое исследование (УЗИ) области шеи, регионарных лимфатических узлов; забор крови из вены с целью определения гормонов и аутоантител: тиреотропного гормона (ТТГ), свободного тироксина (св. Т4), АТ-ТГ, антител к инсулину (insulin autoantibodies – IAA), антител к островковому аппарату поджелудочной железы (islet cells antibodies – ICA), антител к декарбоксилазе глутаминовой кислоты (glutamic acid decarboxylase – GAD), лептина и инсулина. Проводили определение биохимических показателей: холестерина и его фракций, триглицеридов, а также глюкозы в сыворотке венозной крови. Рассчитывали индекс инсулинорезистентности по формуле: $НОМА-IR = \text{глюкоза (ммоль/л)} \cdot \text{инсулин (мкЕд/мл)} / 22,5$.

Определение ТТГ, св. Т4, АТ-ТГ, IAA, GAD, лептина и инсулина проводили ИФА-методом с использованием наборов DRG (США), определение ICA – наборами BIOMERICA (США). Использовали комплект оборудования для ИФА-анализа фирмы DIALAB (Австрия). Биохимические исследования выполняли с применением наборов CORMEY (Польша) на автоматическом анализаторе HITACHI фирмы Boehringer Mannheim (Германия).

УЗИ области шеи и регионарных лимфатических узлов у прооперированных пациентов, а в группе сравнения – ЩЖ и регионарных лимфатических узлов проводили в положении лежа по общепринятым методикам, используя прибор Hitachi EUB-405 (датчик 7,5 МГц).

Для проведения статистического анализа [8] применяли параметрические методы исследований в тех случаях, когда распределение было близко к нормальному. Для сравнительной оценки долей (частота отклонений) использовали непараметрический критерий χ^2 с применением поправки Йейтса. Результаты представлены в виде долей отклонений (%) и средних величин ($X \pm Sx$).

Результаты и их обсуждение. Определение антител к антигенам инсулярной ткани в общей группе пациентов с ДРЩЖ выявило диагностически значимые уровни следующих показателей:

IAA > 10,0 МЕ/мл – у 3 (2%) человек, ICA > 1,05 МЕ/мл – у 26 (17,2%) и GAD > 1,05 МЕ/мл – у 3 (2%) человек (рис. 1). В контрольной группе был отмечен 1 случай повышенного значения IAA и 1 случай – ICA, что составило 0,6% от общего числа обследованных. По данным литературы антитела к инсулину обнаруживаются у 37–70% заболевших СД1, у 4,0% их родственников и до 1,5% у практически здоровых лиц [9–11]. Данные литературы свидетельствуют о том, что среди больных СД1 частота обнаружения ICA составляет примерно 70%, тогда как среди здорового населения – 0,1–0,5% [12, 13]. Декарбоксилаза глутаминовой кислоты является специфическим ферментом островковых клеток, и обнаружение антител к этому антигену также свидетельствует о возможном развитии СД1 [14, 15]. Обследование группы пациентов с ДРЦЖ выявило высокий процент ICA (17,2%), что достоверно отличалось от контроля (0,6%; $P < 0,001$). Частота обнаружения двух других типов антител (IAA – 2%, GAD – 2%) не давала достоверных отличий от частоты аналогичных показателей у лиц из группы контроля (0,6 и 0%) (рис. 1).

Распределение носительства антител в зависимости от массы тела (рис. 2) показало достоверное преобладание ICA у пациентов с избыточной массой тела (29,3%) по сравнению с больными с нормальной массой тела (5,3%), а также лицами из группы контроля с повышенной массой тела (1,3%). У пациентов с ДРЦЖ с нормальной массой тела частота диагностических значений аутоантител (IAA – 3,9%, ICA – 5,3, GAD – 1,3%) не отличалась от таковой у лиц из контрольной группы (0% по всем показателям).

У пациентов обоего пола с ДРЦЖ с избыточной массой тела частота диагностических значений ICA (женщины – 29%, мужчины – 30%) была практически одинакова. Отличия от лиц того же пола из группы контроля с избыточной массой тела (1,3 и 0%) были достоверными ($P < 0,001$). Очевидно, что частота носительства антител к антигенам инсулярной ткани не связана с полом.

На рис. 3 показано влияние тиреоидного статуса на носительство антител к антигенам инсулярной ткани. Эффективная супрессивная терапия L-тироксином, приводящая к снижению уровня ТТГ (< 0,1 мМЕ/л) у лиц с избыточной массой тела, сопровождалась наиболее высоким уровнем носительства ICA (53,8%), что достоверно отличалось от аналогичного показателя у пациентов с умеренной супрессией ТТГ (0,1–0,3 мМЕ/л). Однако у лиц с избыточной массой тела без супрессии ТТГ также выявлялся повышенный уровень носительства ICA (37,5%). Частота носительства ICA была достоверно выше у пациентов с избыточной массой тела при уровнях ТТГ < 0,1 мМЕ/л, а также у лиц с ТТГ > 0,3 мМЕ/л по сравнению с лицами с нормальной массой тела (рис. 3). Таким образом, полученные результаты подтвердили преобладающее влияние избыточной массы тела, но не выявили однозначных эффектов супрессивной терапии на носительство антител к антигенам инсулярной ткани у пациентов с ДРЦЖ.

Анализ возможного влияния РИТ на частоту носительства антител к антигенам инсулярной ткани у пациентов с избыточной массой тела не обнаружил достоверных отличий в группах пациентов с РИТ и без РИТ. Отсутствовала зависимость между кумулятивными дозами от ^{131}I , на-

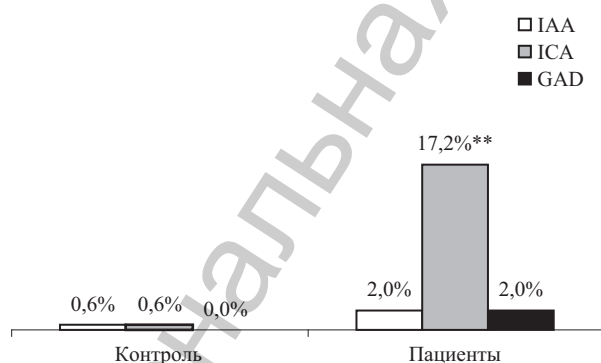


Рис. 1. Частота обнаружения антител к антигенам инсулярной ткани у пациентов, прооперированных по поводу ДРЦЖ, по сравнению с группой контроля. ** – достоверность отличий ($P < 0,01$) между пациентами с ДРЦЖ и группой контроля

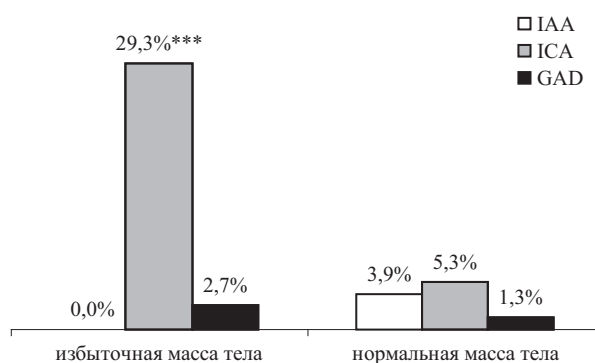


Рис. 2. Частота обнаружения антител к антигенам инсулярной ткани у пациентов, прооперированных по поводу ДРЦЖ в зависимости от массы тела. *** – достоверность отличий ($P < 0,001$) между пациентами с различной массой тела

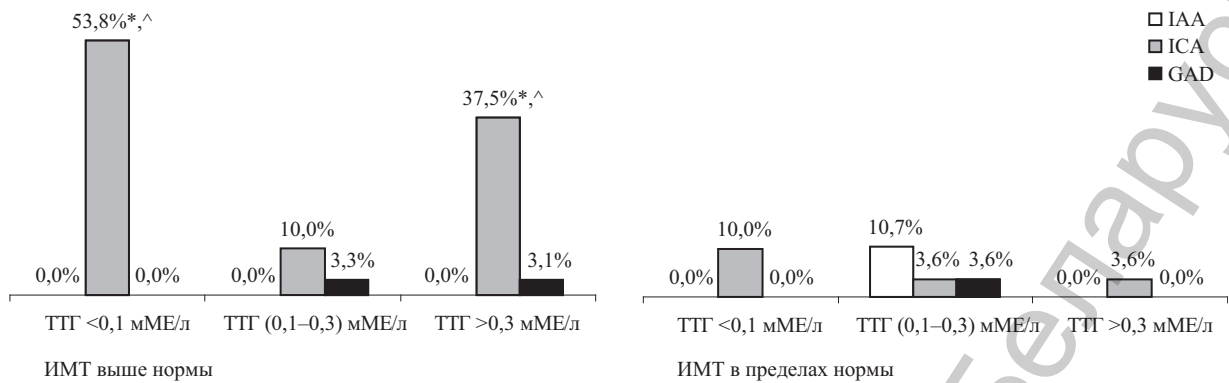


Рис. 3. Носительство антител к антигенам инсулярной ткани у пациентов, прооперированных по поводу ДРЦЖ, на фоне различных уровней ТТГ. Достоверность отличий ($P < 0,05$): * – от группы лиц с ТТГ 0,1–0,3 мМЕ/л; ^ – от группы лиц с нормальной массой тела

копленными при многократных курсах РИТ, по сравнению с таковыми у пациентов с минимальными дозовыми нагрузками на ЩЖ.

Были изучены особенности гормонально-метаболического статуса, связанные с инсулинорезистентностью, у пациентов с ДРЦЖ, имеющих отрицательные значения ICA (первая группа), в сравнении с пациентами, у которых были выявлены диагностически значимые уровни антител (вторая группа). В анализ были включены только лица с избыточной массой тела, так как среди пациентов с нормальной массой тела носительство ICA было сопоставимо с контролем. Средний уровень значений ICA ($X \pm Sx$) в первой группе составлял $0,69 \pm 0,02$ МЕ/мл (интервал значений – $0,42–1,05$ МЕ/мл), а во второй группе – $1,47 \pm 0,11$ МЕ/мл (интервал – $1,06–3,35$ МЕ/мл). Отличия были достоверными ($P < 0,01$).

Как видно из рис. 4, у женщин с положительными значениями ICA наблюдалась тенденция к нарастанию уровней инсулина, лептина, глюкозы и индекса НОМА по сравнению с пациентками с отрицательными результатами на выявление антител. У мужчин на фоне носительства инсулярных антител также была отмечена тенденция к повышению уровней инсулина, лептина и индекса НОМА (рис. 4). Концентрация лептина в крови у мужчин повышалась почти в 2 раза, однако эти сдвиги не достигали статистической значимости из-за малочисленности групп.

Несомненно, большой интерес представляло выяснить вопрос о возможной сочетанной аутоиммунной отягощенности пациентов с ДРЦЖ, а также о корреляции между носительством АТ-ТГ и ICA.

Диагностические значения АТ-ТГ (> 100 МЕ/мл) распределялись почти равномерно в зонах нормальных и повышенных уровней ТТГ, в то время как повышенные значения ICA наиболее часто встречались в зоне супрессии ТТГ или в области значений, близких к норме (рис. 5).

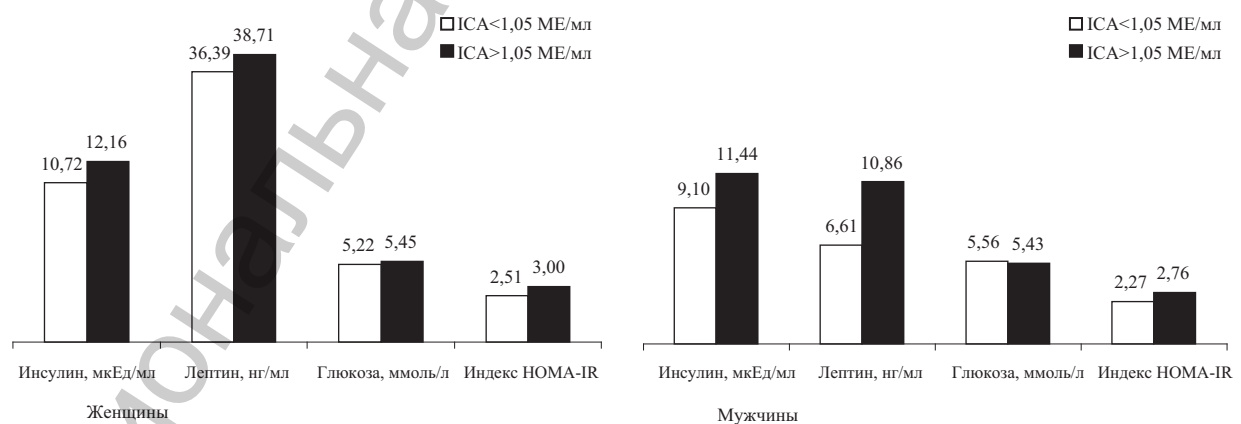


Рис. 4. Гормонально-метаболические показатели у пациентов с ДРЦЖ в группах пациентов с отрицательными и положительными значениями ICA в зависимости от пола

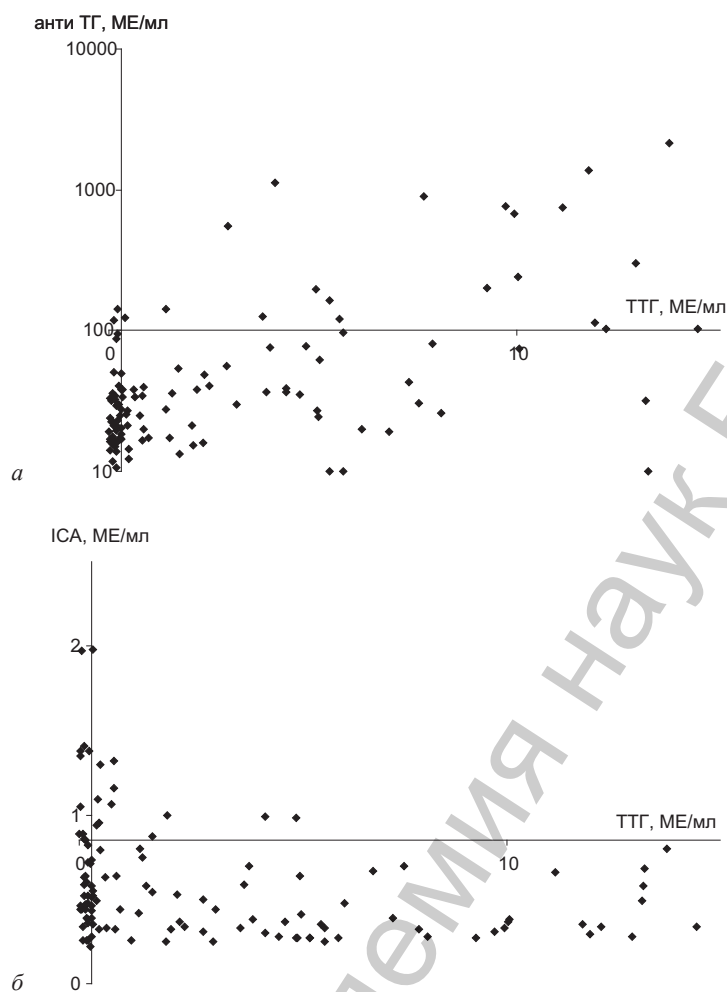


Рис. 5. Распределение диагностических значений АТ-ТГ (а) и ІСА (б) в зависимости от уровня ТТГ у пациентов с ДРЦЖ

Как видно из рис. 6, повышенные значения АТ-ТГ (> 100 МЕ/мл) находятся в зоне нормальных значений ИМТ, тогда как повышенные значения ІСА определяются преимущественно у пациентов с избыточной массой тела и ожирением I степени.

Повышенные значения АТ-ТГ преимущественно находятся в зоне нормальных значений ІСА (рис. 7, левая часть графика). Корреляция между носительством АТ-ТГ и ІСА отсутствует.

Выявляемость диагностических значений АТ-ТГ была достоверно выше у лиц с нормальной массой тела (31,6%) по сравнению с пациентами с избыточной массой тела (5,3%) (рис. 8). Данная закономерность проявлялась с высокой степенью достоверности среди женщин и в качестве тенденции – у мужчин.

В группе пациентов с позитивными значениями АТ-ТГ (> 100 МЕ/мл) было отмечено 8,3% лиц с повышенными значениями ІСА, а среди пациентов с отрицательными титрами АТ-ТГ (< 100 МЕ/мл) – 3,85% лиц с положительными значениями ІСА. Достоверных отличий между распространенностью ІСА в этих двух группах не выявлено.

Полученные нами данные о высоком проценте носительства антител к бета-клеткам поджелудочной железы у пациентов с ДРЦЖ с избыточной массой тела казались парадоксальными, учитывая, что эта группа лиц имела признаки метаболического синдрома и являлась группой риска по развитию СД2. Однако в современной литературе появились данные о том, что около 20% лиц с диагностированным СД2 имеют в крови антитела к антигенам инсулярной ткани [16]. Тип СД, изначально инсулинонезависимый и характеризующийся наличием антител к клеткам островков Лангерганса, который в ряде случаев прогрессирует до инсулинозависимого состояния, был назван латентным аутоиммунным диабетом взрослых (latent autoimmune diabetes in

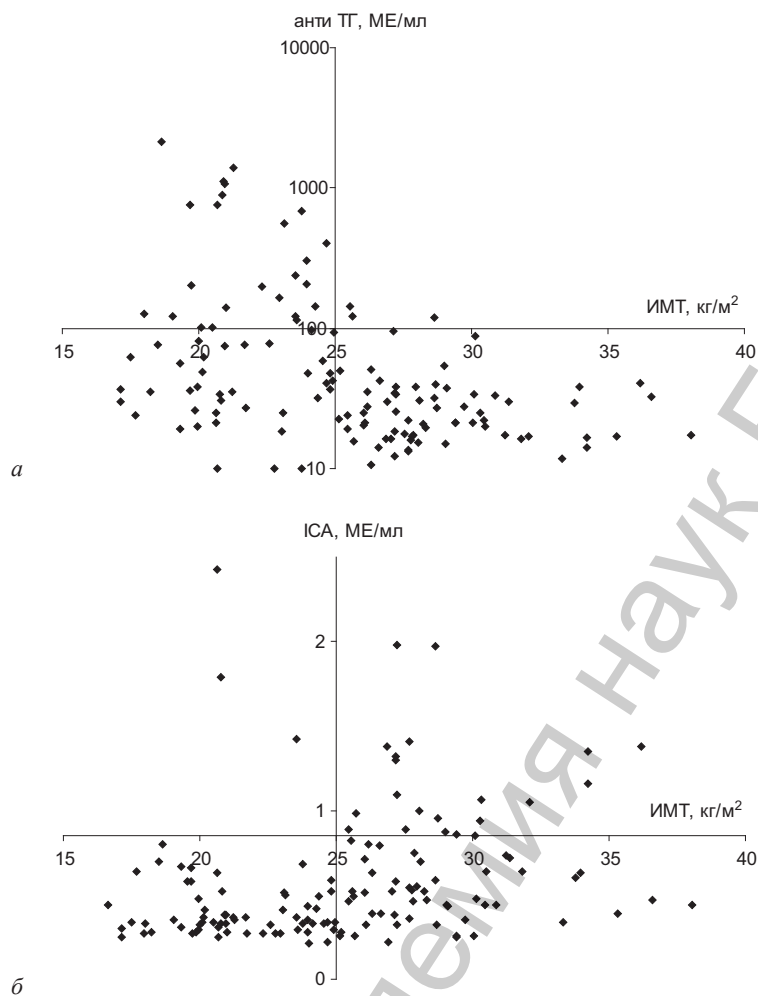


Рис. 6. Распределение диагностических значений АТ-ТГ (а) и ICA (б) в зависимости от ИМТ у пациентов с ДРЦЖ

adults; LADA) [16]. У детей и молодых взрослых с СД2 в США и Европе антитела к бета-клеткам определялись с частотой 15–40%, в том числе и у тех пациентов, которые не получали инсулинотерапию в течение года после установления диагноза. На фоне инсулинорезистентности у взрослых антитела к инсулярной ткани, в частности GAD и ICA, могут использоваться как дифференциальный критерий между LADA и СД2 и ассоциируются с медленным прогрессированием заболевания. Исходя из предположения, что СД1 и LADA представляют собой разные патологические процессы, хотя и являются оба аутоиммунными по своей природе, некоторые авторы ввели термин «диабет типа 1,5» [16, 17]. Для объяснения этого феномена было высказано предположение, что ожирение и инсулинорезистентность способствуют развитию воспалительного ответа на антигены, появляющиеся в организме вследствие апоптоза бета-клеток. Кроме того, есть мнение, что присутствие инсулярных антител не исключает развития в будущем и СД2 у лиц молодого возраста, тем более что фенотипически LADA сходен с СД2 [18, 19].

Как показано нами ранее [7], пациенты с ДРЦЖ и избыточной массой тела имели повышенную частоту биохимических признаков метаболического синдрома (МС), таких как нарастание уровня глюкозы натощак ($> 5,9$ ммоль/л; 8–10%), повышение уровня холестерина липопротеидов низкой плотности ($> 4,1$ ммоль/л; 14–21%), повышение уровня общего холестерина ($> 5,2$ ммоль/л; 21–44%) в зависимости от возраста (22–30 или 31–40 лет), что свидетельствует о возможном формировании у них МС либо предиабета по типу СД2. Интересно, что наличие антител к бета-клеткам поджелудочной железы у этих пациентов выявлено нами уже на стадии доклинических проявлений диабета, что ранее не было описано в литературе для пациентов с ДРЦЖ.

Морфологическое исследование посмертной ткани поджелудочной железы у случайно погибших детей с положительными антителами к панкреатическим клеткам показало, что наличие

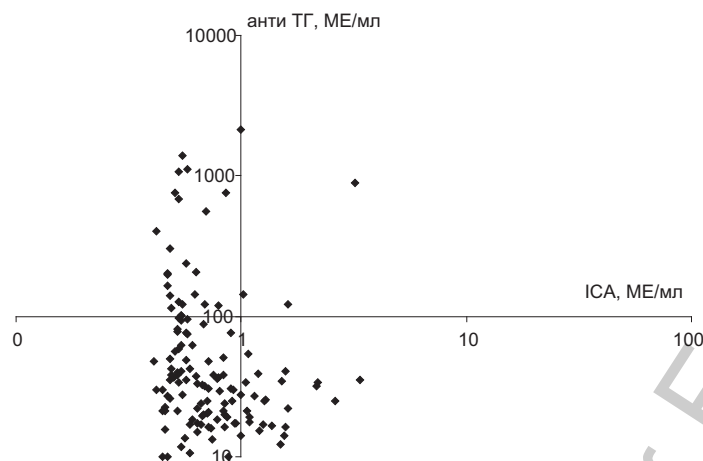


Рис. 7. Взаимосвязь между диагностическими уровнями антител: АТ-ТГ (ордината, значения более 100 МЕ/мл) и ICA (абсцисса, значения правее уровня 1,05 МЕ/мл)

только одного вида антител ICA в течение года не ассоциировано с воспалительными изменениями в поджелудочной железе [20]. Приведенные данные согласуются с результатами наших исследований, так как нами не выявлено существенных изменений метаболизма у пациентов с ДРЦЖ, имеющих положительные значения ICA.

Изучение носительства инсулярных антител и показателей инсулинорезистентности у братьев- и сестер-близнецов лиц, заболевших СД1, показало 100% ICA у идентичных близнецов и 46% у неидентичных близнецов [21], причем наличие ICA не давало корреляции с секрецией инсулина и чувствительностью к инсулину. Эти данные согласуются с отсутствием функциональных и морфологических изменений со стороны поджелудочной железы на ранних этапах носительства ICA [22], а также поддерживают гипотезу о генетических предпосылках аутоиммунных процессов. Имеются сведения о более частой встречаемости ICA у лиц с аутоиммунными заболеваниями ЩЖ [23]. В последнее время накапливаются данные не только о фактах сочетания различной аутоиммунной патологии, но и о более сложных взаимодействиях, например о связи аутоиммунных и метаболических процессов с онкозаболеваниями. Получила развитие гипотеза о том, что наличие инсулинорезистентности и диабета может повышать риск канцерогенеза и, в частности, рака ЩЖ [24]. Полученные нами данные не подтверждают предположения о возможном сочетанном носительстве АТ-ТГ и ICA у пациентов, прооперированных по поводу ДРЦЖ. Механизмы развития аутоиммунизации к антигенам ЩЖ и к антигенам инсулярной ткани у пациентов этой группы, по-видимому, различны.

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют о повышенной частоте встречаемости ICA у пациентов с ДРЦЖ, что, по-видимому, указывает на возможность развития у них латентного аутоиммунного диабета либо СД другого типа.

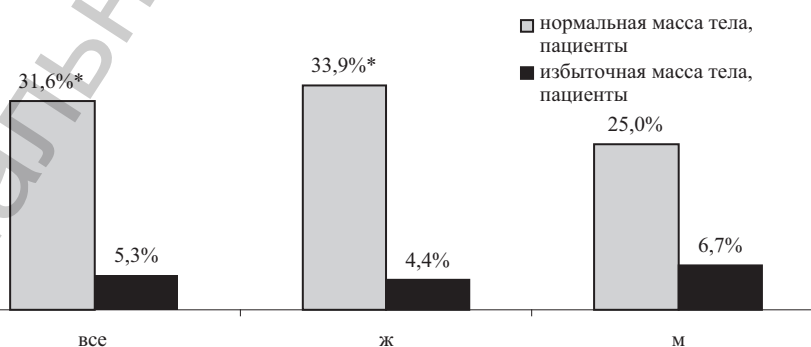


Рис. 8. Частота обнаружения положительных значений АТ-ТГ у пациентов с ДРЦЖ в зависимости от пола и массы тела. * – достоверность отличий ($P < 0,05$) между группами пациентов с различной массой тела

Выводы

1. Обследование пациентов с ДРЦЖ выявило высокий процент ICA (17,2%), что достоверно отличалось от контроля (0,6%). Носительство ICA преобладало у пациентов с избыточной массой тела (29,3%) по сравнению с лицами с нормальной массой тела (5,3%), а также по сравнению с лицами с избыточной и нормальной массой тела из группы контроля (1,3 и 0%).

2. Частота обнаружения двух других типов инсулярных антител (IAA и GAD) была сопоставима с частотой аналогичных показателей у лиц из группы контроля.

3. Корреляция между носительством антител к бета-клеткам поджелудочной железы и АТ-ТГ отсутствовала.

4. Полученные данные, вероятно, указывают на повышенный риск развития латентного аутоиммунного диабета либо СД другого типа у лиц с носительством ICA.

Работа выполнена при поддержке программы ПРООН “UNDP/EC Project «Establishment of International Scientific and Practical Centre of Thyroid Disease in Belarus”.

Литература

1. Hollowell J. G., Staehling N. W., Flanders W. D. et al. // J. Clin. Endocrinol. Metabol. 2002. Vol. 87. P. 489–499.
2. McLachlan S. M., Rapoport B. // Thyroid. 2004. Vol. 14. P. 510–520.
3. Nordice R. A., Gilbert Jr. Fl., Miyamoto I. A. et al. // Arch. Intern. Med. 1993. Vol. 153. P. 862–865.
4. Парамонова Н. С. // Мед. панорама. 2006. № 8. С. 53–55.
5. Митюкова Т. А., Леонова Т. А., Платонова Т. Ю. и др. // Вестн. НАН Беларуси. Сер. мед. наук. 2012. № 2. С. 38–45.
6. Wiebolt J., Achterbergh R., den Boer A. et al. // Eur. J. Endocrinol. 2011. Vol. 164. P. 789–794.
7. Митюкова Т. А., Леонова Т. А., Тузова А. А. и др. // Мед. новости. 2011. № 6. С. 64–67.
8. Стентон Г. Медико-биологическая статистика / Пер. с англ.; под ред. Н. Е. Бузикашвили, Д. В. Самойлова. М., 1999.
9. Atkinson M. A., Fisk D. D., Spillar P. P. et al. // Diabetes. 1985. Vol. 34. P. 926–930.
10. Nuovo J. A., Baker Jr., Wartowsky J. R. et al. // Diabetes. 1988. Vol. 37. P. 317–320.
11. Witkin T. J. // Endocrine Rev. 1990. Vol. 11. P. 92–104.
12. Irvine W. J., McCallum R. S., Gray R. S. et al. // Diabetes. 1977. Vol. 26. P. 138–147.
13. Landrum R. G., Walker A. G., Gudworth C. et al. // Lancet. 1976. Vol. 2. P. 1273–1276.
14. Dean B. M., Becker F., McNally J. M. et al. // Diabetologia. 1986. Vol. 29. P. 339–342.
15. Komalesh M., Karasik A., Srikanta S. // Pract. Cariol. 1986. Vol. 12. P. 79–91.
16. Landin-Olsson M. // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2002. Vol. 958. P. 112–116.
17. Leslie R. D., Williams R., Pozzilli P. // J. Clin. Endocrinol. Metabol. 2006. Vol. 91, N 5. P. 1654–1659.
18. Reinehr T., Schober E., Wiegand S. et al. // Arch. Dis. Child. 2006. Vol. 91. P. 473–477.
19. Sorgierd E. P., Skorpen F., Kvaloy K. et al. // Diabetologia. 2012. Vol. 55. P. 1310–1318.
20. Oikarinen M., Tauriainen S., Honkanen T. et al. // Diabetologia. 2008. Vol. 51, N 10. P. 1796–1802.
21. Schulz B., Witt S., Hildman W. et al. // Exp. Clin. Endocrinol. 1984. Vol. 83, N 2. P. 192–198.
22. Peig M., Gomis R., Ereilla G. et al. // Diabetes. 1989. Vol. 38, N 11. P. 1396–1401.
23. Yamaguchi Y., Chikuba N., Ueda Y. et al. // Diabetes. 1991. Vol. 40, N 3. P. 319–322.
24. Ascherbrook-Kilfoy B., Sabra M. M., Brenner A. et al. // Thyroid. 2011. Vol. 21, N 9. P. 957–963.

T. A. MITYUKOVA, T. A. LEONOVA, N. M. OKULEVICH, T. Yu. PLATONOVA, V. M. DROZD

ANTIBODIES TO ANTIGENS OF BETA-CELLS OF THE PANCREAS OF OPERATED PATIENTS WITH THYROID CARCINOMA

Summary

The frequency of diagnostic levels of antibodies to antigens of insular tissue (antibodies to insulin (IAA), antibodies to the insular carcinoma apparatus (ICA), antibodies to glutamic acid decarboxylase (GAD)) in patients operated for differentiated cancer of thyroid (DCT) is estimated, as well as their connection with treatment factors and with the carrier of antibodies to tireoglobulin (AB-TG) is studied. The examination of patients with DCT revealed a high ICA percentage (17.2%), which differed significantly from the control group (0.6%). The frequency of detection of two other types of insular antibodies (IAA and GAD) was compared with that of the identical indices in patients of the control group. The ICA carrier was dominate in patients with overweight (29.3%) in comparison with those with normal weight (5.3%), as well as with persons with overweight and normal weight of the control group (1.3 and 0%). The correlation between the carrier of insular antibodies and AT-TG was absent. Probably, the obtained data point to an increased risk of development of the autoimmune variant of diabetes mellitus in patients ICA carrier.

УДК 616.314.163-089.819.843-036.1-07-035

О. В. ФЕДОРИНЧИК

КЛИНИКО-ЛАБОРАТОРНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ВЫБОРА СИЛЕРА ДЛЯ ПЛОМБИРОВАНИЯ КОРНЕВЫХ КАНАЛОВ ЗУБОВ

Белорусская медицинская академия последипломного образования, Минск

(Поступила в редакцию 14.05.2012)

Введение. Эндодонтическое лечение зубов при пульпитах и периодонтитах занимает до 35% рабочего времени терапевта-стоматолога. Несмотря на усилия ученых и практиков, разрабатывающих новые средства и методы воздействия на патологические измененные ткани зуба и периодонта, процент успешного лечения не достигает максимальных значений [1].

Результаты лечения осложненного кариеса зубов напрямую зависят от качества выполнения основных требований эндодонтии. Прежде всего это своевременная и точная диагностика. Контроль качества лечения зубов может быть затрудненным в результате неточного определения показаний электровозбудимости пульпы зуба. Этот показатель наряду с клинической картиной позволяет достоверно поставить диагноз и правильно подобрать план лечения зуба. В настоящее время отсутствуют данные о влиянии современных пломбирочных материалов, используемых при лечении кариеса и некариозных поражений зуба, а также заболеваний пародонта на уровень электровозбудимости пульпы зуба [8]. Повышение эффективности терапии пульпита и периодонтита обеспечивается также качественной механической и антибактериальной медикаментозной обработкой каналов [4, 5, 11]. Однако удаления микрофлоры в виде биопленки в недоступных участках системы корневых каналов с помощью современных инструментов и ирригации невозможно достичь при лечении в одно посещение, что диктует необходимость дополнительного медикаментозного воздействия на корневую систему зуба [2, 5–7]. Поскольку для достижения хорошего конечного результата эндодонтического лечения зубов существенное значение имеет полноценная obturation системы корневого канала, логично предположить, что анатомические особенности строения канала и физико-механические свойства силеров, используемых в корневой пломбе, будут оказывать существенное влияние на качество пломбирования [3, 9].

Цель исследования – разработать методику лечения пульпита с временным пломбированием корневых каналов, рекомендовать показания к выбору метода и оценить эффективность его использования.

Задачи исследования: 1) провести ретроспективный анализ амбулаторных карт; 2) определить зависимость электровозбудимости пульпы зуба от наличия и размеров пломбы, а также заболеваний периодонта; 3) изучить физико-механические свойства силеров для временного и постоянного пломбирования корневых каналов; 4) определить хронометраж времени, необходимого для проведения качественной механической обработки стенок корневого канала.

Материалы и методы исследования. Проведен ретроспективный анализ 432 амбулаторных карт пациентов в возрасте от 18 до 65 лет за период с 2003 по 2009 г. с целью анализа ближайших и отдаленных результатов эндодонтического лечения постоянных зубов в зависимости от диагноза, количества корневых каналов и используемого силера.

Изучено влияние размера пломбы и состояния периодонта на показания электровозбудимости пульпы зуба. С этой целью обследовано 326 зубов у 74 пациентов в возрасте 25–65 лет. Из них 143 (43,9%) зуба у 36 человек составили группу без заболеваний в тканях периодонта; 183 (56,1%) зуба у 38 человек – группу с заболеваниями в тканях периодонта. В каждой из них в за-

висимости от размера пломбы выделяли зубы, имеющие размер пломбы до 20%, от 20 до 40%, от 40 до 60%. В 100% случаев пломбы были выполнены из композитных материалов. Электровозбудимость пульпы зубов определяли с помощью аппарата ЭОД-2М в нескольких точках исследуемого зуба: в области бугра (режущего края), фиссуры (слепой ямки) и пломбы. Далее проводили препарирование кариозной полости зуба и измеряли электровозбудимость тканей зуба с дна отпрепарированной полости. Каждый параметр измеряли трижды, вычисляли среднее значение и фиксировали в разработанных картах. Для постановки диагноза учитывали жалобы пациента, клиническую картину, а также показатели электроодонтодиагностики (ЭОД) зуба: пульпа здоровых зубов реагирует на ток 2–6 мкА; при кариесе дентина – на ток 2–10 мкА; при гиперемии пульпы – на ток 12–18 мкА; при остром пульпите пульпа – на ток 20–60 мкА; при хроническом пульпите – на ток 20–100 мкА; при апикальном периодонтите – на ток 100–200 мкА и выше.

Исследованы рабочие свойства на стекле 6 силеров и проведена оценка возможности их использования с гуттаперчевыми штифтами в каналах удаленных зубов. Всего изучено 60 образцов, из них: Канасона – 10, Адсила – 10, Метапекса – 10, Эндиона – 10, Эодента-Normal – 10, цинкоксидэвгенольной пасты (*ex tempore*) – 10 образцов.

В 61 корневом канале (*in vitro*) 36 удаленных зубов исследованы рабочие свойства 6 силеров: Канасона – в 13 корневых каналах, Кальцикура – в 12, Метапекса – в 13, Эндиона – в 9, Эодента – в 14. При изучении свойств силеров использовали программу лабораторных исследований рабочих и технологических свойств паст для пломбирования корневых каналов, разработанную сотрудниками кафедры терапевтической стоматологии БелМАПО [3], согласно которой при оценке учитывали следующие критерии:

1. Способность материала обволакивать гуттаперчевые штифты (в баллах): 1 – плохая; 2 – удовлетворительная; 3 – хорошая; 4 – отличная.

2. Качество скольжения, т. е. способность гуттаперчевого штифта скользить, увлекая за собой материал (в баллах): 1 – плохое; 2 – удовлетворительное; 3 – хорошее; 4 – отличное.

3. Рабочее время – период, в течение которого используемый материал обладает наилучшими технологическими свойствами (оценивается в минутах).

4. Время полного отверждения пасты на стекле: короткое, недостаточное (20 мин); удовлетворительное (21–34 мин); длительное (35 мин и более).

Изучена микротвердость и адгезионная прочность корневого дентина и пломбы на 72 шлифах. В качестве корневой пломбы использовали по 18 образцов каждого из исследуемых силеров – Канасона, Метапекса, Эндиона, Эодента-Normal. Для изучения в лаборатории использовали одно-корневые зубы с хорошо проходимыми корневыми каналами, удаленные по клиническим показаниям. Измерение микротвердости проводили по ГОСТ 9450–76 на микротвердомере Micromet-II фирмы Buehler (Швейцария) с нагрузкой 100 г на шлифах. В основу данной методики заложен метод определения адгезионной прочности тонких слоев покрытий. Методика определения микротвердости образцов композита по Виккерсу (кг/мм²): алмазная пирамидка микротвердометра с углом по вершине 136° вдавливали в образец композита в границу соединения «зуб–пломба» с нагрузкой, обеспечивающей образование микротрещины около одной из диагоналей отпечатка.

Адгезионную прочность определяли по формуле

$$\sigma = 0,2 \frac{P}{D^2},$$

где P – нагрузка, D – сумма диагонали отпечатка и проекции на прямую диагональной микротрещины, мм.

Проведен хронометраж затраченного на обработку одного корневого канала времени при ручном и комбинированном методах его обработки. Для этого механически (методами StepBack, CrownDown, а также смешанным методом) обработано 82 корневых канала (57 зубов), из них 29 – на 17 удаленных зубах (*in vitro*), 53 канала (40 зубов) – *in vivo*. Ручным методом препарирования обработано 42 корневых канала, комбинированным (ручным и машинным) – 40, при этом машинное препарирование сочетали с ультразвуковой обработкой (в 15 образцах) и с обработкой аппаратом Vektor (в 6 образцах).

Результаты и их обсуждение. Ретроспективный анализ амбулаторных карт показал, что наиболее часто при лечении осложненного кариеса встречались хронический пульпит (40,9%) и хронический апикальный периодонтит (19,7%). Обострение хронического пульпита и хронического апикального периодонтита наблюдали в 17,4 и 15,2% случаев соответственно, в то время как острый пульпит – в 6,8% случаев. Подавляющее большинство (75,3%) пациентов имели общесоматические сопутствующие заболевания и лишь 24,7% были практически здоровыми.

При пломбировании корневых каналов предпочтение отдавали пастам на основе цинкоксидэвгенола (43,9%) и резорцин-формалина Резодент (28,8%). Пасту на основе формалина «Форедент» использовали в 20,4% случаев, Радент – в 4,6%. Фосфат цемент для пломбирования корневого канала применяли редко (2,3%). При пломбировании корневых каналов гуттаперчевые штифты не использовали.

Анализ осложнений в зависимости от диагноза пролеченного зуба показал, что в течение первого месяца после эндодонтического лечения 11,36 (6,5/18,1)% зубов имели осложнения, из них 3,03 (0,8/7,6)% – хронический пульпит и 3,03 (0,8/7,6)% – обострение хронического апикального периодонтита, 3,03 (0,8/7,6)% – хронический периодонтит, в результате которых в 6,82% случаев требовалось удаление зуба. В отдаленные сроки после эндодонтического лечения наибольшее количество осложнений наблюдали через 1–3 года после проведенного лечения: в 22,0 (15,2/30,0)% случаев необходимо было удаление зуба, в 9,8 (5,3/16,2)% – повторное терапевтическое лечение.

Изучение осложнений в зависимости от количества корневых каналов показало, что в ближайшие сроки (до 1 мес.) после лечения осложненного кариеса повторного лечения чаще всего требовали однокорневые зубы – 6,82 (3,2/12,5)%, причем в 5,3 (2,2/10,6)% случаев было проведено их удаление. В то же время трехкорневые зубы чаще имели отдаленные осложнения (1–3 года), которые в 21,97 (15,2/30,0)% случаев требовали хирургического удаления, в 9,85 (5,3/16,2)% – повторного терапевтического лечения.

Анализ частоты осложнений после эндодонтического лечения зубов в зависимости от используемого силера показал следующее: ни одного случая ближайших осложнений при использовании в качестве силера фосфат цемента; в 0,76 (0,02/4,1)% случаев было необходимо повторное терапевтическое лечение зуба через 1–3 года, хирургическое вмешательство было применено в 0,76 (0,02/4,1)% случаев, через 4–6 лет после проведенного лечения – в 0,76 (0,02/4,1)% случаев. При использовании цинкоксидэвгеноловой пасты и Резодента в первый месяц наблюдали 4,55 (1,7/9,6) и 5,3 (2,2/10,6)% осложнений соответственно, требующих терапевтических (4,55 (1,7/9,6)%) и хирургических (2,27%) вмешательств. В отдаленные сроки (1–3 года) зубы, пролеченные Резодентом, чаще удаляли (7,58 (3,7/13,5)%), чем лечили повторно (0,76 (0,02/4,1)%).

Изучение *электровозбудимости пульпы в зависимости от наличия и размера пломбы, а также патологических изменений в тканях периодонта* показало, что в группе без патологических изменений в тканях периодонта (табл. 1) электровозбудимость пульпы интактных зубов в области бугра и режущего края зуба составляла в среднем 5,0 [4,0/6,0] мкА, в области фиссуры и слепой ямки – 4,0 [3,0/5,0] мкА.

В зубах с клиническим диагнозом «кариес дентина» показатель ЭОД составил:

при размере пломбы до 20%: в области бугра – 12,0 [10,0/14,5] мкА, в области фиссуры – 11,0 [10,0/13,0], в области дна препарированной полости – 6,0 [6,0/7,0] мкА;

при размере пломбы от 20 до 40%: в области бугра – 15,0 [13,0/16,0] мкА, в области фиссуры – 13,0 [13,0/14,0], в области дна препарированной полости – 8,0 [6,0/8,0] мкА;

при размере пломбы от 40 до 60%: в области бугра – 24,0 [22,0/25,0] мкА, в области фиссуры – 22,0 [22,0/23,0], в области дна препарированной полости – 12,0 [10,0/13,0] мкА.

В пульпе зубов с клиническими диагнозами «хронический пульпит», «обострение хронического пульпита» средняя пороговая сила раздражения составляла:

при размере пломбы до 20%: в области бугра – 46,5 [45,0/50,0] мкА, в области фиссуры – 45,0 [45,0/45,75], в области дна препарированной полости – 40,0 [40,0/41,5] мкА;

при размере пломбы от 20 до 40%: в области бугра – 54,0 [50,0/55,0] мкА, в области фиссуры – 50,0 [48,0/53,0], в области дна полости – 45,0 [44,0/50,0] мкА;

Т а б л и ц а 1. Параметры ЭОД в группе без патологических изменений в тканях периодонта

Диагноз	Размер пломбы	ЭОД, мкА			
		в области бугра (режущий край)	в области фиссуры (слепой ямки)	в области дна препарированной полости	в области пломбы
Здоровый зуб	Нет	5,0 [4,0/6,0]	4,0 [3,0/5,0]	–	–
Кариес дентина	До 20%	12,0 [10,0/14,5]	11,0 [10,0/13,0]	6,0 [6,0/7,0]	165,0 [165,0/170,0]
	От 20 до 40%	15,0 [13,0/16,0]	13,0 [13,0/14,0]	8,0 [6,0/8,0]	180,0 [175,0/185,0]
	От 40 до 60%	24,0 [22,0/25,0]	22,0 [22,0/23,0]	12,0 [10,0/13,0]	>200
		$r = 0,771^{**}$	$r = 0,747^{**}$	$r = 0,681^{**}$	
Хронический пульпит, обострение	До 20%	46,5 [45,0/50,0]	45,0 [45,0/45,75]	40,0 [40,0/41,5]	180,0 [162,5/190,0]
	От 20 до 40%	54,0 [50,0/55,0]	50,0 [48,0/53,0]	45,0 [44,0/50,0]	>200
	От 40 до 60%	59,5 [52,0/60,0]	56,0 [51,2/60,0]	49,0 [45,0/55,0]	195,0 [190,0/198,7]
		$r = 0,654^{**}$	$r = 0,725^{**}$	$r = 0,644^{**}$	

П р и м е ч а н и е. r – коэффициент корреляции по Спирману; $**$ – $P < 0,001$.

при размере пломбы от 40 до 60%: в области бугра – 59,5 [52,0/60,0] мкА, в области фиссуры – 56,0 [51,2/60,0], в области дна препарированной полости – 49,0 [45,0/55,0] мкА.

В группе без патологических изменений в тканях периодонта была обнаружена статистически значимая прямая корреляционная зависимость между размером пломбы и показанием ЭОД с диагнозами «кариес дентина», «хронический пульпит» при измерении электровозбудимости пульпы с бугра зуба, фиссуры и дна препарированной полости.

Результаты изменения параметров ЭОД в зависимости от размера пломбы и клинического диагноза в группе, имеющей патологические изменения в тканях периодонта, представлены в табл. 2.

Как видно из табл. 2, ЭОД пульпы интактных зубов с заболеваниями периодонта в среднем составлял: в области бугра и режущего края зуба – 15,0 [13,0/15,0] мкА, в области фиссуры и слепой ямки – 14,0 [13,0/14,0] мкА.

В пульпе зубов с заболеваниями периодонта с клиническим диагнозом «кариес дентина» средняя пороговая сила раздражения составляла:

при размере пломбы до 20%: в области бугра – 21,0 [20,0/22,0] мкА, в области фиссуры – 18,0 [19,0/20,0], в области дна препарированной полости – 15,0 [14,0/16,0] мкА;

при размере пломбы от 20 до 40%: в области бугра – 21,0 [20,0/22,0] мкА, в области фиссуры – 20,0 [20,0/21,0], в области дна полости – 18,0 [17,0/18,0] мкА;

при размере пломбы от 40 до 60%: в области бугра – 37,0 [37,0/40,0] мкА, в области фиссуры – 35,0 [34,0/36,0], в области дна полости – 33,0 [32,0/33,0] мкА.

ЭОД с диагнозами «хронический пульпит», «обострение хронического пульпита» составлял:

при размере пломбы до 20%: в области бугра – 63,0 [63,0/65,0] мкА, в области фиссуры – 62,0 [60,0/62,0], в области дна препарированной полости – 60,0 [58,0/60,0] мкА;

Т а б л и ц а 2. Параметры ЭОД в группе с изменениями в тканях периодонта

Диагноз	Размер пломбы	ЭОД, мкА			
		в области бугра (режущий край)	в области фиссуры (слепой ямки)	в области дна препарированной полости	в области пломбы
Здоровый зуб	Нет	15,0 [13,0/15,0]	14,0 [13,0/14,0]	–	–
Кариес дентина	До 20%	21,0 [20,0/22,0]	18,0 [19,0/20,0]	15,0 [14,0/16,0]	180,0 [170,0/181,2]
	От 20 до 40%	21,0 [20,0/22,0]	20,0 [20,0/21,0]	18,0 [17,0/18,0]	190,0 [180,0/190,0]
	От 40 до 60%	37,0 [37,0/40,0]	35,0 [34,0/36,0]	33,0 [32,0/33,0]	>200
		$r = 0,574^{**}$	$r = 0,760^{**}$	$r = 0,702^{**}$	
Хронический пульпит, обострение	До 20%	63,0 [63,0/65,0]	62,0 [60,0/62,0]	60,0 [58,0/60,0]	195,0 [187,5/197,5]
	От 20 до 40%	66,5 [65,0/68,0]	63,0 [60,0/64,0]	60,0 [57,0/60,0]	>200
	От 40 до 60%	80,0 [74,7/80,0]	70,0 [64,2/74,25]	65,0 [64,0/69,5]	>200
		$r = 0,548^{**}$	$r = 0,412^{**}$	$r = 0,351^{**}$	

П р и м е ч а н и е. r – коэффициент корреляции по Спирману; $**$ – $P < 0,001$.

при размере пломбы от 20 до 40%: в области бугра – 66,5 [65,0/68,0] мкА, в области фиссуры – 63,0 [60,0/64,0], в области дна препарированной полости – 60,0 [57,0/60,0] мкА;

при размере пломбы от 40 до 60%: в области бугра – 80,0 [74,75/80,0] мкА, в области фиссуры – 70,0 [64,25/74,25], в области дна препарированной полости – 65,0 [64,0/69,5] мкА.

В группе с заболеваниями в тканях периодонта была выявлена статистически значимая прямая корреляционная взаимосвязь между размером пломбы и показанием ЭОД с диагнозами «кариес дентина», «хронический пульпит» при измерении электровозбудимости пульпы с бугра зуба, фиссуры и дна препарированной полости.

Показатели ЭОД зубов в области пломбировочного материала во всех исследуемых зубах колебался от 165,0 [165,0/170,0] до 200 мкА и более, что объясняется плохой электропроводностью композитных материалов.

Отмечали достоверные различия показаний электровозбудимости пульпы между здоровыми зубами, зубами с кариесом и хроническим пульпитом как в группе без заболеваний тканей периодонта, так и в группе с заболеваниями тканей периодонта ($P < 0,001$ по критерию Краскела–Уоллеса).

Результаты исследований рабочих свойств силеров на стекле при балловой оценке показали наиболее низкую способность обволакивать гуттаперчевые штифты у силера Эндрион ($2,5 \pm 0,38$) и Метапекс ($2,6 \pm 0,36$), наиболее высокую – у пасты, содержащей гидроксипатит Эодент-Normal ($3,6 \pm 0,36$).

Качество скольжения было наиболее выражено у паст Эодент-Normal ($3,8 \pm 0,29$) и Канасон ($3,8 \pm 0,29$). Самые низкие показатели скольжения – у Эндриона ($2,3 \pm 0,34$).

Наибольшее рабочее время наблюдали у цинкэвгенольной пасты ($63 \pm 13,32$ мин) и Канасона ($60 \pm 13,8$ мин), наименьшее – у Эндриона ($11,1 \pm 1,55$ мин).

Самое длительное время полного отверждения на стекле зафиксировано у пасты Канасон ($297 \pm 38,93$ мин) и цинкэвгенольной пасты ($255 \pm 15,92$ мин). Быстрее всего полное отверждение силера отмечалось у Эндриона ($86,1 \pm 11,05$ мин).

Результаты исследований рабочих свойств силеров в корневых каналах (табл. 3) показали, что замешивание материалов Канасон и Эодент не представляло особой сложности, тогда как использование для пломбирования каналов стеклоиономерного цемента Эндрион подразумевало совершенствование врачом мануальных навыков по замешиванию данного силера. Поскольку кальцийсодержащие материалы Метапекс и Кальцикур представляли собой готовые лекарственные формы и не требовали дополнительных мероприятий по их подготовке к использованию, они имели максимальный балл (3) по удобству в их приготовлении.

Характеризуя удобство внесения исследованных материалов в корневой канал, следует отметить, что такие эндогерметики, как Канасон, Кальцикур и Эодент-Normal, легко вносились в канал с помощью каналонаполнителя. Для силеров Метапекс и Эндрион аналогичный показа-

Т а б л и ц а 3. Параметры оценки рабочих свойств силеров в корневом канале

Параметр оценки	Оценка в баллах, $\pm t_{0,05} * SE$				
	Метапекс	Канасон	Эндрион	Эодент	Кальцикур
Легкость смешивания и пропитывания порошка жидкостью	3,0	3,0	1,0	$2,2 \pm 0,25$	3,0
Удобство внесения материала в корневой канал	$2,2 \pm 0,23$	3,0	2,0	$2,6 \pm 0,29$	$2,9 \pm 0,19$
Способность материала обволакивать гуттаперчевые штифты	$1,3 \pm 0,29$	2,0	1,0	$1,9 \pm 0,21$	–
Качество скольжения в материале гуттаперчевых штифтов	$1,4 \pm 0,32$	2,0	2,0	$1,7 \pm 0,27$	–
Возможность выведения материала за пределы апикального отверстия	$1,5 \pm 0,32$	$1,7 \pm 0,29$	2,0	$1,5 \pm 0,29$	$1,4 \pm 0,34$
Прилипаемость к дентину корневого канала	$1,9 \pm 0,17$	2,0	2,0	2,0	1,0
Прилипаемость к эндодонтическому инструменту	1,0	1,0	1,0	$1,1 \pm 0,21$	$0,9 \pm 0,19$
Рабочее время материала в условиях эндодонтической модели	2,0	3,0	$1,1 \pm 0,25$	3,0	1,0
Рабочее время материала на стекле	3,0	3,0	$1,1 \pm 0,25$	3,0	1,0
Сумма баллов	$17,3 \pm 0,63$	$20,7 \pm 0,29$	$13 \pm 0,01$	$19,1 \pm 0,36$	$10 \pm 0,27$

тель расценивали как удовлетворительный, что требовало совершенствования врачом мануальных навыков по работе с вышеуказанными пломбировочными материалами. Полученные результаты свидетельствуют о том, что в процессе работы цинкоксидэвгенольный цемент Канасон, а также силер с гидроксиапатитом Эодент обладают способностью хорошо обволакивать гуттаперчевые штифты на всем их протяжении. Эндогерметики Метапекс на основе гидроксида кальция и стеклоиономерный цемент Эндион не покрывали равномерно гуттаперчевые штифты и задерживались только на отдельных участках, причем стеклоиономер фиксировался несколько хуже по сравнению с кальцийсодержащим силером.

Следует отметить, что гуттаперчевые штифты на силерах Метапекс и Эодент-Normal скользили с усилием, причем большее сопротивление наблюдали при использовании кальцийсодержащего эндогерметика. Данное качество вышеназванных корневых наполнителей способствует снижению риска выведения материала за пределы верхушки корня. Однако некоторое сопротивление в процессе продвижения гуттаперчевого штифта может быть причиной неполного пломбирования канала. При использовании силеров Эндион и Канасон наблюдали легкое, без сопротивления, продвижение штифтов по материалу, что требует осторожности в использовании данных эндогерметиков, поскольку легкое скольжение увеличивает риск заапикального выведения пломбировочного материала.

Результаты изучения возможности выведения корневого наполнителя за пределы апикального показали, что при использовании силеров на основе гидроксида кальция – Метапекс (с гуттаперчевыми штифтами) и Кальцикур (самостоятельно), а также эндогерметика с гидроксиапатитом Эодент-Normal имело место выведение небольшого количества пломбировочного материала на пределы апикального отверстия приблизительно с одинаковой частотой. Поэтому в процессе пломбирования необходимо строго контролировать рабочую длину.

Установлено, что лучший показатель по прилипаемости к дентину корневого канала у стеклоиономерного материала Эндион. Цинкоксидэвгенольные цементы Эодент и Канасон, силер с гидроксиапатитом Эодент, а также эндогерметик на основе гидроксида кальция Метапекс характеризуются хорошо выраженной способностью прилипания к дентину корневого канала. Материал на основе гидроксида кальция Кальцикур слабо прилипает к поверхности корневого дентина, однако, поскольку показания к его использованию в эндодонтии ограничены (временное заполнение корневых каналов), данный показатель не оказывает существенного влияния на качество эндодонтического лечения.

Полученные данные свидетельствуют о том, что рабочее время кальцийсодержащего силера Метапекс требует достаточно быстрой работы и хороших практических навыков. Цинкоксидэвгенольный цемент Канасон и силер на основе гидроксиапатита Эодент-Normal характеризовались оптимальным рабочим временем, что позволяло в случае необходимости произвести коррекцию положения основного гуттаперчевого штифта. Короткое рабочее время силера на основе стеклоиономерного цемента Эндион (6–8 мин) также обуславливало наиболее быстрый темп работы и требовало корректного выбора не только размера основного штифта, но и его положения, поскольку исключался вариант коррекции глубины его введения в корневой канал. Аналогичный показатель для временного кальцийсодержащего материала Кальцикур требует отработки методики пломбирования, поскольку введение данного силера не на всю рабочую длину исключает медикаментозное воздействие препарата на ткани апикального периодонта.

При исследовании *микротвердости и адгезии* корневой пломбы различных образцов выявлено, что микротвердость гуттаперчи не имела существенных отличий в показателях и в среднем соответствовала 26 [23/33] Мпа. Показатели средней микротвердости зуба различных образцов также существенно не отличались и в среднем соответствовали 426 [408/456] Мпа.

В корневой пломбе наблюдали существенные отличия показателей средней микротвердости в зависимости от используемых образцов силера ($P < 0,001$ по критерию Краскела–Уоллеса).

Сравнительная характеристика микротвердости корневой пломбы в исследуемых образцах представлена на рис. 1.

Наиболее низкая микротвердость корневой пломбы была выявлена при использовании в качестве силера пасты Метапекс (165 [164/239]), наиболее высокая – у Эндиона (504 [491/519]).

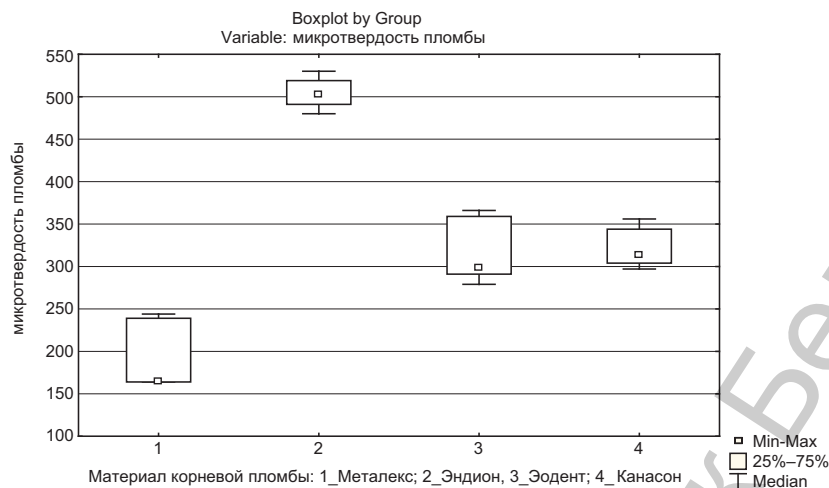


Рис. 1. Характеристика микротвердости корневой пломбы в исследуемых образцах

Показатели средней микротвердости Эодента (299 [291/359]) и Канасона (314 [304/344]) не имели статистически значимых различий.

Сравнительная характеристика адгезионной прочности исследуемых силеров на границе «корневая пломба–зуб» представлена на рис. 2.

Адгезионная прочность на границе «корневая пломба–зуб» также имела существенные различия и зависела от исследуемого силера ($P < 0,001$ по критерию Краскела–Уоллеса).

Наиболее низкая средняя адгезионная прочность (12,8 [11,9/13,2]) на границе «пломба–зуб» была выявлена при использовании в качестве силера пасты Металекс.

Показатели средней адгезии при использовании в качестве силера паст Эодент (23,6 [16,4/32]), Эндион (18,7 [18,4/19,2]) и Канасон (19,8 [17,9/31,6]) не имели статистически значимых отличий.

Результаты исследования хронометража времени, необходимого для проведения качественной механической обработки стенок корневого канала, показали следующее.

In vitro: при ручном методе препарирования для обработки одного корневого канала требовалось в среднем $8,95 \pm 0,83$ мин (Step Back – $9,20 \pm 1,18$ мин, Crown Down – $9,75 \pm 0,56$, смешанный – $8,25 \pm 1,75$ мин). Меньше всего времени затрачивалось при машинном методе обработки канала – $7,23 \pm 0,45$ мин. При комбинированном препарировании (ручное и машинное) затрачивалось $7,34 \pm 0,28$ мин (Step Back – 8,0 мин, Crown Down – $7,08 \pm 0,27$, машинный метод обработ-

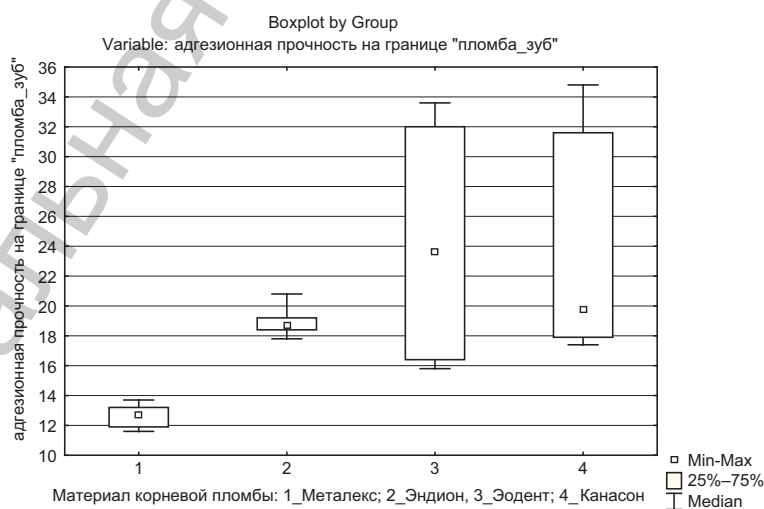


Рис. 2. Характеристика адгезионной прочности силеров на границе «корневая пломба–зуб»

ки в комбинации с Vektor-системой – $7,4 \pm 0,57$ мин), при машинном методе обработки в комбинации с ультразвуковой обработкой – $7,5 \pm 0,72$ мин.

In vivo: при ручном методе препарирования для обработки одного корневого канала затрачивалось в среднем $13,23 \pm 0,59$ мин (Step Back – $13,43 \pm 0,87$ мин, Crown Down – $13,63 \pm 0,65$, смешанный – $11,0 \pm 2,25$ мин); при машинном методе – $8,18 \pm 0,37$ мин; при комбинированном методе препарирования (ручное и машинное) среднее затраченное время составило $8,56 \pm 0,19$ мин (Step Back – $8,79 \pm 0,35$ мин, Crown Down – $8,94 \pm 0,27$, машинный метод обработки в комбинации с ультразвуковой обработкой – $8,36 \pm 0,37$ мин), машинный метод обработки в комбинации с Vektor-системой в клинике не использовался. Применение машинного и комбинированного методов обработки канала позволяют статистически значимо снизить затраты времени, необходимого на его препарирование, по сравнению с ручным методом ($P < 0,05$).

В результате проведенных исследований выявлена зависимость времени, затраченного на обработку одного корневого канала, от опыта работы врача-стоматолога ($P < 0,001$ по критерию Мана–Уитни). Данные показатели работы врача с минимальным стажем определили среднее время, необходимое для обработки одного корневого канала на эндодонтическом приеме при ручном препарировании методом Step Back – $30,0 [30,0/30,0]$ мин (опытный врач на этот объем работы затрачивает $13,0 [12,0/15,0]$ мин).

При obturации корневых каналов методом латеральной конденсации выбор силера для постоянного пломбирования диктовался клинической картиной и анатомическим строением корневого канала. Так, стеклоиономерный цемент Эндион применяли в хорошо проходимых корневых каналах с расширенным верхушечным отверстием. Силеры на основе цинкооксидэвгенола (Канасон, Эодент), учитывая их высокую способность к скольжению, использовали в узких, изогнутых корневых каналах с хорошо выраженным верхушечным отверстием для предупреждения выведения гуттаперчевого штифта за пределы апикального отверстия. В инфицированных корневых каналах зубов, имеющих изменения на рентгенограмме в области тканей апикального периодонта, с целью постоянного пломбирования применяли силер на силиконовой основе с гидроксидом кальция и йодоформом (Метапекс). Выбор силера для постоянного пломбирования корневых каналов также зависит от ранее используемого временного силера. Результаты лабораторных и клинических исследований позволили сформулировать показания к временному пломбированию корневых каналов при лечении осложненного кариеса [2, 7].

Временное пломбирование пастой на основе гидроокиси кальция показано: 1) при хроническом пульпите и хроническом апикальном периодонтите с закрытой полостью зуба, имеющем два и более корневых канала; 2) при остром апикальном периодонтите пульпарного происхождения с закрытой полостью зуба.

Временное пломбирование пастой на основе гидроокиси кальция и йодоформом показано в следующих случаях: 1) острый гнойный пульпит с открытой и закрытой полостью зуба после снятия острых явлений; 2) хронический язвенный пульпит с открытой и закрытой полостью зуба; 3) хронический гиперпластический пульпит с открытой и закрытой полостью зуба; 4) некроз пульпы с открытой и закрытой полостью зуба; 5) острый апикальный периодонтит пульпарного происхождения с открытой полостью; 6) хронический апикальный абсцесс со свищем с открытой и закрытой полостью зуба; 7) хронический апикальный абсцесс без свища с открытой и закрытой полостью зуба.

Не требуют временного пломбирования однокорневые зубы с хорошо проходимыми корневыми каналами: 1) при остром серозном пульпите; 2) при хроническом (простом) пульпите с закрытой полостью зуба; 3) при хроническом апикальном периодонтите с закрытой полостью зуба.

При лечении пульпита без явлений периодонтита (низкая контаминация каналов) используется метод временного пломбирования корневых каналов пастой на основе водного раствора гидроксида кальция. При пульпите с явлениями периодонтита, хронического апикального периодонтита, острого и обострении хронического апикального периодонтита (после снятия острых явлений) каналы дополнительно обрабатывают 2%-ным раствором хлоргексидина (1–2 мин) и временно пломбируют пастой на основе гидроокиси кальция с йодоформом [2, 7].

Выводы

1. Ретроспективный анализ качества лечения осложненного кариеса в период с 2003 по 2009 г. позволил выявить высокую долю (до 32,0%) осложнений в первые 1–3 года после проведенного эндодонтического лечения, в том числе таких, которые требуют перелечения (9,8%) и удаления зуба (22,0%), что подтверждает актуальность разработки рекомендаций к выбору метода и схемы эндодонтического лечения.

2. Электровозбудимость пульпы зуба связана с наличием пломбы и имеет выраженную обратную корреляционную зависимость от размера пломбы ($r \geq 0,574$ – коэффициент корреляции по Спирману, $P < 0,001$). Заболевания периодонта существенно снижали электровозбудимость пульпы зуба ($P < 0,001$ по критерию Краскела–Уоллеса).

3. При исследовании свойств корневой пломбы наиболее низкая микротвердость и адгезионная прочность пломбы выявлена при использовании в качестве силера пасты Метапекс, наиболее высокая – у стеклоиономерного цемента Эндион. Показатели средней микротвердости Эодента и Канасона не имеют статистически значимых различий. Показатели средней адгезии при использовании в качестве силера паст Эодент, Эндион и Канасон не имеют статистически значимых различий. Поскольку все исследуемые силеры обладают достаточной адгезионной прочностью и микротвердостью, выбор силера рекомендуется осуществлять в зависимости от анатомических особенностей корневых каналов, рентгенологических изменений, а также от используемого временного силера.

4. Обеспечение высокого качества механической обработки стенок корневых каналов требует различных затрат времени в зависимости от используемого метода, а также от стажа работы врача стоматолога. Больше времени занимает ручное препарирование, а машинное создает риск перфораций стенок обрабатываемого корня. В связи с этим для обработки корневых каналов рекомендуется комбинированный метод обработки стенок корневых каналов [11].

Литература

1. Боровский Е. Б. // Клини. стоматология. 2003. № 1. С. 38–40.
2. Луцкая И. К., Федоринчик О. В., Запашник П. Е. // Стоматология Беларуси – 2011: материалы 10-й науч.-практ. конф. по стоматологии. Минск, 2011. С. 206–209.
3. Луцкая И. К., Чухрай И. Г. // Достижения медицинской науки Беларуси: рец. науч.-практ. ежегодник. Минск, 1999. С. 117.
4. Луцкая И. К., Лопатин О. А., Федоринчик О. В. // Современ. стоматология. 2008. № 4. С. 59–61.
5. Лопатин О. А., Федоринчик О. В. // Современ. стоматология. 2007. № 3. С. 33–37.
6. Казеко Л. А., Федорова И. Н. // Современ. стоматология. 2009. № 2. С. 4–9.
7. Федоринчик О. В. // ARS MEDICA. 2011. № 14 (50). С. 406–407.
8. Федоринчик О. В. // Инновационные подходы в практическом решении актуальных вопросов современной челюстно-лицевой хирургии и стоматологии: сб. тр. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием «Паринские чтения – 2010». Минск, 2010. С. 159–163.
9. Федоринчик О. В., Фомихина И. В. // Актуальные вопросы терапевтической, ортопедической, хирургической стоматологии, стоматологии детского возраста и ортодонтии. Минск, 2010. С. 188–189.
10. Федоринчик О. В. // Актуальные вопросы терапевтической, ортопедической, хирургической стоматологии, стоматологии детского возраста и ортодонтии». Минск, 2010. С. 189–191.
11. Федоринчик О. В. // Стоматология Беларуси – 2011: материалы 10-й науч.-практ. конф. по стоматологии. Минск, 2011. С. 238–239.

O. V. FEDORINCHIK

CLINICAL AND LABORATORY GROUNDS FOR CHOOSING A SEALER FOR FILLING ROOT CANALS OF TEETH

Summary

The retrospective analysis of outpatient's records has been performed under clinical and laboratory conditions. The relationship between the tooth pulp electroexcitability and the filling availability and size, as well as the periodontal diseases has been studied. Physical and mechanical properties of sealers for temporary and permanent filling of root canals have been investigated, the time necessary for a thorough mechanical treatment of root canals walls being determined. Indications for temporary filling of root canals of permanent teeth are given.

УДК [612.82:615.272.6:517.21]-092.9

В. М. ШЕЙБАК, Е. М. ДОРОШЕНКО, М. В. ГОРЕЦКАЯ, И. В. ЛЯХ

ВЛИЯНИЕ АСПАРТАТА ЦИНКА И ТАУРИНА НА ПУЛ СВОБОДНЫХ АМИНОКИСЛОТ В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ КРЫС

Гродненский государственный медицинский университет, Беларусь

(Поступила в редакцию 17.02.2012)

Введение. Доказано, что цинк является одним из наиболее распространенных микроэлементов у эукариот [1]. Он входит в состав более чем 300 ферментов, ДНК-связывающих белков, транскрипционных факторов и большого семейства рецепторных белков [1, 2]. По сравнению с другими тканями концентрация катионов цинка в мозге одна из наиболее высоких и составляет около 0,15 мМ [3]. При этом в пресинаптических терминалях возбуждающих глутаматергических нейронов концентрации цинка достигают 1 мМ [4]. Подобных нейронов особенно много в зрительном ядре и гиппокампе [5].

Таурин является трофическим фактором в развитии мозга и оптимизирует функцию нейронов. Эта аминокислота защищает клетки головного мозга от эксайтотоксичности, вызываемой возбуждающими аминокислотами (глутаматом, аспаратом) в гиппокампе и мозжечке. Кроме того, таурин препятствует развитию неблагоприятного метаболического каскада, индуцируемого ишемией и гипоксией. Показано, что высокое содержание таурина в нервных клетках делает их более резистентными к ишемии и тормозит развитие судорожных реакций. Механизм этого нейропротекторного эффекта не ясен, но может быть результатом нейромодуляторных, осморегуляторных, антиоксидантных и Ca^{2+} -регуляторных эффектов таурина [6].

На нейрональной мембране постулировано образование цинк-тауринового комплекса, влияющего на активность глутаматдегидрогеназы и Ca^{2+} -связывающих белков, что позволяет предполагать тесное взаимодействие этих соединений в регуляции процессов возбуждения/торможения в ЦНС [7, 8]. Известно, что экзогенное введение таурина и цинка оказывает во многом однонаправленное воздействие на уровни нейроактивных аминокислот в мозге [9–13]. Между тем совместное влияние этих соединений на уровень нейротрансмиттерных аминокислот в отделах головного мозга не изучалось, несмотря на положительные результаты, полученные при изучении композиций, содержащих таурин и цинк [14].

Цель работы – определение структуры аминокислотного пула и индивидуальных концентраций аминокислот в отделах головного мозга после однократного введения животным цинка и таурина.

Материалы и методы исследования. Эксперименты проведены на 28 крысах в возрасте 1 мес. массой 45–55 г. Крысам однократно внутрибрюшинно вводили аспаратат цинка (органическую соль цинка, где в качестве кислотного остатка выступает аспарагиновая кислота) в дозе 33 мг/кг массы тела (первая группа) или аспаратат цинка в сочетании с непротеиногенной аминокислотой таурином – 200 мг/кг массы тела (вторая группа). Контрольные животные получали эквивалентные количества физиологического раствора. Декапитацию животных производили через 1 и 24 ч после инфузии исследуемых соединений. Для исследования забирали на холоду стриатум, средний мозг и гипоталамус. В депротеинизированных экстрактах отделов мозга методом ВЭЖХ определяли концентрации свободных аминокислот и их производных (всего 32 показателя). Полученные результаты обрабатывали методом вариационной статистики, достоверность различий определяли по *t*-критерию Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. *Изменения в гипоталамусе.* Однократное введение аспартата цинка через 1 ч не вызывало существенных изменений общего содержания свободных аминокислот и их производных в гипоталамусе, кроме увеличения концентрации фенилаланина и лейцина (в 1,6 и 3,8 раза соответственно), тогда как уровень глутамина снижался на 38%. Однако в структуре аминокислотного пула гипоталамуса регистрировали снижение относительного количества заменимых аминокислот (ЗА) – соотношения заменимые/незаменимые аминокислоты (ЗА/НА) (9,0 против 13,9 в контрольной группе), увеличение соотношения аминокислот с разветвленной углеродной цепью к ароматическим аминокислотам (АРУЦ/ААК) – от 2,41 в контрольной группе до 3,79 после введения аспартата цинка. Следует отметить и увеличение в гипоталамусе через 1 ч после введения органической соли цинка соотношения ВАК/ТАК (возбуждающих аминокислот (аспартат + глутамат) и тормозных аминокислот (глицин + ГАМК)) – до 2,75 против 2,13 в контрольной группе (табл. 1).

Т а б л и ц а 1. Содержание свободных аминокислот и их производных (нмоль/г ткани) в гипоталамусе крыс после однократного введения аспартата цинка и таурина

Показатель	Контроль	Содержание свободных аминокислот и их производных			
		через 1 ч после введения аспартата цинка	через 1 ч после введения аспартата цинка + таурина	через 24 ч после введения аспартата цинка	через 24 ч после введения аспартата цинка + таурина
Глутамат	12 796 ± 84	13 100 ± 1081	9977 ± 1020*	12 031 ± 128	12 157 ± 308
Аспарагин	143,0 ± 7,6	153,0 ± 16,3	103,0 ± 11,6*	141 ± 5	135 ± 5
α-Аминоадипиновая кислота	8,1 ± 0,73	5,7 ± 0,82	5,3 ± 0,7*	10,0 ± 0,6	6,7 ± 0,6
Глутамин	3519 ± 282	2338 ± 302*	1878 ± 211*	3236 ± 192	2297 ± 134*
Гистидин	171,0 ± 7,8	215 ± 31	126 ± 12*	167 ± 7	137,0 ± 4,8*
Фосфоэтаноламин	3480 ± 161	3430 ± 234	3338 ± 448	3965 ± 216	3987 ± 83*
1-Метилгистидин	3,0 ± 0,38	8,5 ± 3,0	4,4 ± 0,7	3,6 ± 0,2	5,0 ± 0,3*
Тирозин	89,0 ± 12,3	156 ± 87	50,0 ± 6,5*	77,0 ± 6,7	69 ± 11
Валин	165 ± 8	289 ± 87	138 ± 15	157 ± 1	137,0 ± 7,6*
Метионин	21,5 ± 1,75	24,6 ± 4,0	15,0 ± 2,0*	23,9 ± 1,8	18,1 ± 1,3
Фенилаланин	82,0 ± 4,8	133 ± 17*	61,0 ± 5,6*	73,0 ± 1,3	69 ± 4
Лейцин	176,0 ± 10,1	673 ± 199*	199 ± 29	198,0 ± 2,2	164 ± 7
Пролин	304,0 ± 41,1	371 ± 17	472 ± 55*	409 ± 25	137 ± 17*
Лизин	481,0 ± 35,5	546 ± 20	726 ± 89*	529 ± 60	603 ± 49

П р и м е ч а н и е. * – достоверно относительно значений в контрольной группе ($P < 0,05$). Приведены только достоверные отличия. То же для табл. 2, 3.

Через 24 ч после однократного введения аспартата цинка в гипоталамусе отсутствовали достоверные изменения концентраций свободных аминокислот и их производных. Тем не менее изменения аминокислотного пула имели место: несколько снижалось относительное количество протеиногенных аминокислот (до 1,59 против 1,80 в контрольной группе), существенно изменялось соотношение ЗА/НА (15,0 против 13,9 в контрольной группе), соотношение АРУЦ/ААК составило 2,80 против 2,41 в контрольной группе. Отдельно следует отметить снижение относительного количества возбуждающих нейрорактивных аминокислот (падение соотношения ВАК/ТАК до 2,41 против 2,63 в контрольной группе).

Совместное однократное введение аспартата цинка и таурина вызывало более выраженные изменения в гипоталамусе. Через 1 ч снижались концентрации глутамата (на 22%), аспарагина (на 28%), глутамина (на 47%), гистидина (на 26%), аланина (на 25%), тирозина (на 44%), метионина (на 30%), фенилаланина (на 25%). Одновременно увеличивались концентрации пролина (на 55%) и лизина (на 50%). В результате существенно изменялась структура аминокислотного пула. Соотношение протеиногенные/непротеиногенные аминокислоты уменьшилось до 1,56 (против 1,80 в контрольной группе), ЗА/НА – до 9,9 (против 13,9 в контрольной группе), АРУЦ/ААК увеличилось до 3,58 (против 2,41 в контрольной группе), а соотношение ВАК/ТАК снизилось до 2,46 (против 2,63 в контрольной группе).

Через 24 ч после совместного введения аспартата цинка и таурина сохранялось снижение уровней отдельных аминокислот: глутамина, гистидина, валина и пролина. Одновременно повышались концентрации аминокислотосодержащих соединений – фосфоэтаноламина и 1-метилгистидина (табл. 1). Несмотря на стабильность общего аминокислотного пула через 24 ч после введения аспартата цинка и таурина были повышены соотношения ЗА/НА (14,8) и АРУЦ/ААК (2,59), соотношения протеиногенных и непротеиногенных аминокислот и ВАК/ТАК оставались ниже контрольных уровней.

Изменения в среднем мозге. Введение аспартата цинка через 1 ч увеличивало концентрации серина (на 20%), глутамина (на 98%), таурина (на 16%), этаноламина (на 20%), валина (на 28%), цистатионина (на 40%) (табл. 2). Возникающие сдвиги аминокислотного пула в среднем мозге характеризовались преобладанием ЗА (соотношение ЗА/НА увеличивалось до 14,1 против 12,9 в контрольной группе) и повышением соотношения АРУЦ/ААК (до 1,79 против 1,43 в контрольной группе).

Т а б л и ц а 2. Содержание свободных аминокислот и их производных (нмоль/г ткани) в среднем мозге крыс после однократного введения аспартата цинка и таурина

Показатель	Контроль	Содержание свободных аминокислот и их производных			
		через 1 ч после введения аспартата цинка	через 1 ч после введения аспартата цинка + таурина	через 24 ч после введения аспартата цинка	через 24 ч после введения аспартата цинка + таурина
Аспартат	1859 ± 37	1991 ± 57	2078 ± 80*	1867 ± 57	1829 ± 46
Серин	461 ± 29	553 ± 11*	540 ± 13*	502 ± 24	471 ± 21
Глутамин	858 ± 54	1702 ± 55*	920 ± 43	1218 ± 192	1159 ± 116
Таурин	2704 ± 146	3133 ± 135*	3226 ± 81*	3091 ± 138	3025 ± 219
Этаноламин	1141 ± 88	1376 ± 35*	1370 ± 37*	1209 ± 47	1230 ± 69
Валин	75 ± 4	96 ± 3*	93 ± 2*	80 ± 1	74,0 ± 4,6
Цистатионин	42 ± 5	59 ± 2*	12 ± 1*	49 ± 4	40,0 ± 2,2
Триптофан	12,7 ± 1,0	14,2 ± 0,1	30,0 ± 1,6*	11,0 ± 1,5	13,0 ± 1,2
Фенилаланин	37,0 ± 2,5	39 ± 2	63,0 ± 3,5*	36,0 ± 1,3	38 ± 2

Через 24 ч в среднем мозге не было отмечено изменений концентраций отдельных аминокислот и их производных, тогда как через 1 ч выраженные сдвиги структуры аминокислотного пула сохранялись. Они лишь дополнялись небольшим снижением соотношения ВАК/ТАК (до 1,32 против 1,37 в контрольной группе).

Совместное введение аспартата цинка и таурина через 1 ч достоверно повышало в среднем мозге концентрации аспартата, серина, таурина, этаноламина, валина, триптофана и фенилаланина. Одновременно в среднем мозге резко уменьшалась концентрация цистатионина. Как и при введении одного аспартата цинка, повышалось соотношение АРУЦ/ААК (до 1,56) и незначительно увеличивалось соотношение ВАК/ТАК (до 1,46 против 1,37 в контрольной группе).

Через 24 ч после совместного введения аспартата цинка и таурина не было отмечено изменений концентраций отдельных аминокислот или их производных, но регистрировались сдвиги в структуре аминокислотного фонда. Наблюдалось снижение относительного количества протеиногенных аминокислот и соотношения ВАК/ТАК, а также повышение соотношения ЗА/НА до 14,1.

Изменения в стриатуме. Введение аспартата цинка через 1 ч увеличивало концентрации глутамина, лизина и 1-метилгистидина, уменьшало уровень фенилаланина в стриатуме (табл. 3). Возникающий при этом аминокислотный дисбаланс характеризовался повышением соотношения АРУЦ/ААК (до 2,88 против 2,16 в контрольной группе) и ВАК/ТАК (до 5,67 против 5,46 в контрольной группе) при одновременном небольшом снижении соотношения ЗА/НА (до 12,1 против 12,9 в контрольной группе).

Несмотря на то что через 24 ч в стриатуме оставался сниженным только уровень фенилаланина, дисбаланс аминокислотного пула был достаточно выражен: соотношение ЗА/НА – 15,0 (против 12,9 в контрольной группе), АРУЦ/ААК – 2,42 (против 2,16 в контрольной группе), ВАК/ТАК – 5,72 (против 5,46 в контрольной группе).

Т а б л и ц а 3. Содержание свободных аминокислот и их производных (нмоль/г ткани) в стриатуме крыс после однократного введения аспартата цинка и таурина

Показатель	Контроль	Содержание свободных аминокислот и их производных			
		через 1 ч после введения аспартата цинка	через 1 ч после введения аспартата цинка + таурина	через 24 ч после введения аспартата цинка	через 24 ч после введения аспартата цинка + таурина
Глутамин	1963 ± 94	3123 ± 499*	3746 ± 211*	1632 ± 61	3354 ± 328*
Фосфоэтаноламин	4886 ± 120	4221 ± 287	4018 ± 252*	4969 ± 221	4161 ± 223*
1-Метилгистидин	3,0 ± 0,4	5,4 ± 0,3*	3,4 ± 0,4	3,7 ± 0,5	4,7 ± 0,6*
Цитруллин	133 ± 10	143 ± 7	173 ± 12*	137 ± 10	112 ± 10
β-Аланин	56 ± 6	64 ± 2	60 ± 2	56 ± 5	78 ± 5*
Цистатионин	56 ± 4	68,0 ± 3,6	76 ± 3*	59 ± 3	54 ± 6
Фенилаланин	84 ± 2	70 ± 3*	68 ± 5*	69 ± 3*	79 ± 6
Лейцин	174 ± 8	208 ± 27	237 ± 15*	170 ± 15	215 ± 26
Лизин	590 ± 58	865 ± 84*	976 ± 29*	550 ± 63	737 ± 34*

Через 1 ч после совместного введения аспартата цинка и таурина в стриатуме увеличивались концентрации глутамина, цитруллина, цистатионина, лейцина и лизина, тогда как уровни фенилаланина и фосфоэтанолamina были снижены. Более существенные изменения по сравнению с введением одного аспартата цинка наблюдались в структуре аминокислотного пула. Помимо некоторого увеличения общего содержания аминокислот и их производных (на 5%) и соотношения протеиногенные/непротеиногенные аминокислоты (до 1,29 против 1,18 в контрольной группе), заметно изменились соотношения ЗА/НА (11,1 против 12,9 в контрольной группе), АРУЦ/ААК (3,18 против 2,16 в контрольной группе), ВАК/ТАК (6,46 против 5,46 в контрольной группе).

В отличие от группы животных, получавших только аспартат цинка, в стриатуме крыс через 24 ч сохранялось увеличение содержания глутамина и лизина, а также отмечалось снижение уровня фосфоэтанолamina. Одновременно были повышены концентрации производных – 1-метилгистидина и β-аланина. Общее содержание аминокислот и их производных в стриатуме через 24 ч не отличалось от контрольных значений. Соотношение ЗА/НА повышалось (до 14,1), тогда как ВАК/ТАК, напротив, было ниже контрольных значений (5,02). При этом в еще большей степени в аминокислотном пуле увеличивалось относительное количество протеиногенных аминокислот (до 1,27 против 1,18 в контрольной группе).

Заключение. Таким образом, колебания уровней нейротрансмиттерных соединений в различных отделах мозга во многом определялись временем после введения исследуемых препаратов. Совместное введение таурина и аспартата цинка через 1 ч оказывало большее воздействие на спектр изучаемых показателей по сравнению с группой животных, которым вводили только аспартат цинка. В гипоталамусе последствия введения таурина и аспартата цинка регистрировались и через сутки. В стриатуме, как и в гипоталамусе, наибольшие изменения наблюдались при совместном введении исследуемых соединений. При этом, несмотря на значительные изменения уровня отдельных нейротрансмиттерных аминокислот через 1 ч после введения аспартата цинка, через 24 ч дисбаланс аминокислотного фонда был менее выражен, чем при совместном введении таурина и аспартата цинка. Следовательно, комбинация таурина и солей цинка может быть рекомендована для дальнейших исследований с целью модуляции нейрохимических процессов в ЦНС.

Литература

1. Coleman J. E. // Annu. Rev. Biochem. 1992. Vol. 61. P. 897–946.
2. Truong-Tran A. Q. // BioMetals. 2001. Vol. 14, N 3–4. P. 315–330.
3. Zatta P. // Brain Res. Bull. 2003. Vol. 62. P. 15–28.
4. Mocchegiani E. // Prog. Neurobiol. 2005. Vol. 75. P. 367–390.
5. Airado C. C. // J. Chem. Neuroanat. 2008. Vol. 36. P. 197–208.
6. Saransaari P. // Neuroscience. 1997. Vol. 79, N 3. P. 847–854.
7. Gelder N. M. // Biochem. Res. 1983. Vol. 8, N 5. P. 687–699.

8. Gelder N. M. // *Neurochem. Res.* 2001. Vol. 26, N 6. P. 575–578.
9. Нефёдов Л. И. // *Биохимия.* 1989. Т. 54, № 7. С. 1210–1215.
10. Нефёдов Л. И. // *Весті АН Беларусі.* 1990. № 5. С. 99–106.
11. Нефёдов Л. И. // *Весті АН Беларусі.* 1992. № 3–4. С. 99–106.
12. Нефёдов Л. И. // *Укр. биохим. журн.* 1996. Т. 68, № 1. С. 21–26.
13. Nobels F. // *Biomed. Pharmacother.* 1986. Vol. 40, N 2. P. 57–60.
14. Шейбак В. М. // *Эксперим. клин. фармакол.* 2007. Т. 70, № 5. С. 27–29.

V. M. SHEIBAK, E. M. DOROSHENKO, M. V. HARETSKAYA, I. V. LYAKH

EFFECT OF ASPARTATE OF ZINC AND TAURINE ON THE POOL OF FREE AMINO ACIDS IN RAT BRAIN

Summary

Levels of free amino acids in the rat brain after 1 and 24 hours joint and separate administration of zinc aspartate and taurine were investigated. It was shown that in the case of co-administration of taurine and zinc aspartate, more changes in the level and metabolism of the hypothalamus free amino acids are observed. In the midbrain, taurine plays a smaller role in the joint effects of these compounds than in the hypothalamus and striatum, at the same time the greatest changes in the fund structure of amino acids are observed one hour after drug administration. The highest fluctuation of modulation of neurotransmitter amino acid levels was observed during co-administration of drugs in the striatum, when the introduction of taurine prolongs the action of zinc aspartate neuromodulate effect.

УДК 575.224.085

С. Э. ОГУРЦОВА, В. Ю. АФОНИН, Л. П. МАЛЕЙ, Я. В. МАЛАШЕВИЧ, Ю. С. ТЕПЛОУХОВА

РОЛЬ ЭКСПРЕССИИ ГЕНА *NMO1* В БИОАКТИВАЦИИ ХИНОНОВЫХ ПРОМУТАГЕНОВ

Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 09.04.2012)

Введение. Хиноны являются важным классом химиотерапевтических агентов. Как и большинство противоопухолевых соединений, эти вещества обладают мутагенным и канцерогенным действием. Свое мутагенное действие хиноны проявляют только после метаболической активации в клетке, начальным этапом которой является реакция восстановления [1]. Необходимость в восстановлении хинонов при их действии на ДНК отличает эти вещества от большинства химиотерапевтических алкилирующих соединений, мутагенные метаболиты которых образуются в результате реакции окисления с участием цитохромов Р-450. Метаболическая активация хинонов находится под контролем различных генов. Так, ген *NMO1* кодирует фермент NAD(P)H: хиноноксидоредуктазу, которая ответственна за восстановительную биоактивацию хинонов [2, 3]. О роли NAD(P)H: хиноноксидоредуктазы, кодируемой геном *NMO1*, в метаболической активации хинонов существуют две взаимоисключающие точки зрения. Согласно одной из них, образующиеся в результате $2e^-$ редукции гидрохиноны легко конъюгируют с глутатионом и выводятся из организма, не причиняя ему никакого вреда [4, 5], согласно другой – гидрохиноны вступают в цикл восстановления-окисления, а также легко перестраиваются с образованием алкилирующих метаболитов [6].

Экспрессия гена *NMO1* наблюдается в ответ на введение индукторов. Индукция гена *NMO1* может модифицировать мутагенный эффект хиноновых противоопухолевых промутагенов вследствие изменения баланса редуктаз в сторону увеличения активности NAD(P)H: хиноноксидоредуктазы, что приводит к различному соотношению мутагенных метаболитов, обладающих неодинаковым механизмом действия. Конечным результатом индукции гена *NMO1* является изменение уровня аберрантных клеток, спектра аберраций хромосом и нагруженности клеток аберрациями хромосом, что по-разному отражается на цитотоксическом и цитостатическом эффектах хиноновых противоопухолевых промутагенов.

Цель работы – изучить цитогенетическое действие митомицина С и стрептонирина в клетках костного мозга мышей при индукции экспрессии NAD(P)H: хиноноксидоредуктазы атаксантинном.

Материалы и методы исследования. Эксперимент выполнен на самцах мышей линии C57BL/6J с массой тела 20–25 г. В качестве индуктора экспрессии гена *NMO1* использовали каротиноид атаксантин. Последний растворяли в изотоническом растворе и вводили перорально в течение 5 дней ежедневно в дозе 25 мг/кг. Объем раствора индуктора – 0,2 мл на 20 г веса. Промутагены растворяли в изотоническом растворе и вводили через сутки после последнего введения индуктора. Митомицин С вводили внутривентриально, стрептонигрин – внутривенно. Исследуемая доза митомицина С – 2,5 мг/кг, стрептонирина – 3,5 мг/кг. Контрольным мышам вместо индукторов вводили кукурузное масло, а вместо промутагенов – изотонический раствор.

Исследование мутагенного эффекта промутагенов проводили в костном мозге мышей. В качестве теста на мутагенность в клетках костного мозга использовали учет аберраций хромосом

на стадии метафазы. Цитогенетические препараты костного мозга готовили согласно общепринятой методике [7] с предварительным введением колхицина, гипотонической обработкой KCl (0,56%), фиксацией в смеси этанола и уксусной кислоты (1:3). О мутагенном эффекте промутагенов судили по процентному содержанию aberrантных клеток, спектру aberrаций, среднему числу aberrаций на aberrантную и исследованную клетки. Для анализа полученных данных применяли статистические программы Microsoft Excel (средняя арифметическая, ошибка средней арифметической, *t*-критерий Стьюдента).

Для изучения экспрессии гена *NMO1* тотальную РНК выделяли из замороженных, измельченных в жидком азоте образцов печени с помощью реагента RNeasy Mini kit (QIAGEN, Германия) согласно прилагаемому протоколу. Реакцию обратной транскрипции (синтез кДНК из полученной РНК) проводили с использованием набора реагентов QuantiTect Reverse Transcription Kit (QIAGEN). Количественную ПЦР в режиме реального времени осуществляли в присутствии красителя SYBR Green на приборе Chromo4 (Bio-Rad, США). Образцы кДНК нормировали по контрольному гену «домашнего хозяйства» *β-Actin*. Праймеры для генов *NMO1* и *β-Actin* выбирали с использованием программы Primer3 Input 0.4.0 и заказывали у фирмы ОДО «Праймтех» (Беларусь). Статистическую обработку результатов осуществляли с помощью программы STATISTICA 6.0.

Результаты и их обсуждение. Для изучения мутагенного эффекта митомицина С и стрептонирина на фоне предварительного введения астаксантина была выбрана точка фиксации 18 ч, отражающая максимальное количество мутагенных метаболитов хинонов. Эта точка фиксации была выбрана нами на основании предыдущих исследований с хинонами, где максимальный выход aberrантных клеток наблюдался через 18 ч. Из представленных в таблице данных видно, что частота aberrантных клеток при пятикратном введении астаксантина равна $1,2 \pm 0,49\%$ при $0,33 \pm 0,33\%$ в контрольном варианте. Различия оказались недостоверны. По данным литературы, в краткосрочных тестах, таких как тест Эймса с использованием микросомальной фракции печени животных, тест с использованием V79 клеток китайского хомячка и др. [8], астаксантин не обладает канцерогенным и мутагенным действием, что подтверждают и результаты нашего эксперимента. Поэтому при анализе полученных данных нами не учитывался вклад астаксантина в выход aberrаций хромосом.

Уровень aberrаций хромосом в клетках костного мозга мышей линии C57BL/6J после обработки митомицином С и стрептонирином на фоне предварительного введения астаксантина

Вариант воздействия	Число проанализированных клеток	Aberrантные клетки		Среднее число aberrаций	
		число	%	на aberrантную клетку	на исследованную клетку
Контроль (группа 1)	300	1	$0,33 \pm 0,33$	1,00	0,003
Астаксантин (группа 2)	500	6	$1,2 \pm 0,49$	1,00	0,012
Митомицин С (группа 3)	500	103	$20,60 \pm 1,81^{\#}$	1,95	0,4
Стрептонигрин (группа 4)	500	61	$12,2 \pm 1,47^*$	3,2	0,39
Астаксантин + митомицин С (группа 5)	500	65	$13,00 \pm 1,51$	1,23	0,16
Астаксантин + стрептонигрин (группа 6)	500	39	$7,8 \pm 1,20^{\Delta}$	1,6	0,13

Примечание. Достоверность различий: * – относительно контроля (группа 1) ($P < 0,001$); # – относительно группы 5 ($P < 0,05$); Δ – относительно группы 4 ($P < 0,05$).

Введение индуктора привело к статистически достоверному уменьшению (с $20,60 \pm 1,81$ до $13,00 \pm 1,51\%$) выхода числа повреждений хромосом после обработки митомицином С ($P < 0,05$). Подтверждением вывода об уменьшении способности хиноновых промутагенов вызывать aberrации хромосом у животных, которым предварительно вводили астаксантин, служит анализ нагруженности клеток aberrациями и спектр aberrаций хромосом (рис. 1, 2).

Анализ нагруженности клеток aberrациями показал, что введение митомицина С на фоне предварительного введения астаксантина снижает степень повреждения генетического материала клеток костного мозга. Как видно из рис. 1, удельный вес клеток с двумя aberrациями упал с 23,30 до 10,76%, а удельный вес клеток с одной aberrацией вырос от 67,96 до 86,15%. В отличие

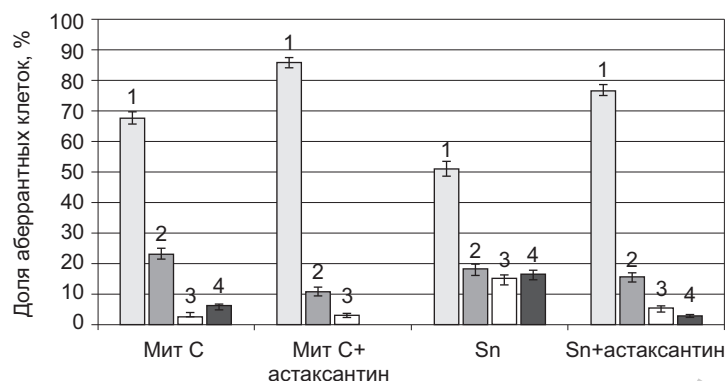


Рис. 1. Нагруженность клеток костного мозга мышей линии C57BL/6J абберациями после введения промутагенов: митомидина С (Мит С) и стрептонирина (Sn) на фоне предварительного введения астаксантина: 1 – с 1 абберацией; 2 – с 2 абберациями; 3 – с 3–10 абберациями; 4 – с множественной фрагментацией

от варианта «митомидин С», клетки с множественными абберациями в варианте «астаксантин + митомидин С» вообще отсутствовали. Вследствие уменьшения частоты абберантных клеток и нагруженности клеток абберациями в варианте «астаксантин + митомидин С» среднее число аббераций на исследованную клетку уменьшилось в 2 раза, а среднее число аббераций на абберантную клетку – в 1,6 раза (см. таблицу).

Спектр аббераций хромосом при введении одного митомидина С представлен одиночными фрагментами, группой «изохроматидные и парные фрагменты», «хроматидные обмены» (рис. 2). Снижение частоты абберантных клеток в варианте с астаксантином сопровождалось уменьшением количества парных фрагментов (среди 80 проанализированных аббераций найден только один парный фрагмент), а также исчезновением из спектра аббераций хромосом хроматидных обменов, что также подтверждает вывод об уменьшении повреждения клеток костного мозга митомидином С на фоне предварительного введения астаксантина.

Как и при введении митомидина С, предварительное введение мышам астаксантина вызвало снижение цитогенетического эффекта стрептонирина. Доказательством этого является снижение уровня аббераций хромосом с $12,2 \pm 1,47$ до $7,8 \pm 1,20\%$ ($P < 0,05$) (см. таблицу). Среди абберантных клеток после введения стрептонирина обнаружена очень высокая доля клеток с множественной фрагментацией (16,39%), несмотря на относительно невысокое общее процентное содержание абберантных клеток. Введение астаксантина привело к уменьшению (до 2,56%) доли характерных для стрептонирина клеток с множественной фрагментацией ($P < 0,01$). В литературе стрептонирин рассматривается как quintessential redox-cycling мутаген [9, 10], и обнаруженная нами значительная доля клеток с множественной фрагментацией хромосом, характерная для большого количества реактивных радикалов кислорода, а также спектр аббераций хромосом, представленный в основном одиночными фрагментами ($97,94 \pm 0,55\%$) и абберациями, от-



Рис. 2. Спектр аббераций хромосом после введения стрептонирина (3,5 мг/кг) на фоне предварительного введения астаксантина. 1 – одиночные фрагменты, 2 – парные и изохроматидные фрагменты, 3 – хроматидные обмены

несенными в группу «изохроматидные + парные фрагменты» ($2,06 \pm 0,68\%$), подтверждают эту точку зрения.

Уменьшение выхода аберрантных клеток после введения промутагенов можно рассматривать с нескольких точек зрения: во-первых, эффективность астаксантина как индуктора, увеличивающего активность NAD(P)H:хиноноксидоредуктазы, кодируемой геном *NMO1*, приводит к быстрой конъюгации и выведению гидрохинона из организма; во-вторых, так как астаксантин является антиоксидантом, он может уменьшать количество свободных радикалов, препятствуя фрагментации хромосом.

Для подтверждения нашего предположения о том, что уменьшение числа цитогенетических повреждений, вызванных хинонами, у индуцированных мышей является следствием индукции экспрессии гена *NMO1*, нами оценены базальный и индуцированный астаксантином уровни экспрессии этого гена в клетках печени животных. В нашем исследовании ликопин при выбранной дозе 25 мг/кг массы тела оказал стимулирующее воздействие на экспрессию гена *NMO1*, увеличив уровень его экспрессии. Были обнаружены статистически достоверные различия между активностью гена *NMO1* у животных, получавших астаксантин в течение 5 дней, и контрольными животными. В печени индуцированных мышей активность *NMO1* увеличилась более чем в 20 раз ($P < 0,001$).

Заключение. Таким образом, на основании анализа уровня аберрантных клеток, спектра аберраций хромосом и нагруженности клеток аберрациями хромосом можно заключить, что предварительное введение ликопина и астаксантина снижает мутагенный эффект митомицина С и стрептонигрина. Полученные данные указывают на то, что снижение кластогенного эффекта хиноновых промутагенов на фоне предварительного введения астаксантина связано или с его антиоксидантными свойствами, или с повышением активности *NMO1*, ведущей метаболизм хинонов по пути образования гидрохинонов, которые быстрее конъюгируют с глутатионом и выводятся из организма.

Литература

1. Райс Р. Х. Биологические эффекты токсических соединений. Новосибирск, 2003. С. 208.
2. Ross D. // Methods Enzymol. 2004. Vol. 382. P. 115–144.
3. Dinkova-Kostova A. T., Talalay P. // Arch. Biochem. Biophys. 2010. Vol. 501, N 1. P. 116–123.
4. Gutierrez P. L. // Free Rad. Biol. Med. 2000. Vol. 29, N 3–4. P. 263–275.
5. Vasiliou V., Ross D., Nebert D. W. // Hum. Genomics. 2006. Vol. 2, N 5. P. 329–335.
6. Adikesavan A. K., Barrios R., Jaiswal A. K. // Cancer Res. 2007. Vol. 67, N 17. P. 7966–7971.
7. Preston R. J. [et al.] // Mutat. Res. 1987. Vol. 189, N 2. P. 157–165.
8. Mitscher L. A. [et al.] // Mutat. Res. 1996. Vol. 350, N 1. P. 143–152.
9. Beall H. D. [et al.] // Biochem. Pharmacol. 1996. Vol. 51, N 5. P. 645–652.
10. Colucci M. A., Moody C. J., Couch G. D. // Org. Biomol. Chem. 2008. Vol. 6, N 4. P. 637–656.

S. A. OGURTSOVA, V. Yu. AFONIN, L. P. MALEI, J. V. MALACHEVICH, Yu. S. TSEPLAVUKHAVA

ROLE OF EXPRESSION OF GENE *NMO1* IN THE BIOACTIVATION OF QUINONE PROMUTAGENS

Summary

The results of experimental study of modification of the mutagen effect of antitumor quinone promutagens are presented. It is shown that the induction of expression of gene *NMO1* by astaxantin reduces the mutagen effect of both mitomycin C and streptonigrin, which is expressed in a decrease of the frequency of aberrations cells, their aberration loading, the absence of chromatid exchanges.

УДК 611.438-018.1/2:612.112.92.015.1

А. Г. БЕЛОВЕШКИН, Т. М. СТУДЕНИКИНА

МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ ВЗАИМОСВЯЗИ КРОВЕНОСНЫХ СОСУДОВ И ТЕЛЕЦ ГАССАЛЯ ТИМУСА ЧЕЛОВЕКА

Белорусский государственный медицинский университет, Минск

(Поступила в редакцию 02.05.2012)

Введение. Как известно, тельцам Гассалья отводится важная роль в процессе формирования специфического микроокружения для дифференцирующихся тимоцитов в мозговом веществе тимуса. Поэтому вопрос о взаимосвязи телец Гассалья с кровеносными сосудами издавна привлекал внимание исследователей. В основе первых гипотез лежало внешнее сходство телец Гассалья с поперечным срезом сосудов. Так, предположение о том, что тельца возникают из эндотелиальных клеток мелких дегенерирующих сосудов, было выдвинуто V. Cornil и L. Ranvier в 1869 г. и подробно описано Б. Афанасьевым в 1877 г. [1, 2]. Согласно Б. Афанасьеву, образование телец начинается с набухания эндотелиоцитов сосудов мозгового вещества, затем происходит деление их ядер, выпячивание и пролиферация клеток. В дальнейшем наблюдается облитерация сосуда, отшнуровка от него образовавшегося тельца и формирование характерных слоистых структур.

Однако результаты тщательного изучения возникновения телец убедили большинство ученых в их эпителиальном происхождении. В 1936 г. J. Hammar [3], которого заслуженно называют «отцом тимологии», предложил следующую модель происхождения телец, которая в общих чертах поддерживается подавляющим большинством современных исследователей: тельца Гассалья образуются из дегенерирующих гипертрофированных эпителиальных клеток, наслаивающихся друг на друга с образованием характерных концентрических структур.

M. Kostowiecki в 1930 г. [4], пытаясь примирить сосудистую теорию Б. Афанасьева с эпителиальной теорией, предположил, что тельца происходят из эпителиальных клеток, концентрически расположенных вокруг сосудов, а в тимусе существует два типа телец: «сосудистые» тельца, представляющие собой кольца эпителиальных клеток вокруг сосудов, и «истинные» тельца – скопления эпителиоцитов с дегенерирующими клетками в центре. C. Gregoire [5] в 1932 г. описал формирование телец из перicyтов капилляров мозгового вещества тимуса.

Однако позднее были получены результаты, которые вновь возобновили интерес к изучению взаимоотношений в системе тельца–сосуды. J. Blau [6] обнаружил, что ряд веществ (частицы углерода, альбумин, иммуноглобулины, вакцина BCG), будучи введенными внутривенно, обнаруживаются в просвете телец Гассалья. Долгое время эти экспериментальные данные не получали удовлетворительного объяснения. Под сомнение классическую (J. Hammar [3]) модель развития телец Гассалья ставят и некоторые современные исследователи [6]. Так, обнаружив экспрессию некоторых эндотелиальных маркеров в тельцах Гассалья, они выдвигают аргументы в пользу сосудистой теории происхождения телец.

Прорыв в изучении васкулярно-эпителиальных взаимоотношений в тимусе произошел в 2005 г., когда M. Drumea-Mirancea, J. T. Wessels, C. A. Muller [8] обнаружили в тимусе систему каналов-проводников (conduit system). Каналы-проводники мозгового вещества представляют собой окруженные эпителиальными клетками производные базальной мембраны – тубулярные структуры, в основе которых лежит ламинин-5 с пучками коллагена типа 4 внутри, содержащие также другие компоненты межклеточного матрикса (фибриллин-1, фибриллин-2, тенасцин-С).

Рядом с каналами-проводниками находятся дендритные клетки, которые, так же как и эпителиальные, экспрессируют молекулы МНС II, отвечающие за антигенпрезентацию. Проанализировав строение каналов-проводников *in vitro*, авторы установили, что они имеют диаметр 2 мкм, начинаются на сосудах и заканчиваются на тельцах Гассалья. Эти каналы-проводники способны транспортировать молекулы размером до 500 кД и не способны транспортировать клетки и, таким образом, представляют собой транспортную систему для антигенов и/или хемокинов внутри мозгового вещества. Так, длительное время предполагаемая связь телец Гассалья с сосудами получила подтверждение. Однако функционирование каналов-проводников *in vivo* не было исследовано, а кроме того, авторы не смогли ответить на вопрос о их возникновении и о установлении контакта телец с сосудами.

Таким образом, вопрос о взаимоотношении сосудов и телец Гассалья до конца не изучен. Учитывая недавно обнаруженное участие телец Гассалья в ряде физиологических процессов (созревание Т-регуляторов, синтез цитокинов и т. п.), а также в патогенезе ряда заболеваний (ревматоидный артрит, сахарный диабет I типа и т. п. [9]), данная проблема по-прежнему актуальна.

Целью данной работы являлось изучение функциональных и морфологических особенностей взаимосвязи кровеносных сосудов с тельцами Гассалья. В частности, была поставлена задача изучить функциональную активность каналов-проводников *in vivo*, выявить топографические взаимоотношения сосудов и телец Гассалья (используя эндотелиальные маркеры), описать механизм возникновения каналов-проводников и обсудить их возможное предназначение.

Материалы и методы исследования. Использовали фрагменты тимусов (30 случаев), удаленных в Минском детском кардиохирургическом центре при вмешательствах по поводу минимальных сердечно-сосудистых пороков у детей в возрасте 1–4 мес., в анамнезе которых отсутствовали инфекционные заболевания, иммунодефицитные состояния, прием стероидных гормонов, иммунодепрессантов. Использовались фрагменты тимусов, удаленных только по хирургическим показаниям (кровотечение, разможжение и др.), с учетом существующих этических и юридических норм.

Образцы тимуса фиксировали в нейтральном формалине, заливали в парафин, готовили серийные срезы толщиной 7 мкм. Препараты окрашивали гематоксилин-эозином (обзорная гистология), молибденовым гематоксилином, кислым фуксин-альциановым синим-гематоксилином. Проводили иммуногистохимическое исследование с антителами к CD31, CD34, CD59, CD68, IgG, VEGF (vascular endothelial growth factor) и рецепторами к нему (VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3) (Daco, США). Съемку осуществляли с использованием цифровой камеры-окуляра UMD-300 (Gsmserver, Тайвань), установленной на микроскопе Zeiss Axiolab (Carl Zeiss AG, Германия).

Результаты и их обсуждение. Для подтверждения связи телец Гассалья с кровеносными сосудами нами изучена экспрессия в тимусе двух молекул – иммуноглобулина G (IgG) и регуляторного белка системы комплемента CD59 (рис. 1). Данные молекулы были выбраны по следующим критериям: небольшая молекулярная масса (IgG – около 150 кД, CD59 – 18–25 кД), их присутствие в плазме крови, отсутствие экспрессии в клетках телец Гассалья. Установлено, что в полости телец Гассалья происходит интенсивная иммуногистохимическая реакция на IgG, что проявлялось в интенсивном окрашивании содержимого тельца (рис. 1, а). Следует отметить, что не обнаружено окраски эпителиальных клеток телец на данный иммуноглобулин, что свидетельствует об отсутствии экспрессии иммуноглобулинов в клетках телец Гассалья. Также было показано, что подобная реакция на IgG отсутствовала в юных тельцах, но обнаруживалась в молодых тельцах на месте гибели центральной клетки (рис. 1, б). Максимальная выраженность реакции наблюдалась в зрелых и стареющих тельцах (рис. 1, а).

Исследование топографии реактивности к CD59 в тимусе (рис. 1, в, г) выявило два типа экспрессии CD59: мембраносвязанную (молекула экспрессируется в эндотелиоцитах и эритроцитах) и растворимую формы (просвет сосудов и полость телец Гассалья) молекулы. Известно, что CD59 – это регуляторный белок системы комплемента, который связывает C8 и C9 компоненты мембранного атакующего комплекса (МАК) системы комплемента и, таким образом, блокирует его сборку на мембране клетки-мишени [10]. Клетки телец Гассалья не экспрессируют CD59, поэтому наиболее вероятно, что в полости телец выявляется растворимая форма молекулы, проис-

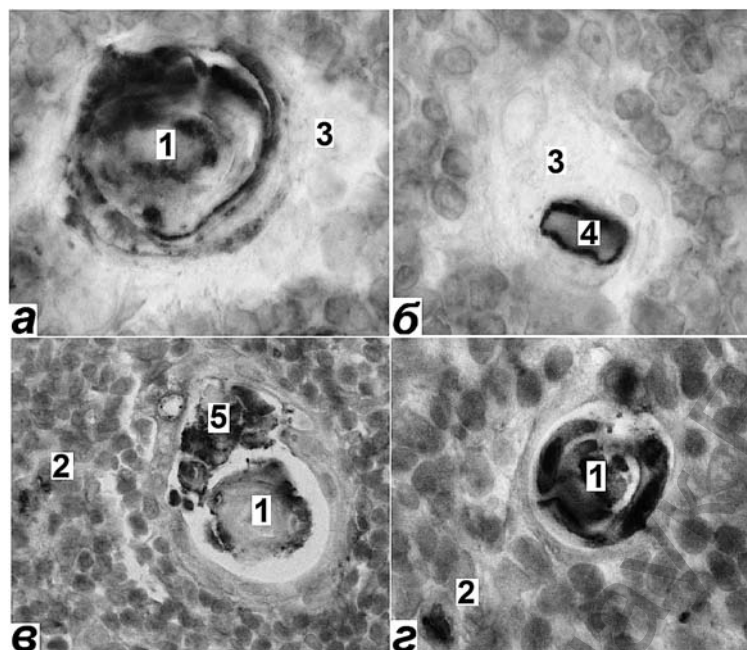


Рис. 1. Экспрессия IgG (а, б) и CD59 (в, з) в тельцах Гассалья. 1 – ядро тельца Гассалья, 2 – клетки мозгового вещества, 3 – клетки телец Гассалья, 4 – полость молодого тельца Гассалья, 5 – детрит в полости тельца. а, б – $\times 1000$; з, в – $\times 800$

ходящая из плазмы крови. Реактивность CD59 выявляется по контуру обломков кератинового ядра, диффузно в клеточном детрите, по внутреннему контуру полостей и щелей между внутренними клетками телец Гассалья (рис. 1, в, з). Учитывая присутствие изученных молекул в полости телец Гассалья и отсутствие их синтеза клетками телец, единственным объяснением этого может служить проникновение молекул CD59 и IgG в полость телец из кровеносных сосудов.

Для исследования топографии сосудов относительно телец Гассалья использовали иммуногистохимическую реакцию к эндотелиальным маркерам CD31 и CD34. Самый чувствительный маркер эндотелиальных клеток — гликопротеин CD31, известный также под названием PECAM-1 (Platelet Endothelial Cell Adhesion Molecule-1) [11]. В тимусе нами выявлена экспрессия CD31 в эндотелиальных клетках кровеносных и лимфатических сосудов, нейтрофилах, макрофагах, дендритных клетках и некоторых субпопуляциях Т-лимфоцитов (рис. 2, а, б). Клетки телец Гассалья не экспрессировали CD31, однако его экспрессия наблюдалась в стареющих тельцах, в полости которых обнаруживались CD31-положительные макрофаги (рис. 2, а). Принадлежность этих клеток к макрофагам подтверждалась экспрессией маркера CD68. Поэтому предположение [6] о том, что центральная часть телец происходит из облитерированных сосудов, основанное на сходстве экспрессии CD31 в сосудах и тельцах Гассалья, является несостоятельным.

Исследование другого эндотелиального маркера (CD34) также показало отсутствие его экспрессии в полости телец. CD34 представляет собой трансмембранный гликопротеин, который избирательно экспрессируется на кроветворных стволовых клетках, эндотелиальных клетках, некоторых фибробластах и гладкомышечных миоцитах [12]. При исследовании экспрессии CD34 в тимусе положительная реактивность наблюдалась нами в эндотелиальных клетках, фибробластах септальных перегородок, меди и адвентиции крупных сосудов. В тельцах Гассалья экспрессии CD34 не выявлено (рис. 2, в, з). Таким образом, установлено, что сосуды микроциркуляторного русла находятся в непосредственной близости (особенно это характерно для юных и молодых типов телец) от телец Гассалья, однако прямой контакт кровеносных сосудов и полости телец отсутствует.

При исследовании серийных срезов нами установлено, что эпителиальные клетки, находящиеся на периферии телец, сохраняют контакт с сосудами посредством компонентов собственной базальной мембраны (рис. 3, б), которые принимают участие в формировании наружного слоя телец и сохраняют связь с базальной мембраной сосудов (рис. 3, з). Таким образом, эпите-

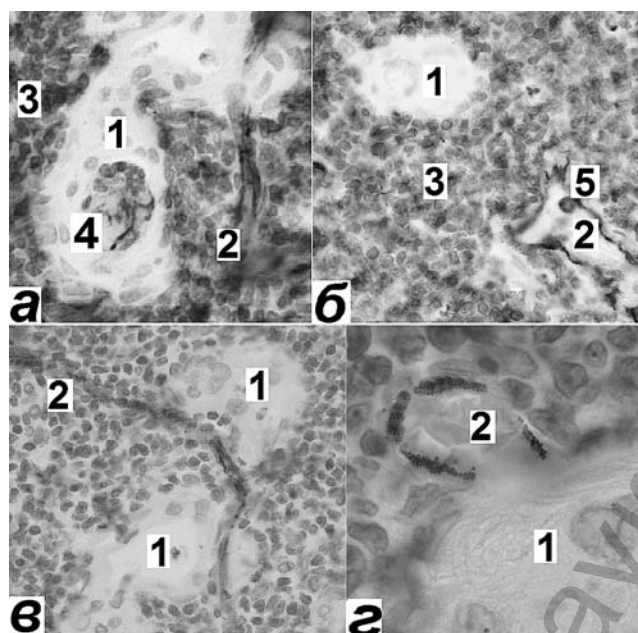


Рис. 2. Экспрессия эндотелиальных маркеров CD31 (а, б) и CD34 (в, г) в тельцах Гассалья. 1 – тельце Гассалья, 2 – кровеносные сосуды, 3 – клетки мозгового вещества, 4 – клетки в полости тельца, 5 – лейкоциты в просвете сосуда. а, б, в – $\times 600$; г – $\times 1000$

лиоциты телец Гассалья имеют связь с сосудами, большинство из которых по диаметру просвета, толщине стенки и отсутствию субэндотелиальных гладкомышечных клеток идентифицированы нами как посткапиллярные венулы. Также установлено, что периваскулярные эпителиальные клетки, расположенные по периферии посткапиллярных венул, отличаются от других периваскулярных эпителиальных клеток стромы тимуса (рис. 3, а, в): они морфологически схожи со светлыми клетками телец Гассалья и характеризуются округлой формой и крупным эухроматиновым ядром, которое по мере роста тельца смещается от стенки сосуда в глубину мозгового вещества тимуса, но при этом не теряет контакта с сосудом. Таким образом, базальная мембрана сосуда связана с эпителиальными клетками формирующегося тельца и каналом-проводником. На стадии молодого тельца в его центре возникает полость вследствие гибели одной из клеток (так называемой центральной клетки), а компоненты базальной мембраны принимают участие

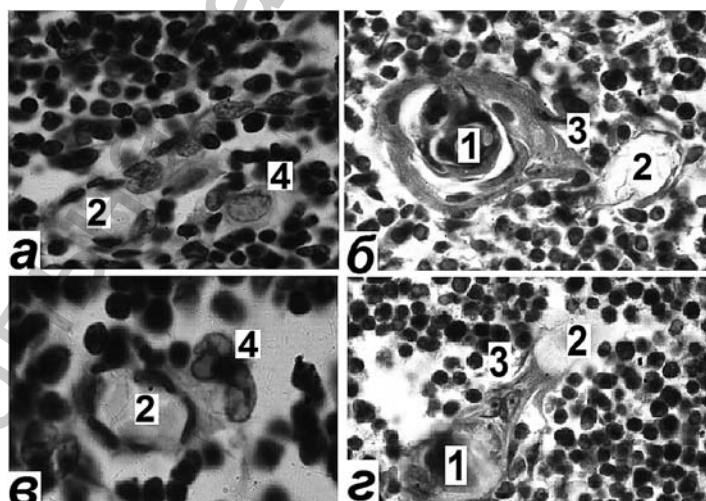


Рис. 3. Периваскулярные эпителиальные клетки (а, в – гистохимическая реакция на нуклеиновые кислоты) и контакт телец Гассалья с сосудами мозгового вещества тимуса (б, г – молибденово-кислый гематоксилин). 1 – тельце Гассалья, 2 – кровеносные сосуды (поперечный срез), 3 – конduit, 4 – периваскулярные эпителиальные клетки. а, б, г – $\times 600$; в – $\times 1000$

в формировании наружного слоя тельца и сохраняют связь с базальной мембраной сосудов. В случае слияния нескольких телец их полости объединяются и, таким образом, новообразованное тельце может иметь несколько каналов-проводников.

Полученные данные позволяют предположить, что каналы-проводники возникают в процессе развития телец Гассалья и являются связующим звеном с посткапиллярными венулами. Кроме того, использование трехмерной реконструкции тимуса в работе [13] доказало, что именно периваскулярные венулы являются структурными организаторами эпителиального компонента мозгового вещества тимуса.

Кроме структурных и функциональных связей, сосудистый и эпителиальный компоненты мозгового вещества имеют общие регуляторные механизмы. Так, в тимических эпителиальных клетках синтезируется фактор роста сосудов (VEGF) – один из основных паракринных регуляторов ангиогенеза [14]. VEGF стимулирует активность эндотелиальных клеток, их миграцию и пролиферацию. При исследовании экспрессии VEGF и рецепторов к нему (VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3) показано, что эпителиальные клетки тимуса экспрессируют VEGF, выраженность иммуногистохимической реакции варьируется от средней до слабой. Высокая интенсивность реакции наблюдается в тельцах Гассалья на всех стадиях развития. При изучении VEGFR рецепторов высокая интенсивность реакции выявлена в эндотелиальных клетках, средняя – в клетках телец Гассалья, слабая – в эпителиальных клетках. Наибольшую экспрессию продемонстрировали VEGFR-1, наименьшую – VEGFR-2 и VEGFR-3.

В настоящее время открытым остается вопрос о направленности потока в каналах-проводниках. В тельце могут попадать молекулы из системного кровотока, в том числе и антигены, а при разрушении тельца наблюдается полное исчезновение кератинового ядра и накопленных в полости телец Aire (аутоиммунный регулятор) – зависимых аутоантигенов [15]. На роль регулирующих элементов могут претендовать миоидные клетки тимуса, для которых нами ранее показана тесная связь с эпителиальными клетками в составе телец Гассалья [16]. В ряде работ была доказана сократительная активность миоидных клеток, а исследования телец *in vivo* показали, что последние пульсируют с определенным ритмом [17]. Так как тельца Гассалья не содержат гладкомышечных клеток, то единственно возможным источником сокращения в данном эксперименте могли быть только миоидные клетки. Сократительная активность миоидных клеток телец Гассалья может регулировать выведение содержимого из полости телец в кровеносные сосуды и/или попадание антигенов внутрь полости тельца.

Заключение. Полученные нами данные свидетельствуют о тесной взаимосвязи сосудов и телец Гассалья мозгового вещества тимуса. Так, при исследовании топографии сосудов относительно телец Гассалья (с использованием эндотелиальных маркеров CD31 и CD34) обнаружено, что прямой контакт просвета кровеносных сосудов и полости телец отсутствует, но сосуды (преимущественно капиллярного русла) часто расположены в непосредственной близости к тельцам Гассалья. Несмотря на отсутствие прямого контакта, показано, что роль связующих элементов между сосудами и тельцами Гассалья играют каналы-проводники – тяжи эпителиальных клеток. На примере молекул IgG и CD59 подтверждена функциональная активность каналов-проводников тимуса *in vivo*. Также установлено, что источником формирования телец Гассалья являются клетки периваскулярного эпителия преимущественно посткапиллярных венул мозгового вещества. Показано, что тельца Гассалья в процессе развития сохраняют контакт с посткапиллярными венулами. Так, эпителиальные клетки, находящиеся на периферии телец, тесно контактируют с сосудами мозгового вещества, формируя кондуиты тимуса. Таким образом, полость тельца имеет функциональный контакт с кровеносными сосудами, который пропускает внутрь тельца ряд соединений и дренирует полость тельца при разрушении кератинового ядра, что может быть важным механизмом распределения антигенов в мозговом веществе.

Литература

1. Cornil V. // Manuel d'histologie Pathologique. Paris, 1869. P. 133–136.
2. Afanassiew B. // Arch. Mikr. Anat. 1877. P. 320–342.
3. Hammar J. // Die normal-morphologische Thymusforschung. Leipzig, 1936. P. 345.

4. *Kostowiecki M.* // Bull. Int. Acad. Polon. Sci. 1930. P. 589–628.
5. *Gregoire C.* // C R Assoc. Anat. (Paris) 1932. P. 328–335.
6. *Blau J.* // Immunology. 1969. Vol. 17, N 6. P. 995–998.
7. *Palestro G.* // Int. J. Surg. Pathol. 1998. Vol. 6, N 4. P. 213–221.
8. *Drumea-Mirancea M.* // J. of Cell Sci. 2005. Vol. 119. P. 1396–1405.
9. *Bodey B.* // Immunol. aspects of neoplasia. 2004. P. 567.
10. *Meri S.* // Biochem. J. 1996. Vol. 316. P. 923–935.
11. *Pusztaszeri M.* // J. Histochem. Cytochem. 2006. Vol. 54, N 4. P. 385–395.
12. *Eladowski D.* // Folia Hist. et Cyt. 2006. Vol. 44, N 4. P. 263–267.
13. *Anderson M.* // Int. Immunol. 2000. Vol. 12, N 7. P. 1105–1110.
14. *Ohm J.* // Blood. 2003. Vol. 101, N 12. P. 4878–4886.
15. *Беловешкин А. Г.* // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2011. № 2. С. 93–97.
16. *Беловешкин А. Г.* // Мед. журн. 2011. № 1. С. 22–24.
17. *Flaum E.* // Z. Zellforsch. Mikrosk. Anat. 1963. Vol. 59. P. 479–485.

A. G. BELOVESHKIN, T. M. STUDENIKINA

FUNCTIONAL AND STRUCTURAL CONNECTIONS OF BLOOD VESSELS AND HASSALL'S CORPUSCLES IN HUMAN THYMUS

Summary

It was found that it is a close functional and structural connection between Hassall's corpuscles and blood vessels in human thymus. Despite the absence of a direct contact we clearly show that conduits (bundles of epithelial cells) play a key role being connecting between those elements and are able to pass blood molecules into the cavity of corpuscle *in vivo*. We also prove that the histogenesis of Hassall's corpuscles begins with the perivascular epithelium of the postcapillary venules of the medulla and this connection has been saving during all cycle of corpuscle development. So, the cavity of the corpuscle has an active functional connection with blood vessels and it can be used for a drainage cavity after keratin core destruction and for antigen distribution in medulla. So the way of bloodborn antigens penetration to medulla for taking part in intrathymic selection cannot also be excluded.

УДК 615.214.24.001.8:615.322

Е. В. КРАВЧЕНКО¹, И. В. ПОНТЕЛЕЕВА², Л. В. МАКСИМОВА², Л. М. ОЛЬГОМЕЦ²
**ИССЛЕДОВАНИЕ ГАМК-, ХОЛИН-, ДОФАМИН- И ГЛУТАМАТЕРГИЧЕСКОЙ
СИСТЕМ В МЕХАНИЗМЕ ДЕЙСТВИЯ ФИТОПРЕПАРАТА «РАЦИУМ®»**

¹Государственное предприятие «Академфарм», Минск, Беларусь,

²Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 19.03.2012)

Введение. Для терапии связанных со стрессом, соматоформных и иных невротических расстройств целесообразно использование препаратов на основе растительного сырья, которые, в отличие от психотропных средств, не вызывают быстрого привыкания, не обладают выраженным побочным действием, не влияют на способность к концентрации внимания и на производительность труда. Эффективность фитопрепаратов подтверждена в экспериментальных и клинических исследованиях [1–3], однако работы, посвященные исследованию механизма их действия в отношении ключевых нейротрансмиттерных систем, единичны [4].

В ИФБ НАН Беларуси разработано лекарственное средство «Рациум®», активными компонентами которого являются порошки корневищ с корнями *Valeriana officinalis* (100 мг), листьев *Mentha piperita* (50 мг), травы *Melissa officinalis* (50 мг) и вспомогательные вещества – до 400 мг [5, 6].

Цель настоящей работы – изучение возможного участия основных нейромедиаторных систем (ГАМК-, холин-, дофамин- и глутаматергической) в реализации фармакологического эффекта «Рациума®».

Объекты и методы исследования. В исследованиях использовали фармакологические анализаторы – блокатор ГАМК_A-рецептора бикикуллин (Fluka, lot 14340), м-холиномиметик ареколина гидробромид (Fluka, lot 10980), антагонист NMDA-рецепторов МК-801 (Sigma, lot 078K4606) и неселективный агонист дофаминовых рецепторов апоморфина гидрохлорид гемигидрат (Sigma, lot 039K1207). Ареколин и апоморфин применяли подкожно (п/к) в дозах 25,0 и 2,5 мг/кг, МК-801 и бикикуллин – внутривенно (в/в) в дозах 0,5 и 3,0 мг/кг.

Образцы разрабатываемого в ИБОХ НАН Беларуси лекарственного средства «Рациум®» (номера серий 010110 и 030610) с содержанием в каждой капсуле массой 400 мг 0,105 и 0,112 мг сесквитерпеновых кислот (в пересчете на валереновую кислоту), 2,875 и 3,981 мг гидроксикоричных кислот (в пересчете на розмариновую кислоту) изготовлены ГП «Академфарм» ИФБ НАН Беларуси. Количественное содержание сесквитерпеновых кислот в пересчете на валереновую кислоту определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе Agilent 1200 Series со спектрофотометрическим детектором с использованием хроматографической колонки 250 × 4,6 мм ZORBAX SB-C18. Количественное содержание суммы гидроксикоричных кислот в пересчете на розмариновую кислоту осуществляли методом абсорбционной спектрофотометрии с использованием спектрофотометра Agilent 8453 UV-Vis. Названные образцы удовлетворяют требованиям проекта ФСП РБ к содержанию активных веществ (содержание сесквитерпеновых кислот – не менее 0,1 мг в капсуле, содержание гидроксикоричных кислот – не менее 1,1 мг в капсуле) и в целом могут рассматриваться как идентичные. «Рациум®» вводили в дозах 120 или 360 мг/кг перорально (п/о) в утренние часы, а в день эксперимента – за 30–45 мин до тестирования, дозируя по массе содержимого капсул. Растворы вводили в объеме 0,4–1,0 мл на 100 г массы тела. Во всех случаях, за исключением экспериментов

с введением апоморфина, растворяемого с целью стабилизации в 0,1%-ном растворе аскорбиновой кислоты, в качестве растворителя использовали дистиллированную воду.

Влияние бикикуллина на анксиолитический эффект «Рациума[®]» исследовали на крысах-самцах линии Wistar ($n = 31$, масса тела $189,0 \pm 3,7$ г), используя методику конфликтной ситуации (вариант Vogel) [7, 8]. Животные получали «Рациум[®]» (номер серии 011210) в дозе 360 мг/кг (группы 3а и 4а) или растворитель (группы 1а и 2а) 4-кратно, ежедневно. Непосредственно перед тестированием крысам применяли блокатор ГАМК_A-рецептора (группы 2а и 4а) или растворитель (группы 1а и 3а). Животных на 10 мин помещали в анксиометр (Columbus Instruments, США). Каждое 20-е взятие воды из поилки сопровождалось электроболевым раздражением (0,35 мА). Анксиолитический (анксиогенный) эффект образцов проявлялся статистически значимым увеличением (снижением) числа наказуемых взятий воды из поилок (N).

Оценку влияния «Рациума[®]» на холинергическую нейротрансмиссию проводили на модели тремора, вызванного введением ареколина [8, 9] мышам-самцам ICR ($n = 27$, масса тела $27,5 \pm 0,4$ г). Животным применяли «Рациум[®]» (серия 030610) в дозе 120 мг/кг (группа 3б) или растворитель (группы 1б и 2б) в вышеуказанном режиме. Непосредственно перед тестированием мышам вводили ареколин (группа 3б) или растворитель (группы 1б и 2б, пассивный и активный контроль соответственно). На протяжении 60 мин регистрировали латентный период возникновения (ЛП_{тр}), продолжительность (Т_{тр}) и интенсивность тремора по 3-балльной шкале [8].

Исследование влияния «Рациума[®]» на феномен апоморфиновой «вертикализации» проводили по общепринятой методике [8] на мышах-самцах ICR ($n = 30$, масса тела $28,7 \pm 0,4$ г). Животные получали «Рациум[®]» (серия 011210) в дозе 120 мг/кг (группа 3в) или растворитель (группы 1в и 2в) 3-кратно, ежедневно. Апоморфин (мышам групп 2в, активный контроль, и 3в) или растворитель (мышам группы 1в, пассивный контроль) вводили непосредственно перед тестированием. В течение 60 мин каждые 2 мин регистрировали интенсивность вертикальной активности в цилиндрических камерах со стенками из проволоки, оценивая ее по 4-балльной шкале [8].

Влияние «Рациума[®]» на нейротоксические эффекты МК-801 и вызванную им дисгабитуацию [8] изучали на крысах-самцах линии Wistar ($n = 23$, масса тела $227,4 \pm 3,72$ г). «Рациум[®]» (серия 030610) в дозе 120 мг/кг (крысам группы 3г) или растворитель (особям групп 1г и 2г) применяли 3-кратно, интервалы между введениями: 1-е сутки – между первым и вторым, 3-и сутки – между вторым и третьим. Повторное применение названных образцов сопровождали однократным в/б введением животным МК-801 (группы 2г и 3г) или растворителя (группа 1г). Через 30 мин после второго и третьего введения растворов оценивали подвижность крыс групп 1г–4г и процессы неассоциативного обучения, нарушенные МК-801. Эксперименты проводили в актометре (Ugo Basile, Италия) при уровне освещенности $132,5 \pm 10,3$ люкс. Маркером процесса внутрисессионного угашения горизонтальной двигательной активности (ГДА) (ультракраткосрочная память) считали статистически значимое снижение уровня подвижности во 2-ю и 3-ю минуты относительно таковой в 1-ю минуту наблюдения, межсессионного – снижение локомоции за 3 мин регистрации при повторном тестировании в сравнении с соответствующим показателем при первой актометрии. Кроме того, через 50–60 мин после повторного введения МК-801 регистрировали наличие/отсутствие и интенсивность (по 3-балльной шкале) проявлений нейротоксичности (миорелаксации, стереотипного поведения, вращений, тремора, одышки, экзофтальма,птоза век, слюнотечения, гипотермии, судорог, гибели).

В экспериментах использовали половозрелых (2 мес.) аутбредных животных, полученных из отдела биологических моделей ИФОХ НАН Беларуси. Все манипуляции с лабораторными грызунами проводили в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном отношении к животным.

Результаты и их обсуждение. Фитопрепарат «Рациум[®]» оказывал отчетливое анксиолитическое действие, вызывая статистически значимое увеличение показателя N за 3 и 10 мин наблюдения по сравнению с пассивным контролем (табл. 1). Введение крысам блокатора ГАМК_A-рецептора бикикуллина вызывало анксиогенный эффект, что выражалось в существенном снижении в с 7-й по 9-ю минуту эксперимента значений N относительно таковых в пассивном контроле (табл. 1). Бикикуллин ослаблял антиконфликтное действие «Рациума[®]»: значения показателя N за 3 и 10 мин эксперимента у крыс группы 4а было статистически значимо ниже, чем у особей

Т а б л и ц а 1. Влияние «Рациума®» на эффекты бикикуллина у крыс линии Wistar (использована методика конфликтной ситуации (вариант Vogel))

Показатель	Интервал регистрации (мин, с)	Группа			
		1а (n = 7)	2а (n = 8)	3а (n = 8)	4а (n = 8)
Число наказуемых взятий воды из поилок	0.00–2.59	9,6 ± 1,6	8,3 ± 1,5	19,3 ± 2,1* [×]	11,5 ± 3,1 [∇]
	3.00–5.59	11,4 ± 2,3	6,5 ± 2,0	14,6 ± 1,5 [×]	11,4 ± 2,6
	6.00–8.59	8,7 ± 1,9	3,4 ± 1,0*	13,6 ± 1,6 [×]	8,6 ± 2,7
	9.00–10.00	1,1 ± 0,6	1,3 ± 0,7	2,8 ± 0,5	2,0 ± 0,6
	0.00–10.00	30,9 ± 5,4	19,4 ± 3,7	50,3 ± 1,8* [×]	33,5 ± 6,9 [∇]

П р и м е ч а н и е. Различия статистически значимы при сравнении: * – с группой 1а (растворитель, пассивный контроль), $P < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса; [×] – с группой 2а (биккуллин, активный контроль), $P < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса; [∇] – с группой 3а («Рациум®» + растворитель), $P < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса. Здесь и далее: n – число животных в группе.

группы 3а, исчезали значимые различия с группой 2а, отмеченные для крыс группы 3а (табл. 1). Полученные результаты хорошо согласуются с данными о потенцировании экстрактом валерианы и валереновой кислотой седативного эффекта соединений, взаимодействующих с ГАМК_A-рецептором [10], дисфункция которых вовлечена в патогенез тревожных расстройств [7], а также сведениями о пролонгировании и усилении фитопрепаратом на основе валерианы действия барбитуратов [4].

«Рациум®» не оказывал значимого влияния на ЛП_{тр}, Т_{тр} и интенсивность ареколинового тремора (табл. 2), а также не изменял интенсивность апоморфиновой вертикализации у мышей ICR (рис. 1), при первом сеансе актометрии не препятствовал стимулирующему действию МК-801 (рис. 2, а). Значительное возрастание ГДА относительно контроля во время второго сеанса актометрии у особей, получавших МК-801, указывает на нарушения межсессионной габитуации, а отсутствие такового при совместном назначении блокатора NMDA-рецепторов с «Рациумом®» свидетельствует о корригирующем эффекте последнего (рис. 2, а). Фитопрепарат предотвращал нарушения процесса внутрисессионного угашения локомоторной активности, вызванные применением МК-801, что подтверждалось статистически значимым снижением ГДА во 2-ю и 3-ю минуты наблюдения по сравнению с 1-й минутой у крыс групп 1г и 3г (но не группы 2г) (рис. 2, б). Способность фитопрепарата препятствовать развитию нарушений, обусловленных дисфункцией глутаматергической нейротрансмиссии (табл. 3), может иметь клиническое значение в терапии нейродегенеративных заболеваний. Полученные данные хорошо согласуются с результатами клинических исследований *Melissa officinalis*, входящей в состав «Рациума®», при деменциях [3, 10].

Т а б л и ц а 2. Влияние «Рациума®» на эффекты ареколина у мышей линии ICR

Группа	ЛП _{тр} , с	Т _{тр} , с	Интенсивность тремора, балл
1б (n = 9)	3600,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
2б (n = 9)	97,3 ± 8,3*	1980,4 ± 78,9*	3,0 ± 0,0*
3б (n = 9)	97,7 ± 11,3*	1987,4 ± 59,0*	3,0 ± 0,0*

П р и м е ч а н и е. * – различия статистически значимы по сравнению с группой 1б (растворитель, пассивный контроль), $P < 0,05$, ANOVA.

Т а б л и ц а 3. Влияние «Рациума®» на нейротоксические эффекты МК-801 у крыс линии Wistar

Группа	Оценка выраженности эффектов, балл		
	Боковое положение	Возбуждение	Атаксия
1г (n = 8)	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0
2г (n = 7)	2,6 ± 0,6*	2,9 ± 0,4*	2,1 ± 0,4*
3г (n = 8)	0,9 ± 0,3	2,6 ± 0,7*	1,4 ± 0,5

П р и м е ч а н и е. * – различия статистически значимы по сравнению с группой 1г (растворитель, пассивный контроль), $P < 0,05$, критерий Крускала–Уоллиса.

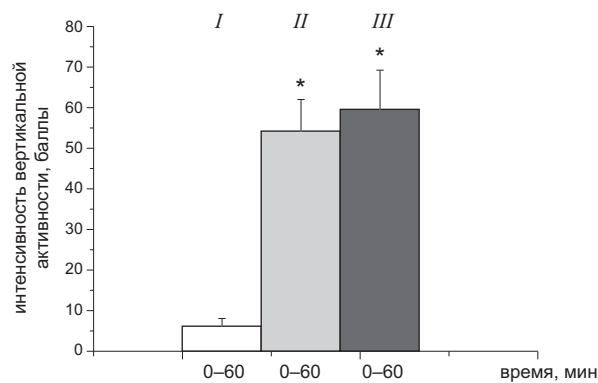


Рис. 1. Влияние «Рациума®» на эффекты апоморфина у мышей ICR. I, II и III – группы 1в (растворитель, пассивный контроль), 2в (апоморфин, активный контроль) и 3в («Рациум®» + апоморфин) соответственно. * – различия статистически значимы по сравнению с группой 1в, $P > 0,05$, ANOVA

По современным представлениям, в основе патогенеза тревожных расстройств лежит сложное взаимодействие нейромедиаторных систем, включая ГАМК-, серотонин-, норадреналин-, дофамин- и пептидергическую (кортиколиберин, холецистокинин, нейропептид Y и др.) [11]. Вовлеченность ГАМКергической передачи в механизмы формирования тревоги подтверждаются многочисленными факторами, в том числе эффективностью при тревожных расстройствах бензодиазепинов, способностью антагониста бензодиазепиновых рецепторов флумазенила провоцировать панические атаки у больных, снижением плотности бензодиазепиновых рецепторов и уменьшением связывания лигандов с ними у животных, используемых для моделирования тревожных расстройств, и у пациентов с генерализованными тревожными расстройствами (ГТР) [11]. На значимость ГАМК_A-рецепции указывают данные о повышенной тревожности нокаутных мышей, гетерозиготных по делеции гена, кодирующего $\alpha 2$ -субъединицу ГАМК_A-рецептора [11, 12]. Анксиолитическое действие аллостерических регуляторов ГАМК-рецепторов нейростероидов (аллопрегнанолаон, тетрагидродеоксикортикостерон, тетрагидрометаболиты прогестерона) осуществляется посредством их связывания с соответствующим участком на ГАМК_A-рецепторах [11]. Н-холинорецепторы вовлечены в процессы регулирования тревоги [13]. Роль дофаминергической системы в развитии тревожных расстройств подтверждается исследованиями, установившими вовлеченность «тропных» к дофаминовым D₂-рецепторам соединений (агонист D₂-рецепторов квинпирол и антагонист D₂-рецепторов сульпирид) в механизмы тревоги и депрессии, а также наличие ассоциированных с тревожными расстройствами изменений в генах, кодирующих дофаминовые рецепторы, белок – транспортер дофамина, фермент катехол-О-метилтрансферазу, ответственный за деградацию катехоламинов, в том

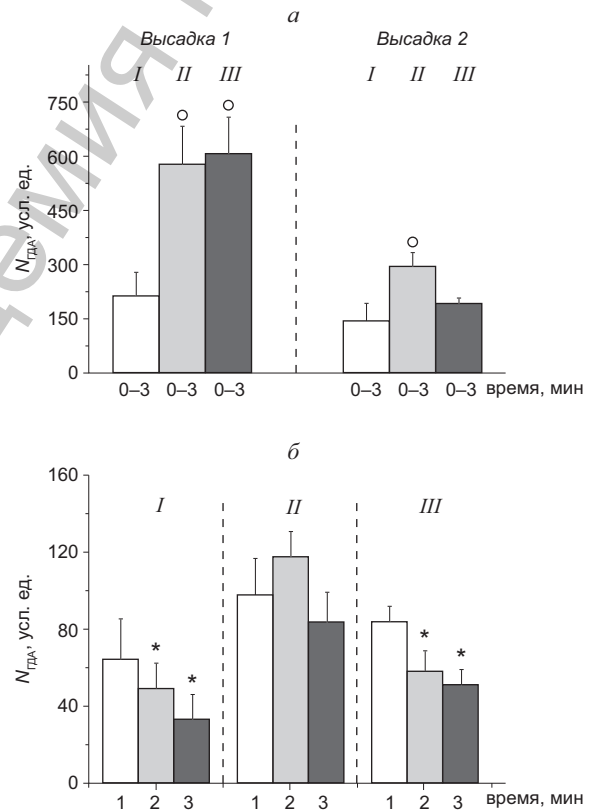


Рис. 2. Влияние «Рациума®» на процессы межсессионного (а) и внутрисессионного (б) угашения горизонтальной двигательной активности (ГДА) у крыс линии Wistar, нарушенные МК-801. I, II и III – группы 1г (растворитель, пассивный контроль), 2г (МК-801, активный контроль) и 3г («Рациум®» + МК-801) соответственно. Различия статистически значимы: ° – по сравнению с группой 1г (1, а), $P > 0,05$, ANOVA; * – по сравнению с первоначальным уровнем (1, б), $P < 0,05$, ANOVA для повторных измерений

числе и дофамина [11]. Участие глутаматергической системы в механизмах регулирования тревожности подтверждается рядом экспериментальных работ, выявивших анксиолитическое действие у антагониста глутамата AP7 [14], а также у конкурентного блокатора глицинового участка глутаматных NMDA-рецепторов L-701324 [11].

Заключение. Полученные данные показывают, что анксиолитические эффекты «Рациума®» обусловлены взаимодействием его активных компонентов с ГАМК_A-рецепторами, а также, возможно, с NMDA-рецепторами (глутаматергическая система). Полностью исключить влияние фитопрепарата на дофамин- и холинергические нейротрансмиттерные системы на текущем этапе исследований невозможно, однако полученные результаты указывают на низкую вероятность развития лекарственных взаимодействий «Рациума®» с лекарственными средствами, обладающими тропностью к дофаминергической и холинергической системам. Снижение на фоне использования «Рациума®» выраженности нейротоксических эффектов МК-801 указывает на перспективность дальнейших исследований его нейропротективных свойств.

Опубликованные в мировой научной литературе данные убедительно подтверждают важную роль норадренергической и особенно серотонинергической нейротрансмиссии в механизмах тревоги. Первая подтверждается клиническими [11] и доклиническими данными (сниженная тревожность у мутантных по гену фермента моноаминоксидазы типа А мышей и возрастание анксиогенеза у мышей, нокаутных по гену α_2 -адренорецепторов) [11]. Значение серотонина в генезе тревожных расстройств убедительно подтверждает эффективность при них ингибиторов моноаминоксидазы и селективных ингибиторов обратного захвата серотонина [15], а также прекурсора серотонина триптофана [11]. В этой связи представляется актуальным дальнейшее изучение механизмов действия лекарственного средства «Рациум®» и в первую очередь в отношении серотонинергической нейротрансмиттерной системы.

Авторы выражают глубокую благодарность заведующему отделом биомоделей С. А. Осмоловскому и сотрудникам лаборатории психонейрофармакологии Государственного учреждения «Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси», оказавших техническую помощь в постановке экспериментов.

Литература

1. Akhondzadeh S. // J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry. 2003. Vol. 74, N 7. P. 863–866.
2. Bent S. // Am. J. Med. 2006. Vol. 119, N 12. P. 1005–1012.
3. Kennedy D. O. // Pharm. Biochem. Behav. 2002. N 72. P. 953–964.
4. Хишова О. М., Щербинин И. Ю., Кравченко Е. В. и др. // Фармация. 2004. № 3. С. 38–39.
5. Кравченко Е. В., Понтелеева И. В., Казюцц О. А. и др. // Фармация. 2011. № 5. С. 41–42.
6. Кравченко Е. В., Машко Е. В., Квасюк А. А. и др. // Вестн. фармации. 2011. Т. 53, № 3. С. 38–45.
7. Воронина Т. А., Молодавкин Г. М., Сергеева С. А., Эпштейн О. И. // Бюл. эксперим. биол. мед. 2003. № 1. С. 37–39.
8. Хабриев Р. У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. М., 2005.
9. Магазаник Л. Г. // Рос. физиол. журн. 2007. № 3. С. 275–282.
10. Yuan C. S. // Anesth. Analg. 2004. Vol. 98, N 2. P. 353–358.
11. Сюняков Т. С., Сюняков С. А., Дорофеева О. А. // Consilium medicum. Психиатрия и психофармакотерапия. 2011. № 6. – Режим доступа: <http://www.consilium-medicum.com/article/21234>. – Дата доступа: 16.06.2012.
12. Finn D. A. // Neurogenet. 2003. Vol. 4, N 3. P. 109–139.
13. Salas R., Pier F., Fung B. // Soc. Neurosci. Abstr. 2002. N 283. P. 6.
14. Molchanov M. L., Guimaraes F. S. // Psychopharmacology. 2002. N 160. P. 30–38.
15. Maron E. // Neuropsychopharmacology. 2006. Vol. 31, N 1. P. 1–11.

E. V. KRAVCHENKO, I. V. PONTELEEVA, L. V. MAKSIMOVA, L. M. OLGOMETS

STUDY OF GABA-, CHOLINERGIC, DOPAMINERGIC AND GLUTAMATERGIC SYSTEMS IN THE MECHANISM OF ACTION OF PHYTOPREPARATION “RACIUM®”

Summary

The involvement of GABA-, cholinergic, dopaminergic and glutamatergic systems in the mechanism of action of phytopreparation “Racium®” has been studied. The anxiolytic influence of “Racium®” is conditioned by the interaction of its active components with GABA-A-receptors. Since this phytopreparation does not possess the ability to affect the dopaminergic and cholinergic neurotransmissions, it can be administered in combination with other drugs that have such effects.

УДК 615.46.47:678.046.76

*В. И. ДУБКОВА¹, М. В. СОЛОВСКИЙ², М. Ю. СМИРНОВА²,
Е. Ф. ПАНАРИН², Н. П. КРУТЬКО¹, О. И. МАЕВСКАЯ¹, Н. А. БЕЛЯСОВА³*

ПОЛИМЕРНО-КОМПОЗИЦИОННЫЕ ЦЕЛЛЮЛОЗНЫЕ И УГЛЕВОЛОКНИСТЫЕ МАТЕРИАЛЫ С АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

¹*Институт общей и неорганической химии НАН Беларуси, Минск,*
²*Институт высокомолекулярных соединений РАН, Санкт-Петербург,*
³*Белорусский государственный технологический университет, Минск*

(Поступила в редакцию 04.07.2012)

Введение. Интенсивное развитие химии биологически активных полимерных материалов обусловлено непрерывно растущим уровнем медицинских технологий и возникающей в связи с этим необходимостью создания изделий и средств на основе синтетических и натуральных полимеров для восстановления и обеспечения нормальной жизнедеятельности организма [1]. К числу наиболее востребованных биологически активных полимеров относятся антибактериальные [2, 3]. Для придания полимерным материалам (как природным, так и синтетическим), антимикробной активности используют методы химического модифицирования полимерной матрицы с последующим присоединением (иммобилизацией) к ней лекарственных веществ или их включением в структуру полимера [4, 5]. Перспективной основой для иммобилизации различных лекарственных веществ (индивидуальных и в комплексе с полимером-носителем) являются волокнистые материалы на основе производных целлюлозы, а также полученные из них углеродные волокна и ткани [6–9].

Макромолекула целлюлозы, построенная из ангидро-глюкозных звеньев, не имеет структурных элементов, которые могли бы обусловить нежелательные химические воздействия на биологические среды, как и продукты ее распада в «мягких» условиях. Целлюлоза доступна в разных физических формах, имеется широкий ассортимент целлюлозных волокон и некоторых ее производных, выпускаемых промышленностью. Отдельные производные целлюлозы прошли тщательную экспериментальную и клиническую апробацию в качестве биосовместимых материалов. Таковым является фосфат целлюлозы, который разработан в Институте общей и неорганической химии НАН Беларуси, разрешен к применению в медицине и использовался в качестве сорбента для стабилизации крови и энтеросорбента [10, 11]. Карбонизованный продукт фосфата целлюлозы (углеродный волокнистый материал) является полифункциональным ионитом, содержащим слабо- и сильнокислотные группы [12]. В соответствии с результатами токсиколого-гигиенических, медико-биологических и морфологических исследований фосфорсодержащие углеволокнистые материалы отнесены к малотоксичным соединениям IV класса опасности. Они не обладают местным раздражающим, кожно-резорбтивным и сенсibiliзирующим действием, проявляют гемостатические, тромборезистентные свойства [13, 14]. Могут использоваться в медицинской практике как самостоятельно, так и в качестве модифицированного углеволокнистого наполнителя полимерных композиционных материалов, предназначенных для имплантации при реконструктивно-восстановительных операциях в хирургии [15–17].

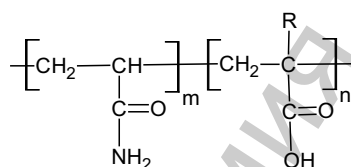
Существенный интерес в части применения фосфорсодержащих волокнистых целлюлозных и углеродных материалов в хирургии представляет разработка на их основе материалов, содержащих химически связанные антимикробные вещества. Такие углеродные и целлюлозные во-

локнистые материалы, а также другие антимикробные волокна, обладающие бактерицидной активностью, могут найти применение в виде шовных материалов для борьбы как с первичными бактериальными инфекциями, так и с госпитальной микробной инфекцией, а также при создании имплантатов.

Обычно антимикробные волокна получают путем сорбции на волокнистые иониты из водных растворов низкомолекулярных антибиотиков, антисептиков, содержащих ионогенные группы. Например, антибиотики основного характера (аминогликозиды стрептомицин, неомицин) сорбируют на привитой волокнообразующий сополимер целлюлозы и полиакриловой кислоты [18]. Для более прочного закрепления антибиотика-аминогликозида в структуре волокнистого материала в настоящей работе предложено проводить сорбцию на волокнистые целлюлозные и углеродные иониты полимерных комплексов аминогликозидов с карбоксилсодержащими сополимерами акриламида (АА).

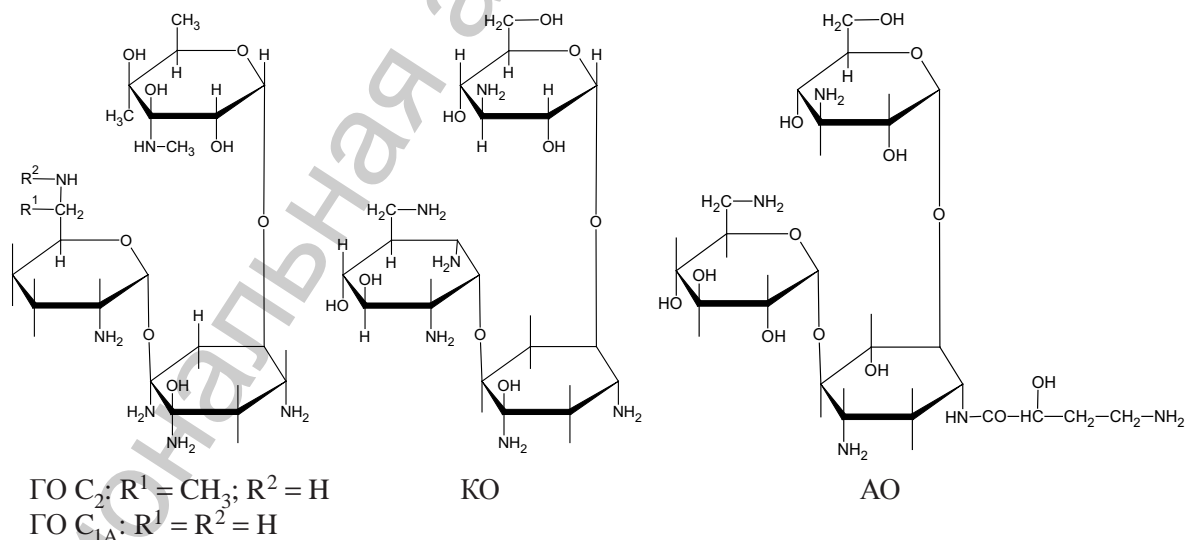
Цель работы – придание фосфорсодержащим волокнистым целлюлозным и углеродным материалам антимикробной активности путем иммобилизации на их поверхности полимерных комплексов антибиотиков-аминогликозидов.

Материалы и методы исследования. В качестве полимеров-носителей в комплексах синтезированы доступные нетоксичные водорастворимые низкомолекулярные сополимеры АА с акриловой (АК) и метакриловой (МАК) кислотами I и II [19]. Соплимеры содержали 18–20 мол. % карбоксильных групп и имели молекулярные массы, определенные вискозиметрическим методом, в диапазоне 25 000–27 000 Да.



I: R = H; II: R = CH₃
m + n = 100 мол. %

В качестве антимикробных веществ использовали широко применяемые в клинике антибиотики гентамицин и амикацин, а также канамицин, антимикробный спектр которого включает и микобактерии туберкулеза. На предварительном этапе работы водные растворы гентамицина сульфата, амикацина сульфата и канамицина сульфата пропускали через колонку с анионитом ЭДЭ-10 П в OH⁻ форме, переводя антибиотики в основания: гентамицин основание (ГО), амикацин основание (АО) и канамицин основание (КО) соответственно.



Комплексообразование ГО, АО, КО с сополимерами АА–АК, АА–МАК проводили в водном растворе, при нейтральном значении рН, при массовом соотношении антибиотик–сополимер,

равном 0,2–0,3/1. Наличие комплексообразования между сополимерами и антибиотиками-аминогликозидами в этих условиях подтверждали методами вискозиметрии, потенциометрического титрования и равновесного диализа. Образующиеся комплексы полностью сохраняли антими-кробный спектр и уровень антимикробной активности немодифицированных антибиотиков и по сравнению с последними характеризовались в 4 раза меньшей токсичностью *in vitro* [20].

Фосфорилирование целлюлозных волокон и тканей осуществляли с использованием водных растворов ортофосфорной кислоты в присутствии мочевины по методике, приведенной в [11]. Углеродные фосфорсодержащие материалы получали путем карбонизации фосфорилированных волокон и тканей, как описано в работе [12]. Статическая обменная емкость используемого фос-фата целлюлозы составляла 1,9 мг-экв/г, фосфорсодержащих углеродных волокон – 2,7 мг-экв/г.

Иммобилизацию полимерных комплексов антибиотиков (ПК) на фосфатцеллюлозную (ФЦ) и фосфорсодержащую углеродную подложки (ФУТ) проводили методом ионообменного замеще-ния путем сорбции ПК из 3%-ных водных растворов. Отрезки ФЦ и ФУТ помещали в бюксы, в которые заливали 3%-ные растворы ПК (модуль ванны составлял 1:10). Бюксы плотно закрыва-ли крышками и выдерживали волокнистые материалы в растворах ПК при комнатной темпера-туре в течение 48–72 ч. Затем их извлекали и сушили под вакуумом при 40 °С в течение 4 ч, а по-том 10 ч при комнатной температуре. Дополнительную термообработку проводили при темпера-туре 95 °С в течение 1,5 ч. Определяли привес ПК на высушенных образцах ФЦ и ФУТ.

Для оценки структуры и свойств полимерно-композиционных волокнистых материалов (ПКВМ) использовали ИК-спектроскопию, совмещенный метод дифференциально-термического анализа (ДТА), термогравиметрии (ТГ) и дифференциальной термогравиметрии (ДТГ). ИК-спектры полимерных комплексов, материала-подложки и полученных после иммобилизации ПКВМ записывали на Фурье-спектрометре MIDAC Corporation (США) с использованием образ-цов, приготовленных по методу запрессовки их с КВг. Термический анализ отдельных компо-нентов и ПКВМ, не подвергавшихся термообработке при 95 °С, проводили на дериватографе OD-102 системы Ф. Паулик, Й. Паулик и Л. Эрдей фирмы MOM (Венгрия) в воздушной среде в интервале температур 25–500 °С при постоянной скорости подъема температуры 5 град/мин в специально изготовленных тиглях разового пользования, выполненных из термостойкого стекла, инертного по отношению к исследуемому материалу. Чувствительность гальванометров ДТГ и ДТА составляла 1/3 и 1/5 соответственно. Эталонном служил прокаленный при 1400 °С по-рошок оксида алюминия.

Антибактериальную активность полимерно-композиционных волокнистых материалов по отношению к санитарно-показательным штаммам бактерий *Escherihia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp. определяли на кафедре биотехнологии и биоэкологии БГТУ методом диффу-зии в агар [21]. Для этого суточные культуры бактерий (100 мкл) вносили в 10 мл расплавленного и остуженного до 47 °С на водяной бане полужидкого питательного агара (0,7%), быстро пере-мешивали и выливали на слой застывшего и подсушенного плотного питательного агара (1,5%). Образцы дисков размещали на поверхности инокулированных сред, на 1 ч оставляли в холо-дильнике для того, чтобы произошла диффузия биоцидов в агар, после чего перемещали в тер-мостат на 30 °С и инкубировали посеы сутки. После инкубирования учитывали диаметр зон ингибирования роста тест-культур. В качестве контроля использовали диски из немодифициро-ванной целлюлозной и углеродной ткани. Проводили три серии экспериментов в одних и тех же условиях.

Результаты и их обсуждение. На рис. 1 представлены ИК-спектры полученных ПКВМ и их индивидуальных составляющих. В ИК-спектре фосфорилированной целлюлозной подложки проявляются слабоинтенсивная интегральная полоса поглощения при 520 см⁻¹ и плечи в обла-сти частот 790 и 1240 см⁻¹, которые по аналогии с низкомолекулярными фосфатами относят к неплоскостным и плоскостным деформационным колебаниям Р–ОН групп соответственно [22]. Появляющееся плечо при 830 см⁻¹, так же как и обнаруживаемый дублет (плечи 1220 и 1240 см⁻¹) связывают с валентными колебаниями групп Р=О [10]. В результате фосфорилирования материала-подложки наблюдаются также перераспределение интенсивностей интегральных по-лос поглощения в области частот 1020 и 1075 см⁻¹, появляются характеристические полосы по-

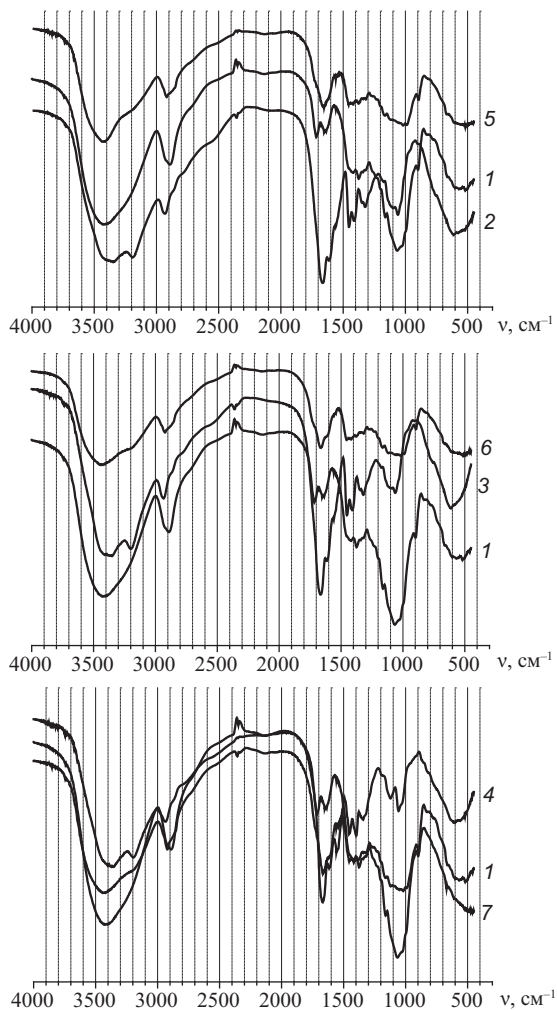


Рис. 1. ИК-спектры волокнистого фосфата целлюлозы (1), полимерных комплексов (АА-АК) + КО (2), (АА-АК) + АО (3), (АА-МАК) + ГО (4) и ПКВМ с (АА-АК) + КО (5), (АА-АК) + АО (6), (АА-МАК) + ГО (7)

тричных колебаний алифатических CH_2 групп при 2934 см^{-1} [22, 25].

При иммобилизации полимерных комплексов на ФЦ подложку ее ИК-спектр претерпевает изменения как в низкочастотной, так и в высокочастотной области. Анализ инфракрасных спектров поглощения всех полученных ПКВМ показывает, что колебательные спектры последних не являются суперпозицией спектров волокнистой подложки и используемых полимерных комплексов. Наблюдается значительное понижение интенсивностей всех характеристических полос поглощения в области $3000\text{--}3500 \text{ см}^{-1}$. Имеет место смещение интегральной полосы поглощения волокнистой подложки при 3434 см^{-1} в сторону повышения частот на $3\text{--}12 \text{ см}^{-1}$. Вместо интегральной полосы поглощения при 3200 см^{-1} появляется широкое плечо в области $3200\text{--}3300 \text{ см}^{-1}$; вторая полоса поглощения при 3355 см^{-1} , характеризующая валентные колебания NH полимерных комплексов, не проявляется. Изменяется характер поглощения продукта иммобилизации в области $2850\text{--}2890 \text{ см}^{-1}$: вместо интегральной полосы поглощения ПК при 2934 см^{-1} и фосфорилированной подложки при 2890 см^{-1} появляется интегральная полоса поглощения с максимумом при 2925 см^{-1} с последующим уширением до 2850 см^{-1} .

В низкочастотной области наблюдается исчезновение полос поглощения полифосфата при 520 , 1650 и 1720 см^{-1} (побочного продукта фосфорилирования), что можно объяснить протекающими процессами дальнейших превращений функциональных групп подложки под активным влиянием полимерного комплекса и возможного его включения в реакции взаимодействия, поскольку известно, что акриламида в водном растворе могут реагировать с аминами и их произ-

глотнения при 1650 см^{-1} (плоские деформационные колебания NH_2) и 1720 см^{-1} (валентные колебания C=O). Наличие двух последних интегральных полос поглощения свидетельствует о присутствии азотсодержащих продуктов взаимодействия целлюлозы с мочевиной, протекающего в условиях термообработки при фосфорилировании, в частности карбамата целлюлозы, что удовлетворительно согласуется с данными, приведенными в работе [11]. Обнаруживаемая в ИК-спектре модифицированной волокнистой подложки интегральная полоса поглощения при 520 см^{-1} указывает на образование эфиров полифосфорной кислоты. Известно, что интегральные полосы поглощения в области частот $450\text{--}550 \text{ см}^{-1}$ относят к деформационным колебаниям O-P-O групп для структурных элементов полифосфатов [23]. В высокочастотной области ИК-спектра фосфата целлюлозы проявляется интегральная полоса поглощения при 2890 см^{-1} (ν_{CH}) и наблюдается интенсивное поглощение в области $3000\text{--}3500 \text{ см}^{-1}$ с максимумом при 3434 см^{-1} , обусловленное валентными колебаниями связанных OH групп [24].

В ИК-спектрах исследуемых полимерных комплексов проявляются основные характеристические колебания, относящиеся к полосам поглощения амидных групп: присутствуют полосы поглощения валентных колебаний C=O и CN групп в области $1660\text{--}1670 \text{ см}^{-1}$ (амид I), валентных колебаний CN и деформационных колебаний NH групп при 1558 см^{-1} (амид II), а также две полосы поглощения валентных колебаний NH при 3200 и 3355 см^{-1} (группа CONH_2) и валентных асимметричных колебаний алифатических CH_2 групп при 2934 см^{-1} [22, 25].

водными. Наряду с этим в ИК-спектрах всех ПКВМ отчетливо проявляется интегральная полоса поглощения при 990 см^{-1} (поглощение фосфат-иона [26]), обнаруживается новая широкая интегральная полоса поглощения в области $1030\text{--}1100\text{ см}^{-1}$ с заметным максимумом при 1080 см^{-1} , которые относят к характеристическим колебаниям алкилзамещенных фосфатов [21, 23]. В совокупности с выявленными и указанными выше значительными изменениями в спектрах ПКВМ в области поглощения валентных колебаний NH при 3200 и 3355 см^{-1} группы CONH_2 это является свидетельством сложного характера химического взаимодействия волокнистой подложки с полимерным комплексом (известно, что водород амидной группы полиамидов также способен замещаться на алкильные и другие радикалы). Таким образом, результаты ИК-спектроскопических исследований говорят о прививке полимерного комплекса к волокнистому материалу подложки.

Взаимодействие поверхностных групп фосфорсодержащих волокнистых подложек с иммобилизованными на их поверхностях полимерными комплексами подтверждается и данными дифференциально-термического анализа (рис. 2). Ход кривых ДТА и ТГ ПКВМ на основе фосфорсодержащих тканей (как целлюлозной, так и углеродной) отличается от таковых для немодифицированных волокнистых подложек во всем диапазоне исследуемых температур. В области температур нагрева $90\text{--}200\text{ °C}$ для ПКВМ на основе фосфата целлюлозы и фосфоруглеродной подложки обнаруживается широкий экзотермический эффект при весьма незначительной потере массы (рис. 2, в, з, кривые 6, 8), не характерный для ПКВМ с немодифицированными подложками (рис. 2, в, з, кривые 5, 7). Наблюдаемое можно объяснить последующими процессами превращений в связанной системе ПКВМ, приводящими к стабилизации комплексного соединения, полученного в результате ионного обмена на твердой подложке. Выявленный экзотермический эффект подтверждает целесообразность проводимого дополнительного прогрева при формировании ПКВМ с антимикробными свойствами.

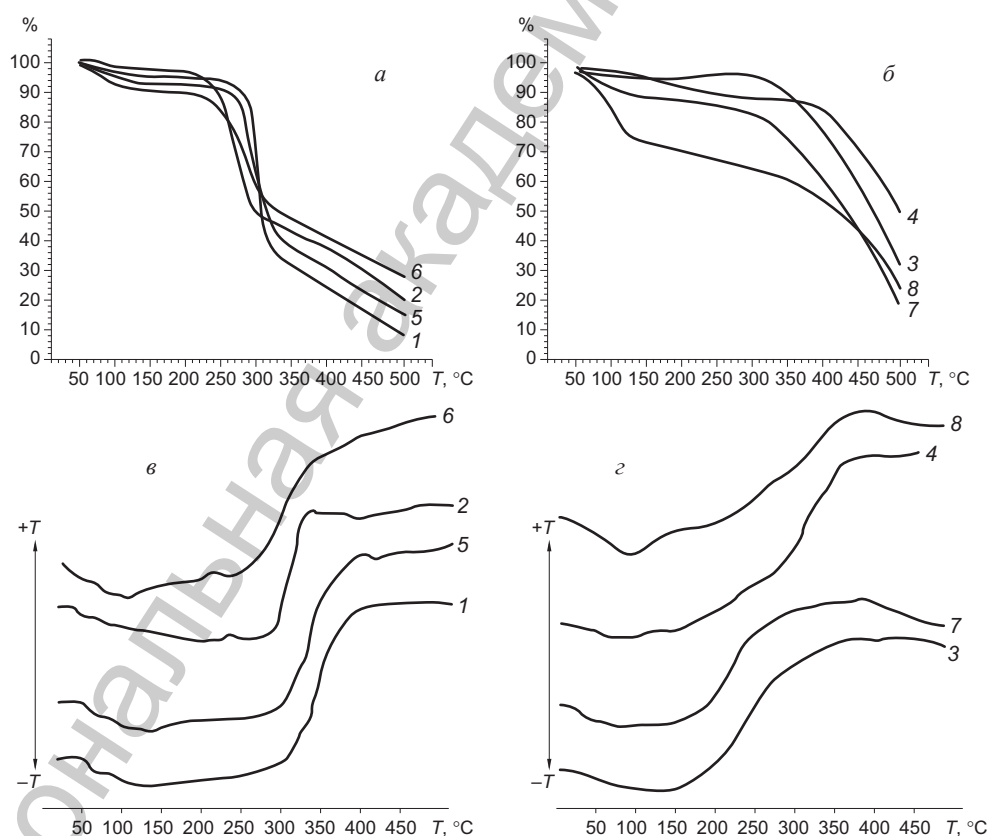


Рис. 2. ТГ (а, б) и ДТА (в, з) – кривые целлюлозной (1), фосфатцеллюлозной (2), углеродной (3), фосфоруглеродной (4) подложек до иммобилизации полимерных комплексов и после (5, 6, 7, 8 соответственно). Полимерный комплекс на основе АА–АК с амикацином (а, в) и АА–МАК с гентамицином (б, з)

Антибактериальная активность полимерных комплексов антибиотиков –аминогликозидов, иммобилизованных на модифицированной волокнистой подложке

Полимерный комплекс (ПК)		Материал-подложка	Время выдержки в растворе ПК, ч	Привес ПК на материале-подложке после сорбции, мас. %	Зона ингибирования роста бактерий вокруг дисков образцов, мм		
Наименование	Содержание антибиотика, мас. %				<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella sp.</i>	<i>Staphylococcus sp.</i>
AA-МАК + ГО	30	ФЦ	72	5,4	3	5	5
		ФУТ	48	4,0	9	13	12
AA-АК + КО	20	ФЦ	72	7,7	3	5	6
		ФУТ	48	4,6	11	14	14
AA-АК +АО	20	ФЦ	72	7,5	3	5	6
		ФУТ	48	4,0	8	15	15

Примечание. AA – акриламид; МАК – метакриловая кислота; ГО – гентамицин основание; АК – акриловая кислота; КО – канамицин основание; АО – амикацин основание.

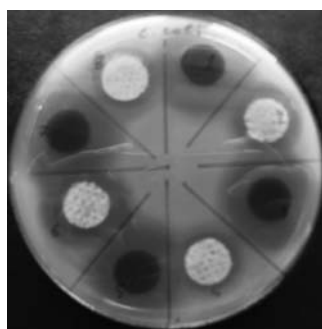


Рис. 3. Зоны задержки роста бактерий *Escherichia coli* вокруг образцов ПКВМ

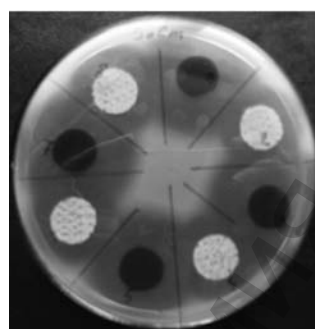


Рис. 4. Зоны задержки роста бактерий *Salmonella sp.* вокруг образцов ПКВМ

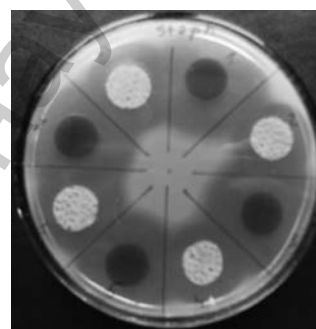


Рис. 5. Зоны задержки роста бактерий *Staphylococcus sp.* вокруг образцов ПКВМ

На образование прочной химической связи полимерного комплекса с фосфорилированными подложками на стадии иммобилизации указывает также измененный характер последующих термодеструктивных процессов ($T > 250\text{ }^{\circ}\text{C}$) и уменьшение скорости реакций разложения получаемых полимерно-композиционных волокнистых материалов, что в итоге приводит к повышению выхода их коксовых остатков (рис. 2, а, б, кривые 6, 8) по сравнению с ПКВМ на основе немодифицированных подложек (рис. 2, а, б, кривые 5, 7).

Изучена антибактериальная активность полимерных комплексов антибиотиков-аминогликозидов, иммобилизованных на поверхностях фосфорсодержащих волокнистых материалов. Результаты диффузионного метода испытаний приведены в таблице. На рис. 3–5 приведены результаты диффузионных тестов с использованием разных бактериальных культур: *Escherichia coli*, *Salmonella sp.*, *Staphylococcus sp.* Полученные данные свидетельствуют о том, что все образцы характеризуются выраженными антибактериальными свойствами, поскольку эффективно задерживают рост бактерий всех трех испытанных штаммов (для контрольных образцов зоны задержки роста бактерий не регистрировались). Наименее чувствительными к образцам ПКВМ являются бактерии *Escherichia coli*. Также следует отметить, что в большей степени антисептический эффект проявляется при иммобилизации полимерных комплексов на фосфорсодержащей углеродной подложке.

Заключение. Разработан способ иммобилизации полимерных комплексов антибиотиков-аминогликозидов на фосфатцеллюлозных и фосфоруглеродных волокнистых подложках.

Показано, что в условиях формирования полимерно-композиционного материала с антимикробными свойствами имеет место прививка полимерных комплексов к модифицированной волокнистой поверхности материала-подложки.

Полученные полимерно-композиционные волокнистые материалы характеризуются выраженными антибактериальными свойствами по отношению к испытанным штаммам бактерий: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp.

Литература

1. Перепёлкин Л. П. // Хим. волокна. 1999. № 6. С. 7–11.
2. Перепёлкин Л. П. // Хим. волокна. 2000. № 6. С. 3–13.
3. Гуцин Н. А., Островидова Г. У., Соснов Е. А. // Журн. прикл. химии. 2008. Т. 81. Вып. 1. С. 132–135.
4. Голубчикова О. А., Горнухина О. В., Вершинина И. А. и др. // Химия и хим. технол. 2007. Т. 50. Вып. 5. С. 65–68.
5. Винидиктов Н. С., Пинчук Л. С., Гольдаде В. А., Новиков В. П. // Докл. НАН Беларуси. 2009. Т. 53, № 5. С. 108–112.
6. Котельников Н. Е., Михайлова С. А., Власова Е. Н. // Журн. прикл. химии. 2007. Т. 80. Вып. 2. С. 323–330.
7. Гофман И. В., Буянов А. Л., Хрипунов А. К. и др. // Материалы. Технологии. Инструменты. 2006. Т. 11, № 1. С. 35–41.
8. Дубкова В. И., Крутько Н. П., Соловский М. В. и др. // Докл. НАН Беларуси. 2007. Т. 51, № 3. С. 71–75.
9. Соловский М. В., Дубкова В. И., Крутько Н. П. и др. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2009. № 4. С. 16–23.
10. Буглов Е. Д., Ермоленко И. Н., Довгалёв С. И. и др. Получение бесцитратной крови с применением фосфата целлюлозы. Минск, 1971. – 300 с.
11. Ермоленко И. Н., Буглов Е. Д., Люблинер И. П., Довгалёв С. И. Новые волокнистые сорбенты медицинского назначения. Минск, 1978.
12. Дубкова В. И., Ермоленко И. Н., Люблинер И. П. и др. // Весці НАН Беларусі. Сер. хім. навук. 1980. № 6. С. 105–110.
13. Бондаренко Л. М., Дубкова В. И., Сысова О. В. и др. // Влияние антропогенных факторов на структурные преобразования органов, тканей, клеток человека и животных: материалы 2-го Всерос. науч.-техн. конф., Саратов, 16–18 сент. 1993 г. Саратов, 1993. Ч. 3. С. 127.
14. Олешкевич Л. А., Бондаренко Л. М., Сысова О. В. и др. // Материалы 9-го съезда работников профилакт. медицины Респ. Беларусь. Минск, 1996. Т. 2. С. 80–82.
15. Дубкова В. И., Глинник А. В. // Разработка импортозамещающих технологий и материалов в химической промышленности: материалы Междунар. науч.-техн. конф., Минск, 20–22 октября 1999 г. Минск, 1999. С. 44–45.
16. Dubkova V. I., Mayevskaya O. I., Chudakov O. P., Glinnik A. V. // Material of the III Symp. Inzynieria Ortopedyczna I Protetyczna, Bialystok, 25–27 czerwca 2001. Bialystok, 2001. S. 29–35.
17. Дубкова В. И., Маевская О. И., Глинник А. В., Чудаков О. П. // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2010. № 1. С. 68–77.
18. Вольф Л. А., Емец Л. В., Костров Ю. А. и др. Волокна с особыми свойствами. М., 1980. – 240 с.
19. Соловский М. В., Гаврилова И. И., Смирнова М. Ю., Шульцева Е. Л. // Химия и хим. технол. 2008. № 1. С. 72–73.
20. Соловский М. В., Еропкин М. Ю., Смирнова М. Ю. и др. // Хим.-фарм. журн. 2010. № 6. С. 28–32.
21. Методы испытания противомикробной активности антисептических препаратов профилактического назначения. Минск, 1996.
22. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. М., 1965.
23. Скорынина И. С., Гусев С. С., Воробьева Н. К., Ермоленко И. Н. // Высокомолек. соед. 1970. Т. 12А, № 11. С. 2452–2456.
24. Казыцына Л. А., Куплетская Н. Б. Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии: учеб. пособие для вузов. М., 1971. – 264 с.
25. Купцов А. Х., Жижин Г. Н. Фурье-спектры комбинационного рассеяния и инфракрасного поглощения полимеров: справочник. М., 2001. – 656 с.
26. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул. М., 1963. – 590 с.

V. I. DUBKOVA, M. V. SOLOVSKIY, M. Yu. SMIRNOVA, E. F. PANARIN, N. P. KRUTKO,
O. I. MAEVSKAJA, N. A. BELJASOVA

POLYMER-COMPOSITE CELLULOSE AND CARBON FIBROUS MATERIALS WITH ANTIMICROBIC PROPERTIES

Summary

New antimicrobial polymer-composite fibrous materials developed on the basis of phosphate cellulose and phosphor-carbon substrates with inoculated to their surfaces of the polymeric complexes of antibiotics- aminoglycosides (gentamycin, amikacin and kanamycin) with nontoxic water-soluble carboxyl containing copolymers of acrylamide possess expressed antibacterial properties in relation to *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp. bacteria.

УДК 615.23.015.4

Н. В. ДУДКО, Н. В. КИРНОЖИЦКАЯ, И. А. МАТЮШОНОК, М. В. МУРЗИНА,
Е. В. НАУМОВЕЦ, А. Н. РУДЕНОК

СТИМУЛЯЦИЯ КЛЕТОЧНОГО ДЫХАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫМ СРЕДСТВОМ «ДИАВИТОЛ» *IN VITRO*

Научно-производственное частное унитарное предприятие «Диалек», Минск, Беларусь

(Поступила в редакцию 04.04.2012)

Введение. Гемодиализат «Диавитол» аналогичен препаратам «Солкосерил» и «Актовегин». «Диавитол» сохраняет все минеральные и органические компоненты крови с молекулярной массой менее 10 000 Да. Гемодиализаты – высокоэффективное средство в лечении различных заболеваний сердца, нарушений мозгового кровообращения, дистрофии сетчатки глаз [1]. Кроме того, они стимулируют процессы клеточной регенерации и с успехом используются для лечения трофических язв, ожогов, открытых ран [2, 3]. По данным литературы [1–4], лечебное действие гемодиализатов обусловлено, главным образом, стимуляцией клеточного дыхания патологически измененных органов и, соответственно, нормализацией их аэробного энергетического метаболизма. Активирование электрон-транспортной цепи митохондрий и процессов окислительного фосфорилирования в целом сопровождается восстановлением внутриклеточного содержания АТФ до уровня, достаточного для удовлетворительного энергоснабжения и протекания таких жизненно важных процессов в организме, как сократительная функция миокарда, процессы биосинтеза, деятельность нервной системы.

До настоящего времени молекулярный механизм действия гемодиализатов во многом остается неясным. Неизвестна химическая природа их действующего начала – единичного соединения либо их комплекса. Кроме того, не решена проблема «молекулярной мишени» – одному или более функциональным комплексам митохондрий непосредственно адресовано стимулирующее действие гемодиализата. Предполагалось, что акцептором активирующего воздействия может служить пируватдегидрогеназа, α -кетуратдегидрогеназа, цитохром *c* оксидаза (ЦО) [1, 3, 4]. Однако стимулирующий эффект «Диавитола», вероятнее всего, распространяется лишь на один из функциональных комплексов митохондрий – ЦО.

ЦО – терминальное звено дыхательной цепи митохондрий и аэробных бактерий [5–7]. Она катализирует заключительную стадию транспорта электронов, перенося их от ферроцитохрома *c* на молекулярный кислород с образованием воды.

ЦО бактерий состоит из трех субъединиц [7], дрожжей – из 9 [8], высших животных – из 13 [6]. У оксидазы дрожжей, растений и животных три наиболее крупные субъединицы аналогичны бактериальному ферменту [6]. Лишь с двумя субъединицами (I и II) связаны все четыре редокс-центра фермента и, соответственно, обе его функции – электрон-транспортная и энергозапасующая [6]. ЦО является «протонной помпой» – одним из трех пунктов трансформации энергии потока электронов дыхательной цепи в электрохимический градиент протонов ($\Delta_{\mu}H^{+}$) на сопрягающей мембране митохондрий, который служит источником энергии для синтеза АТФ [5, 9].

Установлено, что каталитическая активность оксидазы животных и дрожжей может модифицироваться метаболитами окислительного фосфорилирования в широких пределах, однако минимально организованный бактериальный фермент подобных свойств не обнаруживает [10]. Конечный продукт энергетического метаболизма, АТФ – наиболее известный ингибитор ЦО эу-

кариот [11, 12]. АДФ, напротив, способен (в диапазоне физиологических концентраций) стимулировать функциональную активность оксидазы митохондрий [11–14].

Отличительная особенность митохондрий дрожжей рода *Candida* – разветвление дыхательной цепи в конечном участке. Помимо ЦО включается дополнительный потребляющий кислород терминальный ферментный комплекс – альтернативная цианид-нечувствительная оксидаза (АО) [15, 16]. АО характерна также для митохондрий растений [15, 16], грибов [15], простейших [17]. Катализируемый АО перенос электронов от убихинола на кислород не сопровождается утилизацией энергии, представляя собой так называемый «путь свободного окисления» [14, 15]. Физиологическая роль АО у дрожжей и других организмов, ее влияние на основное (цитохромное) звено электрон-транспортной цепи и процессы окислительного фосфорилирования остаются неясными [15, 16].

Цель работы – изучить возможность стимулирующего влияния гемодиализата «Диавитол» на митохондрии млекопитающих (гомогенат печени крысы) и аэробных дрожжей *Candida utilis* (*C. utilis*). Особая организация дыхательной цепи дрожжевых организмов дает возможность посредством избирательного ингибиторного анализа не только существенно ограничить, но и достоверно локализовать зону действия стимулирующего соединения гемодиализата.

Материалы и методы исследования. Лекарственное средство «Диавитол», производимое предприятием «Диалек», представляет собой депротеинизированный гемодиализат сыворотки крови молочных телят.

После декапитации крысы печень извлекали, промывали и охлаждали в 0,5 л 250 мМ раствора сахарозы (0 °С – +1 °С) в течение 10 мин. Далее ткань измельчали на холоду и переносили в стеклянный гомогенизатор (среда гомогенизации: 250 мМ сахарозы, 20 мМ Трис-НСl, 2 мМ ЭДТА, рН 7.4). Соотношение печень/среда (г/мл) – 1:6. Гомогенизацию выполняли тefлоновым пестиком вручную с постоянным охлаждением водой со льдом. Приготовленный гомогенат хранили на льду в холодильнике не более 4 ч. Критерием пригодности препарата являлось постоянство его дыхательной активности во время хранения.

Культура дрожжей *C. utilis*, штамм БИМ Y-35, была получена из коллекции микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси. Дрожжи выращивали в минеральной среде следующего состава: 0,1% K_2HPO_4 , 0,01% K_2HPO_4 , 0,04% $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$, 0,05% NaCl , 0,07% MgSO_4 , 0,3% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1% глюкозы, 0,1% дрожжевого экстракта, вода очищенная (до 150 мл), рН 6.2. Добавляли также раствор микроэлементов (0,1%, v/v), содержащий: 0,1% FeCl , 0,1% ZnSO_4 , 0,1% MnSO_4 , 0,05% CuSO_4 , 0,05% CoSO_4 , 0,05% $(\text{NH}_4)_2\text{MoO}_4$, 0,05% H_2BO_3 , 0,5%-ную концентрацию H_2SO_4 для растворения осадка солей [18]. В асептических условиях в стерильную среду вносили суспензию клеток *C. utilis* (0,1%, 0,015 мл × 150 мл) плотностью $5 \cdot 10^6$ кл/мм³. Дрожжи выращивали при температуре 29 °С в стеклянных колбах объемом 1 л при постоянном освещении и перемешивании на шейкере. После трех суток культивирования отбирали 25 мл дрожжевой суспензии, клетки осаждали путем центрифугирования (3000 об/мин в течение 5 мин) и дважды промывали калий-фосфатным буферным раствором (20 мМ, рН 6.2). Полученный клеточный осадок взвешивали и разбавляли тем же раствором, добавленным в объеме, необходимом для приготовления суспензии плотностью $5 \cdot 10^6$ кл/мм³. Дрожжевые клетки хранили в холодильнике (+ 4 °С), они были пригодны для использования в течение 4 сут. Качество выделенной популяции клеток, ее жизнеспособность оценивали методом дифференциального окрашивания – избирательного окрашивания погибших клеток [19]. После трех суток культивирования их содержание, как правило, не превышало 5%.

Бактериальная культура *Bacillus subtilis*, штамм АТСС 6633, была получена из коллекции микроорганизмов ЧУТУП «Эллагигиена». Бактерии выращивали в течение 24 ч в среде следующего состава: 0,3% K_2HPO_4 , 0,05% NaCl , 0,07% MgSO_4 , 0,05% $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 1% дрожжевого экстракта, 2% сукцината натрия, рН 7.4 [20]. В среду культивирования также добавляли указанную выше смесь микроэлементов (0,1%). Бактериальную популяцию выращивали при температуре 30 °С с постоянным перемешиванием на шейкере. Клетки осаждали путем центрифугирования (3000 об/мин, 10 мин) и дважды промывали калий-фосфатным буферным раствором (20 мМ, рН 7.4). Клеточный осадок взвешивали, затем разбавляли указанным раствором (1:2) и хранили

в холодильнике (+ 4 °С). В качестве окисляемого субстрата к суспензии бактерий добавляли сукцинат натрия (5 мМ).

Скорость дыхания тест-объектов определяли полярографическим методом с помощью кислородного датчика Кларка в ячейке закрытого типа при температуре 25 °С с постоянным перемешиванием и эффективным термостатированием [21]. Конструкция используемой ячейки оптимальна для выполнения серийных измерений. Гомогенат печени крысы вносили в реакционную камеру ячейки (конечный объем – 1,5 мл) в количестве 5%, дрожжевую суспензию – 1%. Калибровку полярографической системы, контроль ее чувствительности выполняли с использованием дитионита натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$). Скорость потребления кислорода в реакционной смеси выражали в мкМ O_2 /мин. Изменения дыхательной активности гомогената либо дрожжей определяли по формуле $\Delta V = [(V_0: V_k) - 1] \cdot 100\%$, где V_k и V_0 – скорости потребления O_2 до и после добавления анализируемых препаратов соответственно. Полярографический измерительный комплекс калиброван Белорусским государственным институтом метрологии (БелГИМ), номер свидетельства о калибровке ВУ 01 № 123–50.

Результаты и их обсуждение. Согласно работам [1–4], гемодиализаты повышают скорость потребления кислорода различными клетками высших животных и человека. Возможность стимуляции клеточного дыхания организмов иной видовой принадлежности (растения, грибы, дрожжи, бактерии) не исследовалась. Нами установлено, что гемодиализат «Диавитол» способен активировать аэробный метаболизм одноклеточных дрожжеподобных грибов (дрожжей) *S. utilis*. Препарат стимулировал дыхание дрожжевых клеток на 30% эффективнее, чем гомогената печени (см. таблицу), хотя и вносился в измерительную ячейку в меньшем количестве – 50 мкл вместо 75 мкл. Указанная доза препарата (50 мкл) отобрана опытным путем. Она достаточна для полного развития активирования дыхания и, не являясь избыточной, сохраняет возможность дискриминации различных серий препарата «Диавитол» по его качеству.

Стимулирующее влияние гемодиализата не только на гомогенат печени крысы, но и на клетки *S. utilis* свидетельствует о сходстве, а возможно, и об идентичности базовых путей и механизмов регуляции биоэнергетических процессов у митохондрий различного происхождения [22]. В отличие от гомогената, митохондрии интактных клеток *S. utilis* изолированы от среды инкубации барьером проницаемости плазматической мембраны. Быстрое (не более 2 мин) развитие эффекта ускорения дыхания (рис. 1) свидетельствует о трансмембранном переносе действующего соединения «Диавитола» – либо путем диффузии в липидной фазе мембраны, либо при участии систем активного мембранного транспорта.

Концентрация препарата «Диавитол» (сухое вещество) в реакционной камере полярографической ячейки весьма незначительна – 55 мкг/мл, или 0,0055%. Тем не менее сохранялась вероятность субстратного стимулирования потребления кислорода дрожжевыми клетками в результате утилизации окисляемых продуктов из состава гемодиализата. Однако прибавление быстро окисляемого субстрата в оптимальной концентрации (0,1%, 11 мМ) лишь незначительно (на 7,5%)

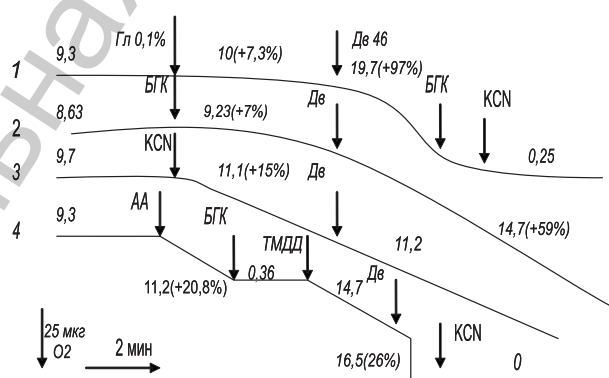


Рис. 1. Влияние препарата «Диавитол» и ингибиторов дыхательной цепи митохондрий на скорость потребления кислорода клетками *S. utilis*. Гл – глицерин, 0,1%; Дв – «Диавитол»; БГК – бензгидроксамовая кислота, 5 мМ; KCN – 1 мМ; AA – антимицин А, 2 мкг/мл; ТМФД – N, N, N'N' – тетраметил-фенилендиамин, 0,25 мМ. Цифры над кривыми – скорость потребления кислорода (мкМ O_2 /мин) и ее изменение (%)

повышало скорость дыхания клеток (рис. 1, кривая 1). Амплитуды активирующего эффекта «Диавитола» как в присутствии глицерина (0,1%), так и в его отсутствие практически совпадали. Очевидно, что у клеток *C. utilis* стационарной фазы развития пул эндогенных энергетических субстратов не истощен. Наиболее вероятно, что действующее соединение «Диавитола», не метаболизируясь, связывается особым рецептором, принадлежащим одному из олигомерных комплексов электрон-транспортной цепи митохондрий.

Несмотря на более чем 50-летний опыт клинического применения, лабораторных исследований гемодиализатов, молекулярный механизм их действия остается неясным [1]. Из числа их вероятных действующих компонентов чаще других упоминаются инозитол-1,4,5-трифосфат либо инозитол-фосфо-олигосахариды [1, 4]. Преобладает мнение, что «молекулярной мишенью», акцептором стимулирующего воздействия гемодиализатов может быть ЦО [1, 4].

Как отмечалось выше, дыхательная цепь зрелых клеток *C. utilis* дублируется в терминальном ее сегменте. Избирательное ингибирование каждой из оксидаз (АО либо ЦО) позволяет прежде всего определить, на каком из сегментов электрон-транспортной цепи – начальном или конечном – реализуется стимулирующее действие «Диавитола».

Как видно из рис. 1, потребление кислорода дрожжевыми клетками блокируется лишь в присутствии ингибиторов обеих терминальных оксидаз, цианида (ЦО) и бензгидроксановой кислоты (БГК) (АО). У клеток с заблокированной АО (рис. 1, кривая 2) стимулирующий эффект «Диавитола» сохраняется, хотя и явно снижен (рис. 1).

В случае ингибирования ЦО клеток *C. utilis* (KCN, 1 мМ) скорость потребления кислорода отчетливо возрастает, что, несомненно, является компенсаторной реакцией на отключение двух (из трех) пунктов энергетического сопряжения (протонных помп) в редокс-цепи митохондрий. Как видно из рис. 1 (кривая 3) в присутствии цианида стимулирующего действия «Диавитола» на дыхание клеток не наблюдается.

Представленные на рис. 1 результаты свидетельствуют, что гемодиализат оказывает влияние на активность центров основной редокс-цепи ниже пункта ее коммутации с АО, т. е. после CoQ – на уровне терминального цитохромного звена, пары комплексов, bc_1 и aa_3 (ЦО). У многих организмов убихинол-цитохром-*c*-оксидоредуктаза (bc_1) – не единственный источник электронов для цитохромов c , aa_3 . Возможны и другие, резервные пути восстановления ЦО – лактатдегидрогеназа и др. [22]. Как видно из рис. 1 (кривая 4), антимицин А (АА), строго специфичный ингибитор комплекса bc_1 , подобно цианиду, существенно повышает скорость потребления O_2 дрожжевыми клетками, наиболее вероятно – по сходному механизму. Совместное действие антимицина А и БГК сопровождается выраженным, близким к полному, угнетением дыхательной активности клеток *C. utilis* (рис. 1, кривая 4). Эти данные свидетельствуют о том, что у культивируемого нами штамма *C. utilis* пути переноса восстановительных эквивалентов, шунтирующие bc_1 -комплекс, не развиты либо редуцированы в присутствии БГК. Нами был использован экзогенный редокс-медиатор N, N, N', N' – тетраметил-фенилен-*p*-диамин (ТМФД), способный акцептировать электроны ряда внутриклеточных восстановителей (НАД· H_2 , убихинол, аскорбат) и избирательно переносить их на цитохром c – субстрат ЦО. Как видно из рис. 1 (кривая 4), дыхание клеток *C. utilis*, заингибированное АА и БГК, резко активируется после прибавления ТМФД. Высокая скорость потребления кислорода в этих условиях обусловлена, скорее всего, глубокой деэнергизацией митохондрий – падением мембранного потенциала и содержания АТФ.

На основании полученных данных (рис. 1) видно, что стимулирующее влияние «Диавитола» не проявляется лишь в том случае, когда заингибирована ЦО. Таким образом, можно полагать, что у митохондрий ЦО – единственный акцептор действующего начала гемодиализата.

Как следует из приведенных в таблице данных, дыхательная активность и восприимчивость к гемодиализату клеток *C. utilis* существенно выше, чем гомогената печени. Очевидно, что указанные различия обусловлены не столько видовыми особенностями митохондрий, сколько их микроокружением. Изолированные митохондрии печени крысы способны потреблять кислород с высокой скоростью (состояние 3 по Чансу) [22], однако при условии, что среда инкубации содержит не только окисляемый субстрат, но и субстраты фосфорилирования – АДФ и фосфат неорганический. В отсутствие последних коэффициент АТФ/АДФ (уровень АТФ в матриксе), так

Влияние препарата «Диавитол» на скорость потребления кислорода гомогенатом печени крысы и клетками дрожжей *Candida utilis*

Объект	Скорость дыхания								
	Контроль			Опыт			Разница, %		
	№ опыта	V_k	V_{cp}	№ опыта	V_0	V_{cp}	№ опыта	ΔV	ΔV_{cp}
Гомогенат печени	1	11,6	$12,7 \pm 0,7$	1	19,1	$20,6 \pm 1,0$	1	65	$63,0 \pm 2,6$
	2	13,0		2	21,45		2	65	
	3	13,5		3	21,46		3	59	
Дрожжевые клетки	1	7,8	$7,7 \pm 0,1$	1	13,9	$13,9 \pm 0,2$	1	79	$81,0 \pm 1,6$
	2	7,6		2	13,7		2	80	
	3	7,7		3	14,0		3	83	

же как и в среде инкубации гомогената, предельно возрастает и митохондрии переходят в так называемое состояние «дыхательного контроля» – состояние 4 по Чансу [22]. Цитозольное окружение митохондрий клеток-эукариот, в том числе и *C. utilis*, постоянно содержит резерв субстратов фосфорилирования и сохраняет баланс АТФ/АДФ в пределах физиологической нормы [16].

Показано, что активность ЦО митохондрий координируется конечным продуктом окислительного фосфорилирования – АТФ [10–13]. АТФ – аллостерический ингибитор ЦО различных клеток-эукариотов, регулирующий скорость дыхания митохондрий и величину их мембранного потенциала [12]. Однако оксидаза прокариотов, также aa_3 -типа, к действию АТФ не чувствительна [10]. Возрастание коэффициента АТФ/АДФ (содержания АТФ) в среде и матриксе митохондрий сопровождается падением активности оксидазы не менее чем в 5 раз вследствие снижения ее сродства к субстратам, цитохрому *c* и O_2 [13]. Как оказалось, в тканях здоровых животных при физиологическом соотношении АТФ/ФДФ АТФ отчетливо лимитирует функции ЦО. По этой причине протонный потенциал на внутренней мембране митохондрий ($\Delta_p H^+$) составляет 120–140 мВ, тогда как у изолированных митохондрий он значительно выше – 180–220 мВ [12].

Плазматические мембраны дрожжей непроницаемы для пуриновых нуклеотидов. Прибавление АТФ либо АДФ в концентрации 5,0–7,5 мМ к суспензиям клеток *C. utilis* не влияло на скорость потребления кислорода. Таким образом, очевидно, что химический компонент «Диавитола», стимулирующий клеточное дыхание, не может быть АДФ, поскольку легко проникает в дрожжевые клетки.

Доступным способом повышения соотношения АТФ/АДФ в цитозоле клеток *C. utilis* является прибавление быстро окисляемого энергетического субстрата. Как видно из рис. 2, повышение концентрации глицерина в среде, т. е. АТФ в цитозоле клеток, существенно редуцирует стимулирующее влияние «Диавитола». В тех же случаях, когда доза «Диавитола» была снижена в 2 раза, активирование дыхания нивелировалось АТФ практически до исходного (контрольного) уровня (рис. 2, кривая 3).

Как показано на рис. 1 (кривая 3), блокирование ЦО дрожжевых клеток цианидом сопровождается компенсаторным возрастанием скорости потребления кислорода с участием АО для со-

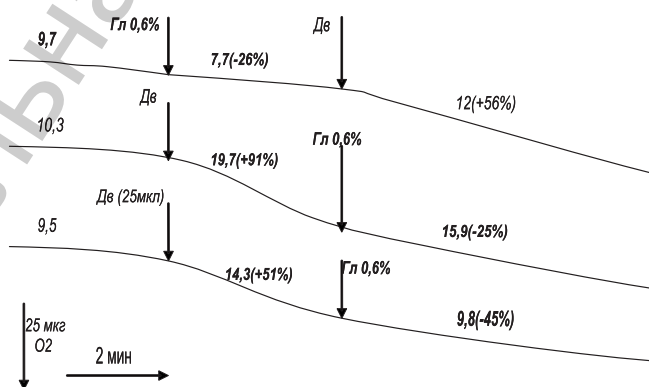


Рис. 2. Дыхательная активность дрожжей *C. utilis* и ее модификация гемодиализатом «Диавитол» при повышенном содержании окисляемого субстрата, глицерина. Обозначения те же, что и на рис. 1

хранения энергетического статуса митохондрий [16]. В отличие от этого, повышение внутриклеточного уровня АТФ приводит к общему, весьма значительному, снижению дыхательной активности (рис. 2, кривая 1). Как отмечалось, цианид – конкурентный (в отношении O_2) ингибитор ЦО. Он связывается бинуклеарным реакционным центром (aa_3-Cu_B) фермента. АТФ – не прямой, аллостерический ингибитор. При захвате поверхностными субъединицами он индуцирует конформационные перестройки в полипептидном комплексе оксидазы [11]. Очевидно, однако, что указанное несоответствие едва ли можно объяснить различиями в механизме ингибирования. Полученный результат (рис. 2) возможен лишь при условии подавления обеих терминальных оксидаз редокс-цепи дрожжевых митохондрий – не только ЦО, но и АО. Установлено [17], что у цианид-резистентных организмов, в том числе и рода *Candida*, АТФ ингибирует АО столь же эффективно, как и ЦО.

Таким образом, очевидно, что гемодиализат и АТФ – конкурентные эффекторы, разнонаправленно модифицирующие каталитическую активность единственной ферментной системы митохондрий, терминальную оксидазу электрон-транспортной цепи, т. е. ЦО (рис. 2).

Нами изучено влияние гемодиализата на скорость потребления кислорода аэробными бактериями *Bacillus subtilis*. Терминальная оксидаза их дыхательной цепи также представлена ЦО aa_3 -типа, которая состоит, как и у других прокариотов, из трех субъединиц [20]. Подобно АТФ [10], «Диавитол» не оказывал влияния на дыхательную активность бактериальной ЦО.

Наличие у ЦО дрожжей рецепторов для захвата соединения-стимулятора предполагает его продуцирование популяцией *S. utilis*. Супернатант, полученный после прогревания суспензии клеток *S. utilis* низкой плотности ($5 \cdot 10^4$ кл/мм³, 50 °С, 5 мин), подобно «Диавитолу», более чем на 50% ускорял дыхание дрожжевых клеток. В этом случае стимуляция практически полностью обращалась после добавления глицерина в концентрации 0,6%.

Полученный нами из пищевого сырья растительного происхождения препарат повышает скорость дыхания дрожжевых клеток значительно активнее, чем «Диавитол».

Как показано на рис. 2, в условиях избытка энергетического субстрата и, следовательно, возрастания внутриклеточного уровня АТФ «Диавитол» в значительной мере сохраняет способность ускорять потребление кислорода дрожжевыми клетками. Данный результат указывает на биологическую функцию действующего агента гемодиализата. Источник получения препарата – сыворотка крови молочных телят, т. е. молодых организмов на стадии их активного роста. Для энергообеспечения совокупности реакций биосинтеза, активного мембранного транспорта и других процессов потребность в АТФ в этот период наиболее высока. Очевидно, что возрастание коэффициента АТФ/АДФ – повышение концентрации АТФ в цитозоле активно растущих и размножающихся клеток способно компенсировать их высокие энергозатраты.

Лечебные свойства гемодиализатов принято объяснять стимуляцией клеточного дыхания, а также устранением гипоксии [1–4]. Однако формально указанные эффекты трудно совместимы. Митохондрии органов здоровых млекопитающих (миокард, печень) функционируют в близких к гипоксии условиях – концентрация O_2 в микроокружении не превышает 1% от ее стандартного значения для водных сред [23]. Несомненно, что ускорение потребления кислорода в условиях гипоксии при его критически низких концентрациях (близких к величине константы Михаэлиса ЦО для O_2) может оказаться губительным для клеток. Возможно, приведенная интерпретация – результат обобщения существенно различающихся данных, полученных в результате клинических наблюдений и биохимических экспериментов.

Механизм действия ингибитора ЦО (АТФ) заключается в многократном снижении сродства фермента к его субстратам – цитохрому *c* и O_2 [11]. Предполагается, что гемодиализаты повышают сродство ЦО к кислороду, т. е. уменьшают значение константы Михаэлиса [4]. Наиболее вероятно, что индуцированное гемодиализатом возрастание сродства ЦО к кислороду в условиях сниженного, но постоянного его притока при гипоксии эквивалентно нормализации оксигенации ишемических тканей. Реактивирование в результате этого ЦО и электрон-транспортной цепи митохондрий в целом способно восстановить процессы окислительного фосфорилирования, а следовательно, энергообеспечение и нормализацию функций ишемических органов и тканей.

По основному критерию качества гемодиализатов – эффективности стимуляции клеточного дыхания – «Диавитол» не уступает импортным препаратам «Солкосерил» и «Актовегин» и способен успешно их замещать.

Заключение. Полученные результаты несомненно имеют практическое значение. Использование дрожжевых клеток в качестве тест-объекта вместо гомогената печени крысы многократно снижает материальные и трудовые затраты, необходимые для проведения контрольных измерений. Клетки *C. utilis* отличаются высокой дыхательной активностью и чувствительностью к действию гемодиализата, их физиологические характеристики могут контролироваться и направленно модифицироваться в процессе культивирования.

Литература

1. Buchmayer F., Hlemer J., Elinger M. W. et al. // Wien Med. Wochenschr. 2011. Vol. 161, N 3–4. P. 80–88.
2. Павлов О. О. // Клин. хирургия. 2008. № 9. С. 57–59.
3. Магакян И. С., Каралян З. К., Каралова Е. М. // Цитология. 2010. Т. 52, № 2. С. 126–130.
4. Shimizu T. // Jap. J. Pharmacol. 1990. Vol. 53. P. 499–501.
5. Ferguson-Miller S., Hiser C., Liu J. // Biochim. Biophys. Acta. 2012. Vol. 1817, N 4. P. 489–494.
6. Tsukihara T., Aoyama H., Yamashita E. et al. // Science. 1996. Vol. 272. P. 1136–1144.
7. Iwata S., Ostermeier C., Ludwig B., Michel M. // Nature. 1995. Vol. 376. P. 660–669.
8. Poyton R. O., Goering B., Drost M. et al. // Meth. Enzymol. 1995. Vol. 260. P. 97–111.
9. Belevich I., Verkhovsry M., Wikstrom M. // Nature. 2006. Vol. 440. P. 829–832.
10. Follmann K., Arnold S., Ferguson-Miller S., Kadenbach B. // Biochim. Biophys. Acta. 1998. Vol. 45, N 5. P. 1047–1055.
11. Arnold S., Kadenbach B. // Eur. J. Biochem. 1997. Vol. 49. P. 1350–1354.
12. Ramzan R., Staniek K. K., Kadenbach B., Vogt S. // Biochim. Biophys. Acta. 2010. Vol. 1797, N 9. P. 1672–1680.
13. Napiwotzki J., Kadenbach B. // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 379, N 3. P. 335–339.
14. Beauvoit B., Bunoust O., Querrin B., Riquet A. // Eur. J. Biochem. 1999. Vol. 263, N 1. P. 118–127.
15. Veiga A., Arrabaca J. D., Loureiro-Dias M. C. // FEMS Yeast Res. 2003. Vol. 3, N 3. P. 239–245.
16. Акименко В. К., Меденцев Ф. Т. // Биохимия. 1999. Т. 64, № 11. С. 1230–1243.
17. Woyda-Plaszczysa A. M., Sluse F. E., Jarmszkiewicz W. // Biochim. Biophys. Acta. 2009. Vol. 787, N 4. P. 264–271.
18. Votruba J., Vrana D. // Folia Microbiol. 1995. Vol. 40, N 1. P. 104–110.
19. Разуваев В. С., Руденок А. Н. // Виноделие и виноградарство СССР. 1982. Т. 369. С. 261–262.
20. Hinning W., Vo L., Albonese J., Hill B. C. // Biochem. J. 1995. Vol. 309. P. 279–283.
21. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом. М., 1973. С. 43–50, 81–85.
22. Скулачев В. П. Энергетика биологических мембран. М., 1989.
23. Gnaiger E., Kuznetsov A. V. // Biochem. Soc. Trans. 2002. Vol. 30, N 2. P. 252–258.

N. V. DUDKO, N. V. KIRNOŽITSKAJA, I. A. MATIUSHONOK, M. V. MURZINA, E. V. NAUMAVETS, A. N. RUDENOK

STIMULANION OF CELL RESPIRATION BY THE DRUG “DIAVITOL” IN VITRO

Summary

The drug “Diavitol” is able to increase an oxygen consumption rate both by the rat liver homogenate and by the yeast *Candida utilis* as well. It has been shown that the acceleration of the cell respiration is conditioned by stimulation of the terminal link of the mitochondria electron-transport chain, that is cytochrome *c* oxidase.

АГЛЯДЫ

УДК 612.8.015

Г. К. ТРОПНИКОВА¹, С. Я. КИЛИН²

СТРУКТУРА И ФУНКЦИИ ДОРСАЛЬНОГО ЯДРА ШВА СТВОЛА ГОЛОВНОГО МОЗГА

¹Институт физиологии НАН Беларуси, Минск,

²Институт физики им. Б. И. Степанова НАН Беларуси, Минск

(Поступила в редакцию 12.03.2012)

Одним из наиболее распространенных недугов в современном мире является депрессия. Около 20% населения развитых стран страдает этим заболеванием. Рост депрессий связывают с высоким темпом жизни, повышенным уровнем ее стрессогенности, социальной нестабильностью. Поэтому так актуальна проблема точной диагностики, профилактики и рациональной терапии данного заболевания. Часто депрессия возникает и как сопутствующее заболевание таких социально значимых нейродегенеративных болезней, как болезнь Паркинсона (БП), болезнь Альцгеймера и др. Общеизвестно, что в развитии этих заболеваний немаловажную роль играют нарушения в функционировании серотонинергической системы мозга.

Основным источником серотонина (5-НТ) в мозге являются 5-НТ-нейроны, расположенные в ядрах шва ствола головного мозга вдоль средней линии и вблизи от нее. Тело 5-НТ-нейрона варьируется по размерам, составляя от 15 до 60 мкм в диаметре. 5-НТ-нейроны разряжаются регулярными, медленными и редкими ритмическими разрядами [6]. Другой особенностью 5-НТ-нейронов являются длинные аксоны с варикозными расширениями, которые пронизывают мозг и иннервируют почти все его отделы. Одни 5-НТ-ергические нейроны формируют синапсы, в то время как другие вступают в несинаптические взаимодействия (объемная передача сигнала). Дендриты 5-НТ-ергических нейронов получают информацию из 5-НТ- и не-5-НТ-ергических аксонов и дендритов, выделяющих разнообразные химические нейротрансмиттеры и нейропептиды. 5-НТ-нейроны, имея широкие эфферентные и афферентные связи, помогают динамически интегрировать и стабилизировать структуру и функцию ЦНС.

С помощью современных методов исследования было установлено, что ядра шва не являются гомогенными по своей природе. Важным является и то, что неоднородные нейроны ядер шва имеют дифференцированные проекции к различным областям мозга и, следовательно, могут селективно влиять на клетки-мишени. Исследования показали выраженную гетерогенность и функциональную топографическую организацию 5-НТ- и не-5-НТ-ергических нейронов в ядрах шва. Триптофан гидроксилаза-2 (*TPH2*) является генетической изоформой триптофангидроксилазы, которая катализирует лимитирующую ступень биосинтеза 5-НТ в ЦНС. Поэтому, маркируя нейроны по этой метке, можно точно установить, являются ли нейроны 5-НТ-ергическими. Как и ожидалось, ядра шва показали наибольшую активность *TPH2* и экспрессию белка в мозге [12].

Больше всего 5-НТ-нейронов находится в дорсальном ядре шва (ДЯШ = В7) – 165 000 5-НТ-ергических нейронов, в то время как в медиальном ядре шва (МЯШ = В8) их содержится 64 000, а в каудальных ядрах шва продолговатого мозга (группы В1–В3) их еще меньше – от 10 000 до 30 000.

Доля 5-НТ-ергических клеток в ДЯШ составляет лишь 30%. Наряду с 5-НТ-нейронами в нем обнаружены нейроны, содержащие гамма-аминомасляную кислоту (ГАМК), а также клетки, содержащие глутамат. Интересно отметить, что ГАМК-ергические клетки располагаются отдельными группами, а глутамат может быть солокализирован с 5-НТ в одних и тех же терминалях. Эти данные были получены при изучении распределения экспрессии транспортера везикулярного глутамата (*VGLUT3*) в не-5-НТ-ергических нейронах ДЯШ с применением двойной метки на *VGLUT3* и *TPH2*. Было показано, что в роstralной, вентральной и каудальной частях ДЯШ в 80% случаев сигналы на *VGLUT3* и *TPH2* солокализированы. В латеральной области и дорсальной части ДЯШ располагались преимущественно *TPH2*-продуцирующие

нейроны, 94% из которых показали отрицательную реакцию на *VGLUT3 mRNA*. Вместе с тем нейроны, расположенные в оболочке (скорлупе) дорсальной части ДЯШ, демонстрировали иммунореактивность на *VGLUT3* и 75% из них показали отрицательную реакцию на *TPH2* [29].

Хотя не-5-НТ-ергические нейроны по морфологии не четко отличались от 5-НТ-ергических, были обнаружены значительные различия в их распределении. ГАМК-ергические нейроны обычно локализовались в поле, лишенном 5-НТ-нейронов. Глутаматные нейроны были размещены и солокализованы с 5-НТ-нейронами в каудолатеральном отделе ДЯШ в основании Сильвиева водопровода. Оказалось, что аксоны, содержащие *VGLUT3* и иммунную метку на 5-НТ, иннервировали эпендиму. Другие не-5-НТ-ергические, содержащие *VGLUT3* клетки в ДЯШ имели метку на рецептор вещества «Р» – NK1 [15]. 5-НТ-клетки располагаются преимущественно вдоль средней линии роstralного, дорсального и вентрального субрегионов ДЯШ и среди множества не-5-НТ-ергических клеток. ГАМК- и глутаматергические нейроны кластеризуются преимущественно в латеральном и дорсальном подразделениях ядра соответственно.

Наряду с ГАМК- и глутамат-ергическими нейронами в ДЯШ были обнаружены холецистокинин-подобные иммунореактивные клетки, которые располагались роstralнее и каудальнее 5-НТ-перикарионов, но восходящие к передним отделам мозга аксоны принадлежали только 5-НТ-нейронам. Таким образом, содержащие холецистокинин и 5-НТ клетки составляют отдельные популяции нейронов в ДЯШ [74, 75].

Среди не-5-НТ-ергических нейронов в ДЯШ особое внимание привлекает группа нейронов, продуцирующих оксид азота (NO) [76]. Было показано существование в ДЯШ двух отдельных функционально различных популяций продуцирующих NO нейронов, по-разному отвечающих на стрессорные воздействия [57]. Наряду с ними многие 5-НТ-ергические, проецирующиеся в кору головного мозга нейроны показали высокий (80%) процент соэкспрессии с нейрональной *NO-синтазой* (*n-NOS*) [10]. Напротив, в нисходящих в спинной мозг проекциях ядер шва *n-NOS*-иммунореактивность не выявлена [47].

Таким образом, в более ранних исследованиях предполагалось, что 5-НТ-ергические нейроны представляют гомогенную популяцию [23]. Новейшие исследования свидетельствуют в пользу модели ядер шва как области, состоящей из различных популяций 5-НТ- и не-5-НТ-ергических нейронов, частично разделенных на субрегионы. Основываясь на клеточной морфологии, экспрессии других нейротрансмиттеров, афферентных и эфферентных связях и функциональных свойствах, 5-НТ-нейроны ДЯШ сгруппированы в 6 кластеров: роstralный, вентральный, дорсальный, латеральный, каудальный и интерфейскулярный. Кроме 5-НТ-клеток в ДЯШ имеются нейроны, содержащие ГАМК, глутамат, допамин (ДА), NO и нейропептиды: кортикотропин-релизинг-гормон, вещество «Р», галанин, холецистокинин, нейротензин, соматостатин, вазоактивный интестинальный пептид (*VIP*), нейропептид Y, тиреотропный гормон (*TRH*), гормон роста, лейэнкефалин и гастрин.

Распределение 5-НТ-ергических рецепторов в ядрах шва также дифференцировано. 5-НТ(1A)-рецепторы локализуются на соме и дендритах 5-НТ-нейронов и на постсинаптических местах вне ДЯШ. 5-НТ(1B)-рецепторы локализуются на пресинаптической и постсинаптической мембране (за границами ДЯШ). Эти рецепторы описаны также в вентромедиальной части ДЯШ, где они экспрессированы на не-5-НТ-ергических клетках. 5-НТ(2A)- и 5-НТ(2C)-рецепторы локализуются на постсинаптических структурах. На уровне ДЯШ-содержащими 5-НТ(2A)-, 5-НТ(2C)- и 5-НТ(7)-рецепторы клетками являются ГАМК-ергические интернейроны и проекционные нейроны. 5-НТ(3)-рецепторы в пределах ДЯШ экспрессированы в основном на глутаматергических интернейронах [54].

Топография проекций ДЯШ. Восходящие проекции ДЯШ исследовали антероградно с помощью анатомической метки *Phaseolus vulgaris leucoagglutinin*. Показано, что большинство меченых волокон из ДЯШ поднимаются в медиальном пучке переднего мозга. Плотность иннервации разных областей мозга различна. Так, интенсивную иннервацию из ДЯШ получают вентральные области центрального серого вещества (ЦСВ) среднего мозга, вентральная тегментальная область (*VTA*), компактная зона черной субстанции (ЧС, к. з.), ядра средней линии и интраламнарные ядра таламуса, а также центральное, латеральное и базолатеральное ядра миндалины. Интенсивные проекции из ДЯШ отмечены в постеромедиальной области стриатума, *bed nucleus of the stria terminalis*, латеральном септальном ядре, латеральной преоптической области, *substantia innominata*, магноцеллюлярном преоптическом ядре, эндопирiformном ядре и вентральном бледном шаре.

Среднюю плотность проекций из ДЯШ получают такие субкортикальные области, как медиальное ядро шва (МЯШ), ретикулярная формация среднего мозга, *cuneiform/pedunculopontine tegmental area*, ретрохуральное ядро, диэнцефалон (супрамаммилярное ядро, латеральный гипоталамус, парацентральное и центральное латеральное ядра таламуса), бледный шар, медиальная преоптическая область, вертикальные и горизонтальные столбы ядер диагональной полоски, клаустрем, *nucleus accumbens*. Обонятельные бугорки, пирiformная, инсулярная, фронторбитальная, передняя цингулярная и инфраламбирская кора, так же как и гиппокампальная формация, получают плотные проекции из ДЯШ. Значительные раз-

личия наблюдались в проекциях из каудальной и роstralной частей ДЯШ. Например, более плотные проекции из каудальной части ДЯШ идут к гиппокампальной формации, а из роstralной части ДЯШ – к областям новой коры [66, 78].

Данные этих исследований были подтверждены в работе по функциональному картированию 5-НТ-ергических путей ДЯШ и МЯШ к переднему мозгу с использованием метода микродиализа. Измеряли экстраклеточное выделение 5-НТ в мозге в ответ на электрическую стимуляцию (5 Гц, 300 микроА, 20 мин) ядер. Стимуляция ДЯШ вызывала кратковременное, но отчетливое увеличение 5-НТ в тех областях мозга (фронтальная кора, дорзальный стриатум, бледный шар и вентральный гиппокамп), которые получают 5-НТ-проекции из ДЯШ. В ответ на стимуляцию МЯШ увеличение выделения 5-НТ наблюдалось в областях мозга, которые получают иннервацию из МЯШ (дорзальный гиппокамп, медиальный септум). Области, которые преимущественно получают проекции из ДЯШ (фронтальная кора, дорзальный стриатум и бледный шар), не отвечали на стимуляцию МЯШ. Из двух областей, получающих иннервацию преимущественно из МЯШ, одна (дорзальный гиппокамп) не отвечала на стимуляцию ДЯШ, а вторая (медиальный септум) отвечала. В целом электрическая стимуляция ДЯШ и МЯШ вызывала регионально специфический паттерн выделения 5-НТ [51]. Подтверждением морфологических различий проекций из ДЯШ и МЯШ является клиническая работа, в которой представлены доказательства о функциональных отличиях 5-НТ-ергической сети ДЯШ и МЯШ [42].

Определенный интерес представляют проекции ДЯШ к обонятельным луковицам переднего мозга. Установлено, что ДЯШ и МЯШ осуществляют плотную 5-НТ-ергическую иннервацию гломерул обонятельных луковиц, где происходит первоначальная обработка информации о запахах. Оказалось, что 5-НТ дифференцированно влияет на активность внешних пучковых клеток в зависимости от их собственного паттерна залповой активности, участвуя, таким образом, в кодировании запахов обонятельной системой [45].

ДЯШ и нейронная активность коры больших полушарий головного мозга. Префронтальная кора (ПФК) вовлекается в высшие кортикальные функции и изменяется при шизофрении и других психических расстройствах. Как уже указывалось, церебральная кора получает плотную 5-НТ-ергическую иннервацию преимущественно из ДЯШ. Эта иннервация регулирует функционирование коры путем активации множества 5-НТ-рецепторов, которые дифференцированно экспрессированы глутаматергическими пирамидальными нейронами и интернейронами коры головного мозга. Электрофизиологические исследования, проведенные на ПФК, указывают, что 5-НТ(1А) и 5-НТ(2А) являются основными рецепторами 5-НТ, регулирующими мембранную возбудимость в пирамидальных нейронах. 5-НТ также оказывает деполаризующее действие на два класса ГАМК-ергических интернейронов коры путем активации 5-НТ3- и 5-НТ(2А)-рецепторов [5]. В свою очередь ДЯШ получает проекции из пирамидальных нейронов коры. Было показано, что существенная порция пирамидальных нейронов ПФК, проецирующихся к ДЯШ, экспрессирует 5-НТ(2А)-рецепторы [77].

Установлено, что агонисты 5-НТ(1А)- и 5-НТ(1В)-рецепторов эффективно редуцируют агрессивное поведение у самцов, провоцируемое социальным подстрекательством. Важным местом действия этих лекарств являются рецепторы в ДЯШ и вентро-орбитальной области ПФК – областях мозга, причастных к тормозному контролю вызванного агрессивного и импульсивного поведения. Аналогичное снижение материнского агрессивного поведения наблюдалось после микроинъекций агонистов 5-НТ(1В)-рецепторов в *вентро-орбитальную область* ПФК и ДЯШ родившим самкам, которые были спровоцированы социально, что подтверждает гипотезу о роли активации этих рецепторов в модулировании высокого уровня агрессии [18].

О большой чувствительности корковых терминалей 5-НТ-ергических нейронов к вредным воздействиям свидетельствуют многочисленные данные. Например, 3,4-метилендиоксиамфетамин (МДМА – «экстази») широко используется как «развлекательное» лекарство, вызывающее селективно длительное возбуждение 5-НТ-ергической системы и ее истощение. Хотя после введения «экстази» крысам не наблюдалось ультраструктурных изменений в клеточных телах и проксимальных нейритах 5-НТ-нейронов ДЯШ, во *фронтальной коре* среди интактных волокон было обнаружено множество 5-НТ-ергических аксонов с разрушенными микротрубочками. Несмотря на малую порцию этих аксонов, они, вероятно, претерпевают необратимые повреждения [4]. В дальнейшем было установлено, что МДМА редуцирует функцию серотонинового транспортера (5-НТТ) у человека и животных за счет его перераспределения от поверхности клетки внутрь клетки. Потеря 5-НТТ из клеточной поверхности в ответ на острую экспозицию МДМА может быть причиной снижения функции 5-НТТ (5-НТТ, осуществляя обратный захват пресинаптическим нейроном выделившегося 5-НТ для дальнейшей его деградации, играет критическую роль в определении продолжительности и интенсивности эффекта 5-НТ на постсинаптическую мембрану), наблюдаемой у крыс, экспонированных МДМА [40].

Считалось также, что МДМА повышает тактильное сенсорное ощущение. Но какова нейрофизиологическая основа эффектов данного препарата? Известно, что тригеминальная соматосенсорная система крысы получает 5-НТ-ергические афферентные волокна из ДЯШ. Поскольку эти волокна экспрессируют 5-НТТ, сделано предположение, что они будут уязвимы к эффектам МДМА. Удалось показать, что разовое внутрибрюшинное введение МДМА в дозе 3 мг/кг в сутки с последующим введением МДМА в той же дозе в течение 4 сут увеличивало выделение 5-НТ и норадреналина (НА) в заднем вентромедиальном ядре (ВМЯ) таламуса – главной релейной станции лемнисковой части тригеминального сенсорного пути у грызунов. Повышение выхода медиаторов совпадало с изменением спайковой активности отдельных соматосенсорных релейных таламических нейронов. Поэтому авторы предположили, что МДМА скорее искажает, чем усиливает тактильное ощущение [69].

Известно, что медиальная префронтальная кора (мПФК) строго вовлекается в познание и регулирует поведенческий ответ на стрессоры. Она получает 5-НТ-терминали из тех нейронов ДЯШ, которые иннервируются терминалями гипоталамических нейронов, содержащих гипокретин/орексин (*Hcr/Ox*) и оказывающих модулирующее влияние на активность ДЯШ. Дисфункция в этой системе ассоциируется с нарколепсией [19].

Орбитофронтальная кора (ОФК) также получает плотную 5-НТ-ергическую иннервацию из ДЯШ. Реципрокная иннервация из ОФК к ДЯШ позволяет ей регулировать не только собственные 5-НТ-входы, но и 5-НТ-входы к другим областям переднего мозга. В работе [60] было показано, что 5-НТ, выделяемый в ОФК, оказывает влияние на способность животных адаптировать свои ответы в соответствии с изменениями в окружающей среде. В частности, установлено, что редукция 5-НТ в ОФК, вызываемой либо локальной инъекцией 5,7-дигидрокситриптамина (5,7-ДНТ), селективно разрушающего 5-НТ-нейроны, либо периферическим введением парахлорамфетамина или холодным стрессом, нарушала эту способность. При отсутствии соответствующего подкрепления наблюдалось замедление ответов животных на изменения в окружающей среде и затруднение восприятия ими противоположных стимулов, хотя у контрольных животных в аналогичных условиях сохранялись быстрые ответы. Эти результаты свидетельствовали о роли 5-НТ-проекций нейронов ДЯШ к ОФК в кодирование будущего мотивационного стимула при изменении обстановки [25, 60, 72].

Нигростриальные проекции ДЯШ и болезнь Паркинсона (БП). Известно, что главным признаком БП является селективная гибель допамин (ДА)-ергических нейронов в компактной зоне ЧС среднего мозга, получающих обильную 5-НТ-ергическую иннервацию из ДЯШ. Аксоны 5-НТ-ергических нейронов ДЯШ образуют плотно восходящие пучки, которые распадаются на фрагменты после того, как пенетрируют перекрест передних ножек мозжечка. После этого пучки регруппируются в вентротегментальной области (*VTA*) и восходят вдоль медиального продольного пучка переднего мозга непосредственно под ДА-восходящими волокнами. С регулярными интервалами вдоль своего курса 5-НТ-аксоны отделяются от медиального пучка переднего мозга и изгибаются латерально, чтобы разветвиться в пределах всех компонентов базальных ганглиев, где они демонстрируют высоко варьируемые плотности и картины иннервации. ЧС (место локализации ДА-ергических нейронов, селективно поражающихся при БП) более плотно иннервируется, чем *nucleus putamen* и *nucleus pallidum* [13, 21]. Субталамическое ядро таламуса (СТЯ) также получает 5-НТ-волокна, которые демонстрируют снижение плотности в медиолатеральном направлении. Факт, что все компоненты базальных ганглиев получают плотную 5-НТ-ергическую иннервацию, указывает на то, что вместе с ДА 5-НТ играет существенную роль в функциональной организации этих, относящихся к регуляции моторных функций структур, которые часто являются мишенью нейродегенеративных заболеваний, в частности БП [70].

Установлено, что ДЯШ не только посылает 5-НТ-ергические проекции к ЧС, но и получает ДА-ергическую иннервацию из ЧС [58]. Некоторые исследования показали, что 5-НТ-ергическая система значительно изменяется после дегенерации nigrostriatalных ДА-ергических нейронов. Так, унилатеральное разрушение nigrostriatalного пути значительно увеличивало среднюю величину разрядов 5-НТ-ергических нейронов ДЯШ и МЯШ по сравнению с их величиной у контрольных крыс, а паттерн разрядов этих нейронов также значительно изменялся в сторону пачечных залповых разрядов. Низкая доза агониста 5-НТ (1A)-рецепторов – 8-ОН-ДРАТ [(+/-)-8-hydroxy-2-(di-n-propylamino)tetralin] (1,5–4,0 мкг/кг, в/в) полностью ингибировала электрическую активность всех 5-НТ-нейронов ДЯШ и МЯШ, исследованных у контрольных и ложнопериоперированных (ЛО) животных. Напротив, у крыс с разрушенными ДА-нейронами только высокие дозы 8-ОН-ДРАТ (128 и 64 мкг/кг) полностью ингибировали величину разрядов 5-НТ-нейронов ДЯШ и МЯШ. Все эти результаты подтверждают, что разрушение nigrostriatalного пути ведет к гиперактивности 5-НТ-нейронов ДЯШ и МЯШ и свидетельствует о причастности ДЯШ и МЯШ к патофизиологии БП, а сниженный ответ этих 5-НТ-нейронов на стимуляцию 5-НТ(1A)-рецепторов отражает дисфункцию 5-НТ(1A)-рецепторов у крыс с поврежденными ДА-нейронами [81].

Показано, что в поздней стадии БП 5-НТ-ергические проекции компенсируют потерю nigrostriатных DA-нейронов путем превращения и выделения DA из экзогенно введенного фармакотерапевтического препарата – леводопы (*L-3,4-dihydroxyphenyl-L-alanine – L-DOPA*). Поскольку 5-НТ-ергическая система не обладает DA-ауторегуляторными механизмами, предположили, что опосредуемое ДЯШ выделение DA может сильно колебаться и предвещать развитие аномальных неволевых движений, называемых индуцированными леводопой дискенизиями. Кроме того, предполагалось, что снижение активности проецирующихся к стриатуму 5-НТ нейронов будет угнетать супрафизиологическую стимуляцию стриатных DA-рецепторов. В прямом исследовании было показано, что микроинфузия 8-*OH-DPAT* в интактное ДЯШ ослабляет экспрессию DA-дискенизий без влияния на антипаркинсоническую эффективность *L-DOPA* [22].

Депрессия является наиболее распространенным нейropsychическим нарушением, которое сопровождает БП. Лежащие в основе депрессии при БП механизмы являются комплексными и, вероятно, вовлекают биологические, психосоциальные и терапевтические факторы. Доказано, что 5-НТ-система значительно изменяется в мозге больных паркинсонизмом. Доказательством служит патологическая потеря маркера 5-НТ аксонов, а также клеточных тел в ДЯШ и МЯШ среднего мозга. Кроме того, получены доказательства, что клиническая депрессия может быть побочным эффектом глубокой (высокочастотной) стимуляции мозга (лечение, применяемое при БП для снятия двигательных нарушений, часто приводило к депрессии у пациентов). Экспериментально также было подтверждено, что глубокая стимуляция мозга тормозит 5-НТ-нейропередачу и может вызвать депрессивное состояние [73].

Особенности функциональных связей ДЯШ с таламусом, гипоталамусом, структурами лимбической системы. Об участии 5-НТ-ергических нейронов ростральных ядер шва (ДЯШ и МЯШ) в регуляции эмоционального поведения и когнитивных процессов свидетельствуют также данные об особенностях 5-НТ-ергической иннервации таламуса. С помощью иммунного мечения серотонинового транспортера (5-НТТ-чувствительный маркер серотониновых волокон) обнаружили, что 5-НТ-волокна направляются преимущественно к тем ядрам таламуса, которые связаны с лимбическими областями коры [79]. В частности, паравентрикулярное ядро (ПВЯ) таламуса посылает проекции к *nucleus accumbens*, базальному ядру миндалины, латеральному септуму и гипоталамусу. Связи ПВЯ таламуса и его иннервация содержащими 5-НТ, орексин и кортикотропный гормон нейронами указывают на его роль релейной станции для сигналов среднего мозга и гипоталамуса к ядру *nucleus accumbens*, базальной миндалине и коре, т. е. на то, что он является частью нервной сети, которая управляет стрессом и вызываемой стрессом психопатологией [30].

Субмедиальное ядро в медиальном таламусе, как известно, получает спинальные и тригеминальные волокна и содержит нейроны, которые могут активироваться болевыми стимулами и участвовать в передаче болевой информации. Иммуногистохимически показано, что субмедиальное ядро получает 5-НТ-ергические волокна главным образом из ДЯШ и дополнительно из вентролатеральной и медиальной частей ЦСВ среднего мозга. Доказательством этого служит исчезновение почти всех 5-НТ-ергических волокон в субмедиальном ядре после разрушения ДЯШ. Кроме того, было показано, что некоторые нейроны ДЯШ, посылающие проекции к субмедиальному ядру, посылали аксонные коллатерали к вентроорбитальной области коры головного мозга, *nucleus accumbens*, миндалине, большому ядру шва (БЯШ = В3), каудальному спинальному тригеминальному ядру или спинному мозгу [50].

Ретикулярное ядро таламуса представляет собой тонкую полоску ГАМК-ергических нейронов, локализованных между внешней ламинарной пластиной и внутренней капсулой таламуса. Это ядро имеет функционально различные эфферентные и афферентные связи с таламическими ядрами, неокортексом, базальным передним мозгом и стволом мозга. Ретикулярное ядро (контроль ритмической походки) является частью таламокортикальной сети, ведущей к генерации веретенообразной (*spindle*) активности во время ранней стадии сна и во время отсутствия возбуждения (спайковые волны). 5-НТ, действующий на 5-НТ-(1A)-рецепторы на нейронах ретикулярного ядра, вовлекается в эту ритмичность. Однако необходимо было установить точный источник 5-НТ-афферентов к ретикулярному ядру. Так, в качестве ретроградной метки использовали жидкое золото, а для определения 5-НТТ – иммуногистохимию. В результате было установлено, что основными источниками 5-НТ-ергических проекций к данному ядру являются ДЯШ и супралемнисковое ядро (В9) среднего мозга. Кроме того, на нейронах и дендритах ретикулярного ядра экспрессированы 5-НТ(1A)- и 5-НТ(2A)-рецепторы. Таким образом, значительное количество 5-НТ-терминалей в ретикулярном ядре таламуса может свидетельствовать о модулирующем влиянии 5-НТ на ГАМК-ергические нейроны ретикулярного ядра таламуса и об участии в контроле ритмической активности таламокортикальной системы [61].

Под контролем ДЯШ находятся также определенные ядра гипоталамуса (например, супрахиазматическое ядро (СХЯ), осуществляющее контроль за циркадианными ритмами), а также структуры лимбической системы, в частности миндалевидный комплекс. Вот почему нарушения в 5-НТ-ергической системе всегда чреваты нарушениями психики [83].

ДЯШ и тревожные состояния, агрессия, душевные расстройства. Роль 5-НТ-ергической системы мозга в развитии *агрессии*, в отличие от роли других нейротрансмиттерных систем, изучена достаточно хорошо. Однако не ясно, какие механизмы модулируют 5-НТ-систему и помогают эскалации агрессии.

Страх – это комплексное эмоциональное состояние. 5-НТ-ергическая система ствола мозга входит в нервную сеть, регулирующую состояние страха и страхоподобное поведение. Эта специфическая сеть топографически организована и начинается в ростральной и каудальной частях ДЯШ среднего мозга [46].

Многие области мозга, которые посылают свои проекции к ДЯШ, содержат моноамины – НА, гистамин, аминокислоты – ГАМК, глутамат, ацетилхолин или нейропептиды – орексин, меланинсодержащий гормон, кортикотропин-релизинг-фактор, вещество «Р», которые благодаря локальным сетям прямо или опосредованно регулируют активность 5-НТ-клеток. В частности, было показано, что стресс и анксиогенный нейропептид (*corticotropin-releasing factor*) стимулируют 5-НТ-нейроны ДЯШ. Было обращено внимание на то, что именно дорзомедиальная область ДЯШ играет критическую роль в регуляции острого и хронического состояния тревожности [2]. В ответ на введение анксиогенных лекарств 5-НТ-ергическая система реагирует возбуждением и настороженным поведением. Так, нервная сеть – ДЯШ-базолатеральное ядро миндалины представляет собой структуру, важную для эмоциональной оценки и модуляции относящихся к страху физиологических и поведенческих ответов. Имеющиеся в литературе данные о функциональной топографической организации ДЯШ подтверждают гипотезу, согласно которой анксиогенные лекарства имеют *селективные* эффекты на субпопуляции 5-НТ-нейронов, проецирующихся к центральному автономному и эмоциогенному составляющим системы контроля страха [3].

В экспериментальной модели страха (открытое поле = ОП) было обнаружено, что значительное снижение 5-НТ в ДЯШ, вызываемое введением в ядро селективного нейротоксина 5,7 ДНТ, влияет на память. Об этом свидетельствовало выраженное нарушение в узнавании объекта при сохранении аффективного поведения [44].

Миндалина играет ключевую роль в формировании эмоциональных состояний и страхоподобных физиологических и поведенческих ответов. 5-НТ-ергические нейроны ДЯШ и МЯШ, плотно иннервирующие базолатеральную миндалину, являются частью интегрированной нервной сети, модулирующей состояние страха [68]. Экспериментально также установлено, что при длительном действии субординационного стресса и других типов неконтролируемого стресса активируется нервная сеть «ядра шва – ПФК – гиппокамп» [53].

Известно, что базальный передний мозг и миндалина наряду с 5-НТ-ергической иннервацией получают плотную иннервацию не-5-НТ-ергических нейронов ДЯШ. Поскольку базальный передний мозг играет критическую роль в таких процессах, как мотивация, аффект, контроль поведения, выдвигается гипотеза, что и не-5-НТ-проекции ДЯШ могут осуществлять существенный модулирующий контроль над мотивационными и эмоциональными функциями [27].

Подтверждением этому является работа, в которой исследована роль ГАМК-ергической модуляции нейрональной активности в ростральных ЯШ, из которых начинается большинство 5-НТ-ергических проекций к переднему мозгу, на эскалацию агрессии у самцов мышей. Обнаружено, что фармакологическая активация ГАМК (В)-рецепторов (но не ГАМК (А)-рецепторов) в ДЯШ повышает агрессивное поведение. Напротив, агонисты ГАМК не провоцируют агрессивное поведение после микроинъекции в МЯШ. Повышающий агрессию эффект агониста ГАМК (В)-рецепторов – баклофена зависит от активации 5-НТ-нейронов в ДЯШ, поскольку он блокируется одновременным введением агониста 5-НТ(1А)-рецепторов – 8-ОН-ДРАТ, который, действуя на 5-НТ-ауторецепторы, ингибирует 5-НТ-ергическую нейрональную активность. В опытах *in vivo* методом микродиализа показано, что активация ГАМК (В)-рецепторов в ДЯШ увеличивает экстраклеточный уровень 5-НТ в медиальной ПФК (мПФК). Это может быть отнесено к непрямодействию через пресинаптические ГАМК (В)-рецепторы. Пресинаптические ГАМК (В)-рецепторы подавляют активность кальциевых [Ca (2a+)] каналов и тормозят нейротранс передачу, а совместное введение блокатора N-типа Ca (2a+)-каналов облегчает эффект баклофена. Эти находки свидетельствуют о том, что непрямо дезингибирование активности 5-НТ-ергических нейронов пресинаптическими ГАМК (В)-рецепторами на не-5-НТ-ергических нейронах в ДЯШ является одним из нейробиологических механизмов повышенной агрессии [71].

Дисрегуляция гипоталамо-гипофиз-надпочечниковой оси с дефицитом глюкокортикоидной обратной связи и альтерациями в 5-НТ-ергической системе были идентифицированы как биологические корреляты психических нарушений. Исследование взаимодействия между этими системами позволит проникнуть в патофизиологию *страха* и *депрессии* и понять, как эти расстройства соотносятся со стрессом. В частности, было показано, что у пациентов с социальной фобией были значительно снижены уровни кортизола в плазме крови по сравнению с контролем. Кроме того, у этих пациентов отмечалась отрицательная

корреляция между уровнем кортизола и связыванием 5-НТ(1А)-рецепторов в миндалине, гиппокампе и ретроспленальной коре. Таким образом, дисрегуляция уровня кортизола может увеличить уязвимость к душевным расстройствам путем изменения лимбических 5-НТ(1А)-рецепторов [41].

Диабет – грозное метаболическое заболевание, которое может привести к душевным расстройствам и снижению памяти. Поскольку гиппокамп (основная ячейка памяти) иннервируется 5-НТ-нейронами ДЯШ и МЯШ, возник вопрос, не страдают ли при диабете эти образования. На экспериментальной модели диабета было обнаружено (микроскопические исследования), что при пролонгированном диабете наблюдается значительное снижение клеточной популяции ДЯШ и МЯШ. Поэтому возможное снижение нервных связей ядер шва с гиппокампом является одной из причин диабетической деменции [28].

Существует много доказательств участия 5-НТ в патофизиологии душевных расстройств и суицидов. Однако неясно было, как в эти заболевания вовлекаются морфологические изменения в ДЯШ, источнике иннервации большинства отделов переднего мозга. Посмертно было обнаружено, что при большой депрессии область ДЯШ была увеличена. При биполярных нарушениях размеры ядра были снижены. Суициды ассоциировались также с увеличением области ДЯШ с более высокой плотностью 5-НТ-ергических нейронов, но с меньшим их размером, хотя общая нейрональная плотность и обилие 5-НТ(1А)-рецепторов при суицидах не изменялись. Не наблюдалось морфологических изменений при шизофрении. Таким образом, душевные расстройства и суициды ассоциируются с дифференцированными, ограниченными альтерациями в ДЯШ [52].

Взаимодействие ДЯШ с вестибулярной и слуховой системами. Множество данных свидетельствует о взаимосвязи ДЯШ с вестибулярной системой. Например, ДЯШ получает афферентные входы из верхнего вестибулярного ядра [34]. Методом *HPLC* с электрохимической детекцией в медиальном вестибулярном ядре крысы были обнаружены высокие уровни НА и 5-НТ (33,8 и 39,2 пмоль/мг белка соответственно), а также их метаболитов. С другой стороны, соотношение 5-ОИУК/5-ОТ в вестибулярном ядре было меньше (0,58), чем в ДЯШ (0,85) [16]. Обнаружено, что 5-НТ тормозит нейрональную активность медиального вестибулярного ядра через 5-НТ(1А)-рецепторы. Агонист 5-НТ(1А)-рецепторов – тандоспирон вызывает тот же эффект и может быть эффективным в предупреждении и лечении болезни движения и/или космической болезни [65].

Ранние исследования показали, что нейроны ядер шва отвечают на акустические стимулы. С помощью ретроградных меток в заднем стволе мозга была идентифицирована новая структура, так называемая *juxta-acoustico-floccular fascicle (JAFF)*, которая посылает проекции к ДЯШ. Меньшее число меченых нейронов были обнаружены в инфрацереbellлярном ядре и ядре слухового нерва. Результаты с антероградными метками показали наличие волокон в слуховом ядре, слуховом нерве и вестибулярном нерве, указывая, что ДЯШ проецируется к этим структурам. Восходящие и нисходящие связи между ДЯШ и областью *JAFF* могут опосредовать рефлекс, который может изменять чувствительность слуховой системы к акустическим стимулам в зависимости от биологической их значимости (например, угрожающие или привлекательные стимулы) [84].

В работе [7] приведены данные о нейрологической базе тесной взаимосвязи между контролем равновесия и страхом, в основе которой могут лежать взаимосвязи ДЯШ с парабрахиальным ядром (ПБЯ), вестибулярными ядрами и миндалиной. Предполагается, что ДЯШ участвует в согласовании (*tradeoff*) между моторными и сенсорными аспектами ответа на движение и в калибровке чувствительности аффективных ответов на неблагоприятные виды движения [7].

Исследовали, могут ли индивидуальные 5-НТ- и не-5-НТ-нейроны ДЯШ быть источниками коллатерализованных проекций к вестибулярным ядрам и амигдалоидному ядру. Показано, что примерно 1/4 часть нейронов ДЯШ, проецирующихся к вестибулярным ядрам, посылают аксонные коллатерали к центральному ядру миндалины. Иммунофлуоресцентное окрашивание на 5-НТ выявило, что половина нейронов ДЯШ, из которых выходят коллатерализованные проекции, содержат 5-НТ-подобную иммунореактивность. Эти данные указывают, что субпопуляции 5-НТ и не-5-НТ-нейронов ДЯШ могут действовать как комодуляторы процессов в вестибулярных ядрах и центральном ядре миндалины, участвующей в генерации эмоциональных и аффективных ответов на реальное и ощущаемое движение [26].

Установлено, что 5-НТ оказывает возбуждающие эффекты на вестибулярные нейроны через 5-НТ(2А)-рецепторы путем торможения калиевых каналов, зависимых от кальция [33]. На вестибулярные и акустические стимулы нейроны шва отвечают с латентным периодом 10–15 мс. Хотя ДЯШ является большим источником 5-НТ-ергических нейронов, примерно 57% нейронов ДЯШ – не-5-НТ-ергические. Плотная локализация этих нейронов, которые посылают проекции к внутреннему уху, была обнаружена в дорсомедиальной части ДЯШ. Рафе-лабиринтный путь вместе с восходящим из внутреннего уха входом к ДЯШ среди вставочных нейронов, таких как *JAFRN*, описанных в работе [84], может опосредовать стволовой рефлекс посредством мультисенсорного (включая слуховой и вестибулярный) стимула и изменять

чувствительность внутреннего уха, повышая способность животного локализовать и узнавать звук и реагировать соответствующим образом [38].

Вестибулярный нейронит был описан в 1949 и 1952 гг. Были описаны две группы пациентов: у больных первой группы отмечались внезапные припадки и ощущение темноты (пациенты были идентифицированы как имеющие вестибулярный нейрит), у больных второй группы наблюдались симптомы нарушения равновесия и было ощущение неустойчивости или отсутствия равновесия. Патология считалась центральной по отношению к внутреннему уху. Эту группу обозначили как группу с нуклеоретикулярным вестибулярным синдромом. Патология была локализована в области ствола мозга, богатой 5-НТ-ергическими нейронами. На основе этого было предложено использование антагонистов 5-НТ(2А)-рецепторов для лечения нуклеоретикулярного вестибулярного синдрома и получены положительные результаты [43].

Анатомические и электрофизиологические исследования показали, что нейроны, локализованные в медиальном вестибулярном ядре (МВЯ), получают большинство сенсорных вестибулярных проекций из ипсилатеральных лабиринтов. Поэтому ответы нейронов МВЯ на калорическую стимуляцию прямо отражают изменения в первичной афферентной активности. Методом микродиализа изучали выделение 5-НТ в МВЯ морских свинок во время головокружения (*vertigo*), индуцированного калорической стимуляцией (ирритация горячей (44 °С) и ледяной водой) наружного и внутреннего уха. Контроль – вода 37 °С. Выделение 5-НТ в МВЯ при ирритации ледяной и горячей водой *наружного уха* изменялось не отчетливо, но резко увеличивалось (в 2–2,5 раза) при ирритации *внутреннего уха*, что свидетельствует о вовлечении повышения уровня 5-НТ в МВЯ в механизм головокружения во время калорической стимуляции внутреннего уха [48].

Известно, что гипергравитация индуцирует транзитную гипофагию, которая частично восстанавливается после разрушения вестибулярных рецепторов, свидетельствуя, что вестибулярная система вовлекается в афферентный путь индуцируемой гипергравитацией гипофагии. Крыс подвергали в течение 14 дней гипергравитации 3g. Поскольку 5-НТ является ключевым нейротрансмиттером в механизме гипофагии, предположили, что увеличение концентрации 5-НТ во время гипергравитации будет индуцировать гипофагию. С целью проверки этого предположения изучали содержание 5-НТ в цереброспинальной жидкости после того, как крыс в течение 14 дней подвергали гипергравитации. И действительно, у этих животных наблюдалось увеличение концентрации 5-НТ, которое устранялось разрушением вестибулярных рецепторов. Антагонист 5-НТ(2А)-рецепторов кетансерин значительно редуцировал индуцированную 120-минутной гипергравитацией экспрессию *Fos*-содержащих клеток в МВЯ, а хроническое введение кетансерина полностью ликвидировало гипофагию, индуцированную гипергравитацией. Эти результаты указывают, что гипергравитация индуцирует увеличение концентрации центрального 5-НТ через вестибулярный вход и это увеличение играет значительную роль в индуцируемой гипергравитацией гипофагии. В сигнальной передаче гипергравитационного стресса к МВЯ важная роль принадлежит 5-НТ(2А)-рецепторам [1].

В течение многих лет не ослабевает интерес к такой проблеме, как связь между признаками мигрени и нарушением равновесия. Такие симптомы, как тошнота, головокружение, головная боль, являются общими для мигрени и болезни движения; более того, страдающие мигренью имеют повышенную уязвимость к болезни движения [17]. Недавние исследования проливают свет на связь между мигренью и болезнью движения и вносят вклад в понимание генерации мигреновых атак. В частности, была изучена локализация и экспрессия 5-НТ(7)-рецепторов в вестибулярных ядрах крысы и получены новые сведения о роли 5-НТ(7)-рецепторов в патогенезе обусловленных мигренью вестибулярных симптомов [37].

Взаимодействие ДЯШ с мозжечком. 5-НТ-ергические волокна и их расширения наблюдались в церебеллярной коре. Однако плотность терминалей варьировалась в пределах коры от молекулярного слоя к слою корзинчатых клеток и наблюдались различия в пространственной ориентации меченых элементов. Положительные на 5-НТ волокна присутствовали также в слое клеток Пуркинье. В экспериментах с двойной меткой показано, что нейроны, которые дают выход 5-НТ-ергическим афферентным волокнам к мозжечку, локализуются почти исключительно в *n. reticularis gigantocellularis*, *n. reticularis paragigantocellularis* и *n. pontis oralis*. Хотя 5-НТ-ергические элементы распределены в пределах церебеллярной коры, имеются лобулярные различия в ламинарном распределении этого индоламина. Это свидетельствует о том, что 5-НТ может оказывать свои эффекты дифференцированно в различных областях коры мозжечка [8].

У кошек 5-НТ-ергические аксоны и терминали формируют плотную сеть, которая присутствует в слое гранулярных клеток и слое клеток Пуркинье коры мозжечка и всех мозжечковых ядрах. С помощью двойной метки обнаружено, что все три ядра мозжечка (медиальное, промежуточное и латеральное) получают 5-НТ-афференты из LC, ДЯШ, дорсального тегментального ядра. Кроме того, медиальное ядро

мозжечка получает дополнительные проекции из переднего центрального ядра (МЯШ). Авторы заключают, что 5-НТ-проекции к мозжечковым ядрам не являются коллатеральными 5-НТ-ергических проекций к коре мозжечка. Данные свидетельствуют, что хотя кора и ядра анатомически и физиологически связаны, они не проводят всю информацию параллельно [36, 39].

Изучение эффектов стимуляции ДЯШ на активность трех глубоких ядер мозжечка – медиального, латерального и промежуточного – показало, что стимуляция ДЯШ вызывает три типа ответов: торможение, возбуждение и двухфазный ответ (возбуждение-торможение или торможение-возбуждение) с латентным периодом (ЛП) от 10 до 84 мс. Большинство отвечающих клеток показали тормозные ответы (76–90%) с ЛП менее 30 мс. Частота спонтанных нейрональных разрядов ядер колебалась от 5 до 120 Гц. Оказалось, что клетки с более высокой спонтанной частотой разрядов меньше отвечают на стимуляцию ДЯШ по сравнению с клетками, разряжающимися с низкой частотой. Депрессивный эффект стимуляции ДЯШ блокировался инъекцией антагониста 5-НТ_{2/1}-рецепторов метезергида (63,7–83,3%). Таким образом, рафе-мозжечковые 5-НТ-ергические афферентные волокна могут вовлекаться в церебеллярную сенсорную интеграцию процессов путем модулирующего влияния на активность клеток глубоких ядер мозжечка [14].

Кроме того, в опосредовании эффектов 5-НТ в мозжечке участвуют 5-НТ₃-рецепторы и 5-НТ(5А)-рецепторы, иммунореактивность к которым была обнаружена в клетках Пуркинье, интернейронах молекулярного слоя и клетках Гольджи церебеллярной коры, церебеллярных ядрах. С помощью клеточных специфических маркеров удалось идентифицировать положительные на 5-НТ(2А)-рецепторы в клетках Гольджи в гранулярном слое. Наконец, в клетках Пуркинье наблюдалась иммунореактивность 5-НТ(7)-рецепторов [24].

Изучение функциональных эффектов 5-НТ на нейрональные разряды в церебеллярных ядрах во время ионофоретической аппликации 5-НТ у глубоко анестезированных крыс показало, что 5-НТ вызывает торможение в медиальном ядре мозжечка. Эффекты 5-НТ на нейроны *n. interpositus* и латерального ядра были более дифференцированными (тормозные, возбуждающие или двухфазные). Возбуждающие ответы были выражены больше в задней, чем в передней зоне *n. interpositus*. Агонисты 5-НТ(1А)- и 5-НТ(2А)-рецепторов мимикрировали только тормозные эффекты [20].

Известно, что церебеллярный выход из глубоких ядер мозжечка критичен для генерирования и контроля движений. Установлено, что нейрональная активность глубоких ядер мозжечка первично контролируется клетками Пуркинье церебеллярной коры мозжечка посредством ГАМК-ергической тормозной передачи. Обнаружено, что 5-НТ снижает амплитуду вызванных стимуляцией тормозных постсинаптических токов (*IPSC*) в нейронах ядер мозжечка, и этот эффект устранялся антагонистом 5-НТ(1В)-рецепторов *SB224289*. 5-НТ снижал также частоту миниатюрных потенциалов без влияния на их амплитуду. Эти данные свидетельствуют о том, что 5-НТ пресинаптически тормозит выделение ГАМК. Более того, 5-НТ вызывает медленный входящий ток в нейронах ядер мозжечка путем активации 5-НТ(5)-рецепторов [63].

Наряду с этим были показаны модулирующие эффекты 5-НТ на глутаматергическую синаптическую передачу в глубоких ядрах мозжечка. 5-НТ не только оказывает транзиторные тормозные эффекты на возбуждающие постсинаптические потенциалы, но и играет роль в регуляции *продолжительности* глутаматергической синаптической передачи [56].

Методом микродиализа червя мозжечка изучали экстраклеточные уровни нейротрансмиттерных аминокислот и общее содержание 5-НТ и его метаболита 5-Н1АА на различных стадиях формирования реакции испуга в ответ на акустическое раздражение и обусловленное этим «замирание» животного в клетке до начала акустической стимуляции. Удалось выявить селективное вовлечение церебеллярных нейротрансмиттерных систем в механизмы разных типов оборонительного поведения. В частности, активация глутаматергической системы положительно коррелировала с формированием и продолжительностью ориентировочного компонента в реакции испуга на звуковое раздражение, в то время как ГАМК-ергические интернейроны и 5-НТ-ергические проекции вовлекались в механизмы формирования оборонительной реакции и реакции «замирания», обусловленного незнакомой обстановкой [70].

Участие ДЯШ в регуляции цикла сон–бодрствование. 5-НТ-ергическая система играет важную роль в регуляции состояния сон–бодрствование. На основании различных исследований был сделан вывод, что 5-НТ содействует пробуждению и тормозит быстроволновый сон. Гетерогенные нейроны ДЯШ играют дифференцированную роль в контроле уровня поведения и переключения от сна к бодрствованию. В разные фазы цикла сон–бодрствование нейроны ДЯШ проявляли свою активность селективно. Одни нейроны разряжались только после окончания бодрствования. Другие нейроны, которые молчали во время бодрствования, прекращали разряжаться до начала пробуждения, хотя при переходе от бодрствования ко сну они разряжались в начале сна [64].

Имеются доказательства, что благодаря локальным сетям к регуляции активности 5-НТ-нейронов во время цикла сон–бодрствование причастны не-5-НТ-нейроны. Нормальное функционирование цикла сон–бодрствование во многом определяется состоянием 5-НТ-ергических рецепторов. По сравнению с обычными мышами мутантные мыши, лишённые 5-НТ(1А)- и 5-НТ(1В)-рецепторов, демонстрировали превалирование быстрого сна. Нокаутированные мыши с отсутствием 5-НТ(2А)- и 5-НТ(2С)-рецепторов показали значительное увеличение бодрствования и редукцию медленноволнового сна. Нормальная циркадианная картина сна сохранялась у нокаутированных на 5-НТ(7)-рецепторы мышей. Однако эти мутанты тратили меньше времени на быстрый сон. Локальная микроинъекция в ДЯШ агонистов 5-НТ(1В)-, 5-НТ(2А/2С)-, 5-НТ(3)- и 5-НТ(7)-рецепторов селективно подавляла быстрый сон у крыс. Напротив, инъекция агониста 5-НТ(1А)-рецептора содействовала быстрому сну. Точно так же микроинъекция меланин-содержащего гормона или агониста ГАМК (А)-рецептора мусцимола продуцировала увеличение быстрого сна [55].

Хотя известно, что 5-НТ(1А)-рецепторы играют ключевую роль в тормозном влиянии 5-НТ на быстрое движение глаз во время сна у грызунов, нейрональная сеть такого влияния во многом не изучена, особенно у мышей. Область рострального переднего мозга мышей – важная область для генерации быстрого сна и корковой активации. Меченные антителами 5-НТ(1А) *mRNA*-рецепторы были обнаружены в большинстве 5-НТ-нейронов в ДЯШ, МЯШ, В9 и интерпедункулярном ядрах. Нейроны, иммуноположительные на 5-НТ(1А)-рецептор, были обнаружены также в отдельных кластерах ГАМК-ергических нейронов в ДЯШ. Кроме того, ГАМК-ергические нейроны вентральной порции дорсального тегментального ядра Гуддена, интерпедункулярного ядра и каудальной порции глубокого мезенцефалического ядра, а также глутаматергические нейроны, разбросанные в каудальном ретикулярном ядре моста и плотно представленные во внутренней части латерального парабрахиального субядра, тоже экспрессировали 5-НТ(1А)-*R mRNA*. Интересно отметить, что иммунореактивных меток 5-НТ(1А)-рецепторов на холин- и катехоламинергических нейронах ствола головного мозга не обнаружено. Эти результаты подчеркивают роль 5-НТ-рецепторов как ауторецепторов и фенотипическую гетерогенность нейронов ДЯШ в мозге мышей, экспрессирующих 5-НТ(1А)-рецепторы. Они также представляют нейроанатомический базис для понимания влияния 5-НТ(1А)-рецепторов на быстрый сон и бодрствование [9].

Особенности ответных реакций нейронов ДЯШ на сенсорные раздражения. ДЯШ получает множество афферентных входов, опосредуемых разными медиаторами. Глутаматергические входы к ДЯШ происходят из различных областей мозга (в том числе ретинальные входы, висцеросенсорные входы вагуса и языкоглоточного нерва) и информируют ядро о сенсорном, автономном, эндокринном и метаболическом состоянии, а также о нейрональной функции более высокого порядка. Дисбаланс в глутаматергической нейротрансмиссии может привести к снижению адаптивной 5-НТ-нейротрансмиссии и служить потенциальной мишенью для фармакотерапии. В пределах ДЯШ содержащие глутамат аксонные терминалы могут быть идентифицированы по одному из трех типов везикулярного транспортера глутамата – *VGLUT1*, *VGLUT2* или *VGLUT3*. Кортикальные источники иннервации ДЯШ, включающие мПФК, интенсивно экспрессируют *VGLUT1*, в то время как субкортикальные – в основном *VGLUT2*. В пределах ДЯШ множество локальных нейронов, отвечающих на вещество «Р», содержит *VGLUT3*, что указывает на третий источник глутаматергических входов. Однако *VGLUT3* присутствует в сочетании с 5-НТ и без него в выходных путях из ДЯШ. 5-НТ и не-5-НТ-нейроны получают и интегрируют глутаматергические сигналы благодаря множеству субтипов глутаматных рецепторов, которые имеют разные паттерны экспрессии в ДЯШ. Интересно, что возбуждающий вход, осуществляемый глутаматергической нейротрансмиссией, оппонируется по механизму отрицательной обратной связи торможением, опосредуемым 5-НТ(1А)-рецепторами или локальной ГАМК-ергической сетью. Понимание взаимодействия этих локальных сетей и их баланса позволит идентифицировать, как потенциальный дисбаланс может стать причиной психопатологии, и определить стратегию терапевтического воздействия [67].

Специфичность эффектов нейромедиаторов позволяет предположить, что каждый медиатор имеет особый «паттерн» активируемых генов в нейронах. Подтверждением этому служит работа, в которой показано, что у кошек разные сенсорные стимулы дифференцированно влияют на выход 5-НТ из ЧС и стриатума, иннервируемых ДЯШ. Билатеральная и одновременная аппликация щелчков и световых вспышек бодрствующим *encephale isole*-кошкам повышала выход [3Н]-5-НТ из обеих ЧС, но без эффекта на выход 5-НТ из стриатума. Унилатеральная низкоинтенсивная стимуляция передней лапы у анестезированных галотаном кошек уменьшала выделение 5-НТ в хвостатом ядре и ипсилатеральной ЧС. И напротив, высокоинтенсивная электрическая стимуляция одной передней лапы увеличивала выход 5-НТ в ипсилатеральной ЧС, без значимого эффекта на выделение 5-НТ в других исследуемых областях мозга. Полученные результаты свидетельствуют о важной роли 5-НТ-ергических нейронов ДЯШ в интеграции сенсорной информации [59].

Изучали особенности разрядов одиночных 5-НТ- и не-5-НТ-ергических нейронов ДЯШ на сенсорные сигналы у бодрствующих свободно подвижных крыс. 5-НТ- и не-5-НТ-ергические нейроны ДЯШ были идентифицированы на основе определенных критериев, таких как очертание и продолжительность волны разряда, паттерн и частота разряда. Принималось во внимание, что 5-НТ-ергические нейроны отличаются медленной и редкой тонической величиной разрядов (за исключением переходного периода от сна к бодрствованию), угнетением разрядов после введения агониста 5-НТ(1А)-рецепторов. Оказалось, что 5-НТ-нейроны ДЯШ были не чувствительны к специфическим сенсорным и моторным воздействиям. Напротив, не-5-НТ-ергические клетки средней линии и прилегающих латеральных областей ДЯШ демонстрировали ответы на множество сенсорных воздействий, включая локомоцию, груминг, движение головы, жевание, слуховые стимулы и движение усов (пассивное и активное). Однако в пределах этой последней группы сенсорные ответы, полученные из индивидуальных клеток, были неоднозначны. Подобным образом не-5-НТ-ергические нейроны с различными профилями ответов были идентифицированы в медиальных и латеральных частях ДЯШ. Не-5-НТ-ергические нейроны имели также неоднозначные ответы на введение агониста 5-НТ(1А)-рецепторов. Нуждаются в более детальном анализе особенностей взаимоотношений между входными и выходными нейронами ДЯШ в условиях движения, что послужит лучшему пониманию роли ДЯШ в контроле функций мозга [82].

Было также показано, что ответы 5-НТ- и не-5-НТ-ергических нейронов ДЯШ на интеро- и экстероцептивные сигналы зависят от температуры окружающей среды. В частности, плавание в теплой (35 °С) воде увеличивает *c-Fos*-экспрессию в ДЯШ незначительно. В то же время при плавании в холодной (19 °С) воде наблюдалось выраженное увеличение *c-Fos*-экспрессии в вентролатеральной и интерфасцикулярной частях ДЯШ. Это указывает на возможное дифференцированное участие 5-НТ-ергических нейронов ДЯШ в интеграции физиологических и поведенческих ответов на интероцептивные и экстероцептивные стимулы во время плавания в холодной воде [35].

Наряду с этим был обнаружен половой диморфизм в ответах 5-НТ-нейронов ядер шва на введение парахлорфенилаланина (ПХФА, снижает уровень 5-НТ). Оказалось, что после введения ПХФА плотность 5-НТ-клеток в ДЯШ и МЯШ у самцов крыс была ниже, чем у самок [31].

Также были выявлены значительные различия в церебральной цитохром-*c*-оксидазной активности между самцами и самками крыс: самки имели более низкий уровень окислительного метаболизма в ДЯШ и МЯШ, ядре моста, стриатуме и *n. accumbens*, но более высокий окислительный метаболизм в миндалине и соответствующих лимбических областях. Хронический стресс увеличивал окислительный метаболизм в миндалине, гиппокампе и переднем таламусе у самцов, но не у самок крыс. У самцов стресс вызывал более раннюю и стабильную редукцию роста, веса, стойкое и более низкое потребление пищи и предпочтение сахарозы, но более высокий уровень иммобилизации в тесте форсированного плавания. Эти поведенческие изменения сопровождался повышенным окислительным метаболизмом в лимбических областях мозга, указывая на большую, по сравнению с самками, уязвимость самцов к стрессу и предрасположенность к страху и аффективным расстройствам [49].

Заключение. Интерес к изучению функций ДЯШ в настоящее время не ослабевает. Эти данные необходимы для более точной диагностики заболеваний и эффективного их лечения. Например, сравнительно недавно полученные данные свидетельствуют о том, что поведенческие последствия неконтролируемого стресса зависят от гиперчувствительности 5-НТ-ергических нейронов в ДЯШ, но механизмы, лежащие в основе этого процесса, не определены. В опытах *in vivo* установили, что неконтролируемый стресс десенситизирует 5-НТ(1А)-рецепторы в ДЯШ, о чем свидетельствовало нарушение опосредуемого 5-НТ(1А)-ауторецепторами торможения нейрональной активности ДЯШ. Полагают, что десенситизация 5-НТ(1А)-ауторецепторов ДЯШ и является одной из причин, отвечающих за поведенческие последствия неконтролируемого стресса [62].

Новые данные о большой сложности и гетерогенности ДЯШ представляют необходимый фундамент для понимания, как отдельные части ядра модулируют поведение, а кроме того, они важны для определения, какие нейрональные сети изменяются при тех или иных расстройствах мозга, в том числе и психических [11]. В частности, в вентролатеральной части ДЯШ описаны собственные 5-НТ-ергические интернейроны, которые обеспечивают связи внутри ДЯШ. Они осуществляют тормозный контроль за 5-НТ-нейронами дорсального и вентрального регионов ДЯШ, иннервирующих мПФК и миндалину. Оказывается, что во время сильного неконтролируемого стресса происходит мощный выброс 5-НТ из терминалей 5-НТ-интернейронов, хотя в отсутствие стресса эти интернейроны мало активны. Кроме того, включение нейрональной сети «ДЯШ–мПФК–миндалины» в реакцию на стресс зависит от функционирования 5-НТТ. Установлено, что вариабельность реаптейка 5-НТ (ключевого регулятора серотонинового сигнала) во время стресса может привести к дисбалансу в сети «миндалины–мПФК–ДЯШ» и, соответственно, к нарушению адекватной реакции на стресс и развитию депрессии. Показано, что функция

5-НТТ генетически обусловлена. 5-НТТ с коротким аллелем *S* в гене *SLC6A4* по сравнению с 5-НТТ с длинным аллелем *L* обеспечивает большую подверженность к стрессорным воздействиям и развитию депрессии. Ген с *S*-аллелем редуцирует объем серого вещества в ПФК, что ведет к потере функциональной связи ПФК с миндалиной и повышению ее активации в ответ на отрицательные стимулы [32]. Идентификация новых мишеней, а следовательно, и новых подходов к терапии душевных расстройств и тревожных состояний продолжается.

Литература

1. Abe C., Tanaka K., Iwata C., Morita H. // J. Appl. Physiol. 2010. Vol. 109, N 6. P. 1635–1643.
2. Abrams J. K., Johnson P. L., Hollis J. H., Lowry C. A. // Ann. N. Y. Acad. Sci. 2004. Vol. 1018. P. 46–57.
3. Abrams J. K., Johnson P. L., Hay-Schmidt A. et al. // Neuroscience. 2005. Vol. 133, N 4. P. 993–997.
4. Adori C., Low P., Ando R. D., Gutknecht L. et al. // Psychopharmacology. (Berl.) 2010. Vol. 213, N 2–3. P. 377–391.
5. Andrade R. // Neuropharmacology. 2011. Vol. 61, N 3. P. 382–386.
6. Azmitia E. C. // Brain Res Bull. 2001. Vol. 56, N 5. P. 413–424.
7. Balaban C. D. // Physiol. Behav. 2002. Vol. 77, N 4–5. P. 469–475.
8. Bishop G. A., Ho R. H. // Brain Res. 1985. Vol. 331, N 2. P. 195–207.
9. Bonnavion P., Bernard J. F., Hamon M. et al. // J. Comp. Neurol. 2010. Vol. 518, N 14. P. 2744–2770.
10. Bowker R. M., Westlund K. N., Coulter J. D. // Neurosci. Lett. 1981. Vol. 24, N 3. P. 221–226.
11. Calizo L. H., Akanwa A., Ma X. et al. // Neuropharmacology. 2011. Vol. 61, N 3. P. 524–543.
12. Carcaci-Salli N., Salli U., Runtz-Melrfvage K. L. et al. // Brain Res. Bull. 2011. Vol. 86, N 6. P. 376–380.
13. Charara A., Parent A. // Brain Res. 1994. Vol. 640, N 1–2. P. 155–170.
14. Chen W. Y., Wang J. J., Yu Q. X. // Sheng Li Xue Bao. 1996. Vol. 48, N 2. P. 132–140.
15. Commons K. G. // J. Chem. Neuroanat. 2009. Vol. 38, N 4. P. 273–281.
16. Cransac H., Cottet-Emard J. M., Pequignot J. M., Peyrin L. // J. Neural. Transm. 1996. Vol. 103, N 4. P. 391–401.
17. Cuomo-Granston A., Drummond P. D. // Prog. Neurobiol. 2010. Vol. 91, N 4. P. 300–312.
18. Da Veiga C. P., Miczek K. A., Lucion A. B., de Almeida R. M. // Psychopharmacology. (Berl.) 2010. Vol. 213, N 2–3. P. 475–487.
19. Del Cid-Pellitero T., Garzon M. // Neuroscience. 2011. Vol. 172. P. 30–43.
20. Di Mauro M., Fretto G., Caldera M., Li Volsi G. et al. // Neurosci. Lett. 2003. Vol. 347, N 2. P. 101–105.
21. Dray A., Davies J., Oakley N. R., Tongroach P., Vellucci S. // Brain Res. 1978. Vol. 151. P. 431–442.
22. Eskow K. L., Dupre K. B., Barnum C. J. et al. // Synapse. 2009. Vol. 63, N 7. P. 610–620.
23. Fuxe K., Hokfelt T., Ungerstedt U. // Metabolism of amines in the Brain. 1969. P. 10–22.
24. Geurts F. J., De Schutter E., Timmermans J. P. // J. Chem. Neuroanat. 2002. Vol. 24, N 1. P. 65–74.
25. Haber S. N., Knutson B. // Neuropsychopharmacology. 2010. Vol. 35, N 1. P. 4–26.
26. Halberstadt A. L., Balaban C. D. // Neuroscience. 2006. Vol. 140, N 3. P. 1067–1077.
27. Halberstadt A. L., Balaban D. C. // J. Clin. Neuroanat. 2008. Vol. 35, N 4. P. 317–325.
28. Hassanzadeh G., Zendedel A., Akbari M. et al. // Acta Med. Iran. 2010. Vol. 48, N 1. P. 1–8.
29. Hioki H., Nakamura H., Ma Y. F. et al. // J. Comp. Neurol. 2010. Vol. 518, N 5. P. 668–686.
30. Hsu D. T., Price J. L. // J. Comp. Neurol. 2009. Vol. 512, N 6. P. 825–848.
31. Ito H., Yamanouchi K. // Neurosci. Res. 2010. Vol. 67, N 1. P. 33–39.
32. Jasinska A. J., Lowry C. A., Burmeister M. // Trends Neurosci. 2012. Jan. 31.
33. Jeong H. S., Lim Y. C., Kim T. S. et al. // Neuroreport. 2003. Vol. 14, N 15. P. 2001–2004.
34. Kalén P., Karlson M., Wiklund L. // Brain Res. 1985. Vol. 360, N 1–2. P. 285–297.
35. Kelly K. J., Donner N. C., Hale M. W., Lowry C. A. // Neuroscience. 2011. Vol. 197. P. 251–268.
36. Kerr C. W., Bishop G. A. // J. Comp. Neurol. 1991. Vol. 304, N 3. P. 502–515.
37. Khalmuratova R., Hah Y. S., Ahn S. K. et al. // J. Vestib. Res. 2010. Vol. 20, N 6. P. 401–406.
38. Kim D. O., Yang X. M., Ye Y. // Exp. Brain Res. 2003. Vol. 153, N 4. P. 514–521.
39. Kitzman P. H., Bishop G. A. // J. Comp. Neurol. 1994. Vol. 340, N 4. P. 541–550.
40. Kivell B., Day D., Bosch P. et al. // Neuroscience. 2010. Vol. 168, N 1. P. 82–95.
41. Lanzenberger R., Wadsak W., Spindelegger C. et al. // Int. J. Neuropsychopharmacol. 2010. Vol. 13, N 9. P. 1129–1143.
42. Lechin F., vander Dijs B., Hernández-Adrián G. // Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry. 2006. Vol. 30, N 4. P. 565–585.
43. Lehrer J. F. // Int. Tinnitus J. 2004. Vol. 10, N 1. P. 84–86.
44. Lieben C. K., Steinbusch H. W., Blockland A. // Behav. Brain Res. 2006. Vol. 168, N 2. P. 197–207.
45. Liu S., Aungst J. L., Puche A. C., Shipley M. T. // J. Neurophysiol. 2012. Vol. 107, N 1. P. 473–483.
46. Lowry C. A., Johnson P. L., Hay-Schmidt A. et al. // Stress. 2005. Vol. 8, N 4. P. 233–246.
47. Lu Y., Simpson K. L., Weaver K. J., Lin R. C. // Anat. Rec. (Hoboken.) 2010. Vol. 293, N 11. P. 1954–1965.
48. Ma F. R., Liu J. X., Li X. P. et al. // Chin. Med. J. (Engl.) 2007. Vol. 120, N 2. P. 120–124.
49. Mallo T., Matrov D., Koiv K., Harro J. // Neuroscience. 2009. Vol. 164, N 3. P. 963–974.
50. Mtsuzaki S., Takada M., Li Y. Q. et al. // Neuroscience. 1993. Vol. 55, N 2. P. 403–416.
51. McQuade R., Sharp T. // J. Neurochem. 1997. Vol. 69, N 2. P. 791–796.

52. Matthews P. R., Harrison P. J. // *J. Affect. Disord.* 2012. Vol. 137, N 1–3. P. 125–134.
53. Miczek K. A., Yap J. J., Covington H. E. // *Pharmacol. Ther.* 2008. Vol. 120, N 2. P. 102–128.
54. Monti J. M. // *Sleep Med. Rev.* 2010. Vol. 14, N 5. P. 307–317.
55. Monti J. M. // *Sleep Med. Rev.* 2010. Vol. 14, N 5. P. 319–327.
56. Murano M., Saitow F., Suzuki H. // *Neuroscience.* 2011. Vol. 172. P. 118–128.
57. Okere C. O., Waterhouse B. D. // *Brain Res.* 2006. Vol. 1086, N 1. P. 117–132.
58. Peyron C., Luppi P. H., Kitahama K. et al. // *Neuroreport.* 1995. Vol. 6, N 18. P. 2527–2531.
59. Reisine T., Soubrie P., Artaud F., Glowinski J. // *Brain Res.* 1982. Vol. 232, N 1. P. 77–87.
60. Roberts A. C. // *Biol. Psychiatry.* 2011. Vol. 69, N 12. P. 1185–1191.
61. Rodríguez J., Noristani H. N., Hoover W. B. et al. // *Synapse.* 2011. Vol. 65, N 9. P. 919–928.
62. Rozeske R. R., Evans A. K., Frank M. G. et al. // *J. Neurosci.* 2011. Vol. 31, N 40. P. 14107–14115.
63. Saitow F., Murano M., Suzuki H. // *J. Neurophysiol.* 2009. Vol. 101, N 3. P. 1361–1374.
64. Sakai K. // *Neuroscience.* 2011. Vol. 197. P. 200–224.
65. Sasa M., Takeshita S., Amano T., Kurisu K. // *Biol. Sci. Space.* 2001. Vol. 15, N 4. P. 371–374.
66. Shin J. W., Geerling J. C., Loewy A. D. // *J. Comp. Neurol.* 2008. Vol. 511, N 5. P. 628–657.
67. Soiza-Reilly M., Commons K. G. // *J. Chem. Neuroanat.* 2011. Vol. 41, N 4. P. 247–255.
68. Spiga F., Lightman S. L., Shekhar A., Lowry A. // *Neuroscience.* 2006. Vol. 138, N 4. P. 1265–1276.
69. Starr M. A., Page M. E., Waterhouse B. D. // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2011. Vol. 340, N 1. P. 73–82.
70. Storozheva Z. I., Proshin A. T. // *Zh. Vyssh. Nerv. Deiat. im. I. P. Pavlova.* 2010. Vol. 60, N 4. P. 474–485.
71. Takahashi A., Shimamoto A., Doeson C. O. et al. // *J. Neurosci.* 2010. Vol. 30, N 35. P. 11771–11780.
72. Takano H., Ito H., Takahachi H. et al. // *Synapse.* 2011. Vol. 65, N 7. P. 624–633.
73. Tan S. K., Hartung H., Sharp T., Temel Y. // *Neuropharmacology.* 2011. Vol. 61, N 3. P. 387–399.
74. VanderKooy D., Hattori T. // *Brain Res.* 1980. Vol. 186. P. 1–7.
75. VanderKooy D., Hunt S. P., Steinbusch H. W., Verhofstad A. A. // *Neurosci. Lett.* 1981. Vol. 26, N 1. P. 25–30.
76. Vasudeva R. K., Lin R. C., Simpson K. L., Waterhouse B. B. // *J. Chem. Neuroanat.* 2011. Vol. 41, N 4. P. 281–293.
77. Vazquez-Borsetti P., Cortex R., Artigas I. // *Cerebral cortex.* 2009. Vol. 19, N 7. P. 1678–1686.
78. Vertes R. P. // *J. Comp. Neurol.* 1991. Vol. 313, N 4. P. 643–668.
79. Vertes R. P., Linley S. B., Hoover W. B. // *Brain Struct. Funct.* 2010. Vol. 215, N 1. P. 1–28.
80. Wallman M. J., Gagnon D., Parent M. // *Eur. J. Neurosci.* 2011. Vol. 41, N 4. P. 256–265.
81. Wang S., Zhang Q. J., Liu J. et al. // *Neuroscience.* 2009. Vol. 159, N 2. P. 850–861.
82. Waterhouse B. D., Devilbiss D., Seiple S., Markowitz R. // *Brain Res.* 2004. Vol. 1000, N 1–2. P. 183–191.
83. Yamakawa G. R., Antle M. C. // *Eur. J. Neurosci.* 2010. Vol. 31, N 11. P. 1974–1983.
84. Ye Y., Kim D. O. // *Acta Otolaryngol.* 2001. Vol. 121, N 2. P. 284–288.

G. K. TROPNIKOVA, S. Ya. KILIN

STRUCTURE AND FUNCTIONS OF THE DORSAL NUCLEUS OF THE SATURE OF THE BRAIN STEM

Summary

The review of the literature on the methods of topography of cell bodies and terminals of heterogeneous neurons of the dorsal raphe nucleus of the brain stem and on the features of colocalization of different neurotransmitters in them. Special attention is paid to the functional role of serotonin- and non-serotonin projections for the new cortex, structure of basal ganglia, limbic and vestibular systems, as well as for the cerebellum. New information will be of help to understand more clearly the mechanisms of neuropsychiatric diseases, psychosomatic disturbances, as well as to make their diagnosis and treatment more effective.

РЕФЕРАТЫ

УДК 616.441-006.6-089-053

Фридман М. В., Савва Н. Н., Маньковская С. В., Ромашевская И. П., Демидчик Ю. Е. **Ретроспективный анализ «ятрогенного» и «криптогенного» папиллярного рака щитовидной железы у детей и подростков** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 5–14.

Проведен сравнительный ретроспективный клиничко-морфологический анализ случаев «ятрогенного» и «криптогенного» папиллярного рака щитовидной железы у детей и подростков. Установлено, что в отличие от «криптогенной» карциномы «ятрогенный» рак чаще диагностировался у лиц мужского пола, характеризовался повышенной склонностью к экстрагитреоидному распространению, метастатическому поражению ипсилатеральных лимфатических узлов шеи и отсутствием фонового тиреоидита.

Табл. 5. Библиогр. – 20 назв.

УДК 616.831-005.8:616-092.18

Анацкая Л. Н., Гончарова Н. В., Потаннев М. П., Щербина Н. И., Матусевич Л. И. **Роль циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток и эндотелиального фактора роста в остром периоде лакунарных инфарктов мозга при церебральной микроангиопатии** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 5–21.

Проведено исследование уровня циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток, сосудистого эндотелиального фактора роста и эндотелина-1 в остром периоде лакунарных инфарктов мозга (ЛИМ) при церебральной микроангиопатии на фоне хронической ишемии мозга в зависимости от церебральной гемодинамики. Установлена неоднородность субпопуляционного состава эндотелиальных прогениторных клеток в остром периоде ЛИМ, находящихся на различных стадиях созревания, что обусловлено хронической эндотелиальной дисфункцией микроциркуляторного русла, приводящей к перманентной эндотелиодеструкции. Показано, что в остром периоде ЛИМ при церебральной микроангиопатии и гипоперфузии ведущим маркером эндотелиальной дисфункции является дисрегуляция процессов ангиогенеза, при этом сосудистый эндотелиальный фактор роста выполняет эндотелиопротекторную функцию за счет ингибирования апоптоза, а не ангиогенную, как предполагалось.

Табл. 5. Ил. 2. Библиогр. – 17 назв.

УДК 616.127-08:629.048.3

Басалай М. В., Барсукевич В. Ч., Булгак А. Г., Мрочек А. Г. **Локальное и дистантное ишемическое кондиционирование миокарда: поиск возможностей кардиопротекции** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 22–28.

Изучена возможность потенцирования противоишемического эффекта при комбинированном воздействии позднего дистантного ишемического посткондиционирования с локальным или дистантным ишемическим прекондиционированием миокарда. Эксперименты были проведены на 40 крысах-самцах массой 250–350 г. Животные контрольной группы подвергались только 30-минутной ишемии (ОИМ) и 120-минутной реперфузии миокарда (контроль; $n = 7$). Крысы опытных групп дополнительно подвергались: трем ишемическим воздействиям, осуществляемым путем окклюзии коронарной артерии, длительностью 3, 5 и 5 мин, разделенным между собой и отделенным от начала ОИМ 5-минутными интервалами реперфузии миокарда (ИПК; $n = 7$); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий за 25 мин до начала ОИМ (ДИПК; $n = 7$); двухсторонней 15-минутной окклюзии бедренных артерий через 10 мин после ОИМ (ДИПостК10'; $n = 7$); комбинированному воздействию ИПК и ДИПостК10' (ИПК + ДИПостК10'; $n = 6$) или комбинированному воздействию ДИПК и ДИПостК10' (ДИПК + ДИПостК10'; $n = 6$). Размер инфаркта миокарда в контрольной группе составил $46 \pm 3\%$. В группах ИПК, ДИПК и ДИПостК10' происходило уменьшение зоны некроза на 59, 57 и 48% соответственно ($P < 0,001$ в сравнении с группой контроля). Размер инфаркта в группе ИПК + ДИПостК10' со-

ставил $17 \pm 2\%$ ($P > 0,05$ по сравнению с группами ИПК и ДИПостК10'), в группе ДИПК + ДИПостК10' – $24 \pm 2\%$ ($P > 0,05$ по сравнению с группами ДИПК и ДИПостК10'). Полученные результаты свидетельствуют об отсутствии дополнительного противоишемического эффекта при комбинированном воздействии позднего дистантного ишемического посткондиционирования с локальным или дистантным ишемическим прекодиционированием миокарда.

Табл. 1. Ил. 3. Библиограф. – 30 назв.

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

Исайкина Я. И., Марейко Ю. Е., Прудников Д. В., Минаковская Н. В., Спивак Л. В., Алейникова О. В. Восстановление гемопоэза после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток у детей с онкогематологическими заболеваниями // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 29–37.

Исследовано влияние на восстановление кроветворения после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток (ГСК) у детей таких факторов, как HLA-совместимость между донором и реципиентом, режимы кондиционирования, клеточный состав трансплантата. В исследовании были включены 126 пациентов, 75 из которых проведена аллотрансплантация костного мозга, 36 – периферической стволовой клетки (ПСК), 15 – фракция CD34+ клеток после селекции. Пациенты получили как совместимый по HLA локусам (Match HLA) донорский трансплантат, так и несовместимый (Mismatch HLA). Результаты показали отсутствие различий по срокам восстановления гемопоэза в зависимости от HLA-совместимости при трансплантации костного мозга. При трансплантации ПСК реконституция всех ростков кроветворения происходила быстрее в группе получивших Match HLA трансплантат ($P < 0,05$). У пациентов, получивших Mismatch HLA ПСК, наблюдалась обратная зависимость между содержанием в трансплантате ядросодержащих клеток (ЯСК)/кг и CD34+ клеток/кг и временем восстановления лейкоцитов ($-0,67, P = 0,02$, и $-0,69, P = 0,02$) и нейтрофилов ($-0,70, P = 0,01$, и $-0,63, P = 0,01$). В группе детей, получивших Match HLA ПСК, такой зависимости не прослеживалось. После трансплантации фракции CD34+ клеток также наблюдалась задержка восстановления кроветворения у пациентов, получивших Mismatch HLA трансплантат ($P < 0,05$). Кроме того, у пациентов, получивших миелоаблативный режим кондиционирования до аллотрансплантации фракции CD34+ клеток, восстановление гемопоэза проходило медленнее, чем у детей, которым проводили немиелоаблативное кондиционирование ($P < 0,05$). Сделан вывод о негативном влиянии несовместимости по HLA локусам между донором и реципиентом на скорость реконституции кроветворения при трансплантации как ПСК, так и CD34+ клеток после селекции, о высокой степени зависимости в случае HLA несовместимости сроков восстановления гемопоэза у пациента от содержания в трансплантате ЯСК/кг и CD34+/кг, а также о влиянии интенсивности режима кондиционирования на скорость восстановления гемопоэза у пациентов после трансплантации фракции аллогенных CD34+ клеток.

Установленная нами группа риска по задержке восстановления гемопоэза после аллогенной трансплантации ГСК и, соответственно, по удлинению периода цитопении с угрозой развития ассоциированных с ней осложнений состоит из пациентов, получивших несовместимый по HLA локусам трансплантат или мобилизованных ПСК с низким содержанием ЯСК и CD34+ клеток или с низкой дозой CD34+ клеток после селекции, особенно при использовании миелоаблативного режима кондиционирования.

Табл. 1. Ил. 4. Библиогр. – 26 назв.

УДК 616.98:578.828 + 616-002.5

Суркова Л. К. Патоморфологические особенности туберкулеза легких на поздних стадиях ВИЧ-инфекции // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 38–41.

На материале патологоанатомических вскрытий умерших от туберкулеза в сочетании с ВИЧ/СПИД-инфекцией (15 пациентов) и туберкулеза без ВИЧ-инфекции (10 пациентов) изучена причина летальности и патоморфологические проявления туберкулеза.

Установлено, что непосредственной причиной смерти у 73,3% умерших от ВИЧ/ТБ явились генерализованные формы туберкулеза, при этом у 46,6% туберкулез являлся одним из заболеваний, которые развились в период прогрессирования ВИЧ-инфекции (криптококкоз, пневмоцистная пневмония, бронхолегочный аспергиллез, кандидозная пневмония, герпетическая инфекция).

Указанные особенности патоморфологических проявлений ВИЧ-ассоциированного туберкулеза позволяют оптимизировать морфологическую диагностику туберкулеза на поздних стадиях ВИЧ-инфекции.

Библиогр. – 10 назв.

УДК 616.314-089:616.314-76-026.569

Луцкая И. К., Кавецкий В. П. **Критерии качества препарирования опорных зубов при изготовлении адгезивных волоконных конструкций** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 42–47.

Рассматриваются вопросы препарирования опорных зубов при изготовлении адгезивных волоконных конструкций. Разработаны критерии оценки качества препарирования зубов при различных вариантах расположения армирующего каркаса. Проанализировано влияние качества препарирования на проведение дальнейших этапов изготовления адгезивных конструкций. Детализированы основные требования к отпрепарированным полостям при подготовке опорных зубов под различные виды протезов.

Библиогр. – 16 назв.

УДК 616.8-009.832 + 616.853

Лихачев С. А., Рыбакова В. Д., Пархач Л. П. **Оценка оксигенации коры головного мозга у пациентов с преходящими потерями сознания по данным церебральной оксиметрии** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 48–54.

Изучены параметры оксигенации тканей у пациентов с нейрогенными обмороками (НО) и эпилептическими приступами (ЭП) в межприступном периоде с использованием оксиметра Somanetics 5100C (INVOS cerebral/somatic oximeter). Установлено снижение показателей rSO_2 у пациентов с преходящими потерями сознания (ППС) по сравнению со здоровыми лицами. У пациентов с ЭП вне зависимости от латерализации эпилептиформной активности по данным электроэнцефалографии и у пациентов с НО наблюдается превышение rSO_2 в кортикальных отделах правого полушария головного мозга. Установлено, что высокие значения коэффициента межполушарной асимметрии, превышение rSO_2 в кортикальных отделах головного мозга над показателями rSO_2 мышц предплечий характерны для пациентов с ЭП.

Ил. 4. Библиогр. – 25 назв.

УДК 615.214.32:591.4.08

Гайдук А. В., Бизунок Н. А., Дубовик Б. В. **Фармакодинамическое взаимодействие антидепрессантов тианептина и сертралина** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 55–59.

Тианептин и сертралин при комбинированном применении проявляют синергичный антидепрессантный эффект, оцениваемый по критерию продолжительности иммобилизации в tail suspension test на мышцах линии C57Bl/6. В тесте «вынужденное плавание» Порсольта в опытах на крысах линии Wistar комбинация тианептина и сертралина обладает выраженным когнитивным потенциалом, проявляющимся усилением процесса габитуации.

Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. – 15 назв.

УДК 616.441-006.6-089.168.1-097

Митюкова Т. А., Леонова Т. А., Окулевич Н. М., Платонова Т. Ю., Дрозд В. М. **Антитела к антигенам бета-клеток поджелудочной железы у оперированных пациентов с карциномой щитовидной железы** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 60–67.

Оценена частота диагностических уровней антител к антигенам инсулярной ткани (антител к инсулину (IAA), антител к островковому аппарату поджелудочной железы (ICA), антител к декарбоксилазе глутаминовой кислоты (GAD)) у пациентов, прооперированных по поводу дифференцированного рака щитовидной железы (ДРЩЖ), изучена их связь с факторами лечения, а также с носительством антител к тиреоглобулину (АТ-ТГ). Обследование пациентов с ДРЩЖ выявило высокий процент ICA (17,2%), что достоверно отличалось от контроля (0,6%). Частота обнаружения двух других типов инсулярных антител (IAA и GAD) была сопоставима с частотой аналогичных показателей у лиц из группы контроля. Носительство ICA преобладало у пациентов с избыточной массой тела (29,3%) по сравнению с лицами с нормальной массой тела (5,3%), а также по сравнению с лицами с избыточной и нормальной массой тела из группы контроля (1,3 и 0%). Корреляция между носительством инсулярных антител и АТ-ТГ отсутствовала. Полученные данные, вероятно, указывают на повышенный риск развития аутоиммунного варианта сахарного диабета у лиц с носительством ICA.

Ил. 8. Библиогр. – 24 назв.

УДК 616.314.163-089.819.843-036.1-07-035

Федоринчик О. В. Клинико-лабораторное обоснование выбора силера для пломбирования корневых каналов зубов // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 68–76.

В клинико-лабораторных условиях проведен ретроспективный анализ амбулаторных карт; изучена зависимость электровозбудимости пульпы зуба от наличия и размеров пломбы, а также заболеваний пародонта; проведены исследования физико-механических свойств силеров для временного и постоянного пломбирования корневых каналов; определен хронометраж времени, необходимого для проведения качественной механической обработки стенок корневого канала; даны показания к временному пломбированию корневых каналов постоянных зубов.

Табл. 3. Ил. 2. Библиогр. – 11 назв.

УДК [612.82:615.272.6:517.21]-092.9

Шейбак В. М., Дорошенко Е. М., Горецкая М. В., Лях И. В. Влияние аспартата цинка и таурина на пул свободных аминокислот в головном мозге крыс // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 77–81.

Исследованы уровни свободных аминокислот в отделах мозга крыс через 1 и 24 ч после отдельного и совместного с таурином введения аспартата цинка. Показано, что в гипоталамусе большее влияние на уровень и метаболизм свободных аминокислот оказывает совместное введение таурина и аспартата цинка. В среднем мозге таурин вносит меньший вклад в совместные эффекты этих соединений, чем в гипоталамусе и стриатуме, при этом наибольшие изменения структуры фонда аминокислот отмечаются через 1 ч после введения препаратов. В стриатуме наибольшие колебания уровней нейромедиаторных аминокислот наблюдаются при совместном введении исследуемых соединений, при этом введение таурина пролонгирует нейромодулирующее действие аспартата цинка.

Табл. 3. Библиогр. – 14 назв.

УДК 575.224.085

Огурцова С. Э., Афонин В. Ю., Малей Л. П., Малашевич Я. В., Теплоухова Ю. С. Роль экспрессии гена *NMO1* в биоактивации хиноновых промутагенов // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 82–85.

Приведены результаты экспериментального исследования модификации мутагенного эффекта хиноновых противоопухолевых промутагенов. Показано, что индукция экспрессии гена *NMO1* атаксантином снижает мутагенный эффект как митомицина С, так и стрептонирина, что выражается в снижении частоты абберрантных клеток, нагруженности их абберрациями, отсутствии хроматидных обменов.

Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. – 10 назв.

УДК 611.438-018.1/2:612.112.92.015.1

Беловешкин А. Г., Студеникина Т. М. Морфофункциональные аспекты взаимосвязи кровеносных сосудов и телец Гассалья тимуса человека // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 86–91.

Полученные нами результаты свидетельствуют о тесном взаимодействии сосудов и телец Гассалья мозгового вещества тимуса. Несмотря на отсутствие прямого контакта, показано, что роль связующих элементов между сосудами и тельцами Гассалья играют каналы-проводники – тяжи эпителиальных клеток, способные пропускать *in vivo* ряд молекул в полость тельца. Также установлено, что источником формирования телец Гассалья являются клетки периваскулярного эпителия преимущественно посткапиллярных венул мозгового вещества. Таким образом, полость тельца имеет функциональный контакт с кровеносными сосудами, который пропускает внутрь тельца ряд соединений и дренирует полость тельца при разрушении кератинового ядра, что может быть важным механизмом распределения антигенов в мозговом веществе.

Ил. 3. Библиогр. – 17 назв.

УДК 615.214.24.001.8:615.322

Кравченко Е. В., Понтелева И. В., Максимова Л. В., Ольгомец Л. М. **Исследование ГАМК-, холин-, дофамин- и глутаматергической систем в механизме действия фитопрепарата «Рациум»** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 92–96.

Исследовано участие ГАМК-, холин-, дофамин- и глутаматергической систем в механизме действия фитопрепарата «Рациум». Показано, что противотревожное действие «Рациума» обусловлено взаимодействием его активных компонентов с ГАМК_A-рецепторами. Ввиду отсутствия у фитопрепарата способности влиять на дофаминергическую и холинергическую нейротрансмиссии «Рациум» может применяться совместно с другими лекарственными средствами, обладающими тропностью к дофаминергической и холинергической системам.

Табл. 3. Ил. 2. Библиогр. – 15 назв.

УДК 615.46.47:678.046.76

Дубкова В. И., Соловский М. В., Смирнова М. Ю., Панарин Е. Ф., Крутько Н. П., Маевская О. И., Белясова Н. А. **Полимерно-композиционные целлюлозные и углеволокнистые материалы с антимикробной активностью** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 97–103.

Синтезированы полимерные комплексы антибиотиков-аминогликозидов (гентамицина, амикацина и канамицина) с нетоксичными водорастворимыми карбоксилсодержащими сополимерами акриламида. Разработан способ иммобилизации синтезированных полимерных комплексов на фосфатцеллюлозной и фосфоруглеродной подложке, приводящий к прививке полимерных комплексов к модифицированной поверхности материала-подложки. Полученные полимерно-композиционные волокнистые материалы характеризуются выраженными антибактериальными свойствами по отношению к испытанным штаммам бактерий: *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus* sp.

Табл. 1. Ил. 5. Библиогр. – 26 назв.

УДК 615.23.015.4

Дудко Н. В., Кирножицкая Н. В., Матюшонков И. А., Мурзина М. В., Наумовец Е. В., Руденок А. Н. **Стимуляция клеточного дыхания лекарственным средством «Диавитол» *in vitro*** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 104–110.

Лекарственное средство гемодиализат «Диавитол» повышает скорость потребления кислорода не только гомогенатом печени крысы, но и значительно эффективнее – клетками дрожжей *Candida utilis*. Показано, что возрастание скорости дыхания клеток под влиянием гемодиализата обусловлено активированием терминального звена электрон-транспортной цепи митохондрий – цитохром *c* оксидазы.

Табл. 1. Ил. 2. Библиогр. – 23 назв.

УДК 612.8.015

Тропникова Г. К., Клилин С. Я. **Структура и функции дорсального ядра шва ствола головного мозга** // Весці НАН Беларусі. Сер. мед. навук. 2012. № 3. С. 111–123.

Представлен обзор литературы по методам топографии клеточных тел и терминалей гетерогенных нейронов дорсального ядра шва ствола мозга и особенностям колоколизации в них различных нейротрансмиттеров. Особое внимание уделено функциональной роли серотонин- и несеротонинергических проекций к новой коре, структурам базальных ганглиев, лимбической и вестибулярной системам, а также к мозжечку. Новые сведения послужат более точному пониманию механизмов нейропсихиатрических заболеваний, включая депрессию, нейродегенеративные болезни, психосоматические расстройства, более точной их диагностике и эффективному лечению.

Библиогр. – 84 назв.