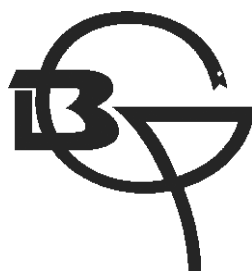


РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ

БЮЛЛЕТЕНЬ
ВОСТОЧНО-СИБИРСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА



№ 5 (99)

2014

ИРКУТСК

Главный редактор

Колесников С.И., академик РАН (Россия, Иркутск – Москва)

Зам. главного редактора

Долгих В.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Григорьев Е.Г., чл.-корр. РАН (Россия, Иркутск)

Щуко А.Г., д.м.н., профессор, (Россия, Иркутск)

Ответственный секретарь

Карпова Т.Г. (Россия, Иркутск)

Редакционная коллегия

Балахонов С.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Колесникова Л.И., чл.-корр. РАН (Россия, Иркутск)

Мадаева И.М., д.м.н. (Россия, Иркутск)

Малов И.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Муамар Аль-Джефут, доктор медицины, профессор (Иордания, Эль-Карак)

Савилов Е.Д., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Сорокиных В.А., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Шпрах В.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск)

Юрьева Т.Н., д.м.н. (Россия, Иркутск)

Редакционный совет

Атшабар Б.Б., д.м.н., профессор (Казахстан, Алматы); Белов А.М., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Белокриницкая Т.Е., д.м.н. (Россия, Чита), Бохан Н.А., д.м.н., профессор (Россия, Томск); Бычков И.В., академик РАН (Россия, Иркутск); Данчинова Г.А., д.б.н. (Россия, Иркутск); Дубровина В.И., д.б.н. (Россия, Иркутск); Константинов Ю.М., д.б.н., профессор (Россия, Иркутск); Кожевников В.В., д.м.н., профессор (Россия, Улан-Удэ); Луценко М.Т., академик РАН (Россия, Благовещенск); Мазуцава Т., доктор наук, профессор (Япония, Чита); Макаров Л.М., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Малышев В.В., д.м.н., профессор (Россия, Калининград); Манчук В.Т., чл.-корр. РАН (Россия, Красноярск); Никитенко Л.Л., д.б.н. (Великобритания, Оксфорд); Нямдаваа П., академик Монгольской академии наук (Монголия, Улан-Батор); Огарков О.Б., д.м.н. (Россия, Иркутск); Протопопова Н.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Рычкова Л.В., д.м.н. (Россия, Иркутск); Савченков М.Ф., академик РАН (Россия, Иркутск); Салеев Р.К., чл.-корр. РАН (Россия, Иркутск); Сутурина Л.В., д.м.н., профессор (Россия, Иркутск); Сэргэлэн О., д.м.н. профессор (Монголия, Улан-Батор); Такакура К., доктор наук, профессор (Япония, Токио); Уварова Е.В., д.м.н., профессор (Россия, Москва); Янагихара Р., доктор наук, профессор (США, Гавайи).

Авторы опубликованных материалов несут ответственность за подбор и точность приведенных фактов, цитат, статистических данных и прочих сведений, а также за то, что в материалах не содержится данных, не подлежащих открытой публикации.

Мнение автора может не совпадать с мнением редакции.

Адрес редакции: 664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16.

ФГБНУ НЦ ПЗСРЧ.

Тел. (3952) 20-90-48.

E-mail: sikol@sbamsr.irk.ru

Бюллетень Восточно-Сибирского научного центра Сибирского отделения Российской Академии медицинских наук зарегистрирован в Федеральной службе по надзору в сфере связи, информационных технологий и массовых коммуникаций. Свидетельство о регистрации СМИ – ПИ № 7-58651 от 21 июня 2014 г.

Основан в 1993 году.

Учредители – Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, д. 16), Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Иркутский научный центр хирургии и травматологии» (664003, г. Иркутск, ул. Борцов Революции, д. 1), Федеральное государственное бюджетное учреждение «Межотраслевой научно-технический комплекс «Микрохирургия глаза» имени академика С.Н. Федорова» Министерства здравоохранения Российской Федерации (127486, г. Москва, Бескудниковский б-р, д. 59 А).

Бюллетень включен в Реферативный журнал и базу данных ВИНТИ. Сведения о журнале публикуются в международной справочной системе по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory».

Бюллетень ВСНЦ СО РАМН входит в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата и доктора наук».

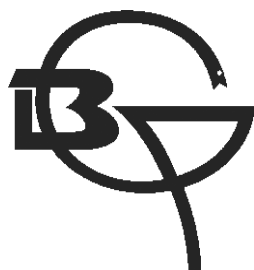
Подписной индекс 24347.

Ключевое название: *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo naucnogo centra*

Сокращенное название: *Bull. Vost.-Sib. naucn. cent.*

RUSSIAN ACADEMY OF MEDICAL SCIENCES
SIBERIAN BRANCH

BULLETIN
OF EASTERN-SIBERIAN SCIENTIFIC CENTER



N 5 (99)

2014

IRKUTSK

Chief Editor

Kolesnikov S.I., Academician of RAS (Russia, Irkutsk – Moscow)

Deputy Chief Editor

Dolgikh V.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Grigoryev E.G., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)

Shchuko A.G., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Executive secretary

Karpova T.G. (Russia, Irkutsk)

Editorial board

Balakhonov S.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Kolesnikova L.I., Corresponding Member of RAS (Russia, Irkutsk)

Madaeva I.M., Doctor of Medical Sciences (Russia, Irkutsk)

Malov I.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Moamar Al-Jefout, MD, Professor (Jordan, Al Karak)

Savilov E.D., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Sorokovikov V.A., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Shprakh V.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (Russia, Irkutsk)

Yurieva T.N., Doctor of Medical Sciences (Russia, Irkutsk)

Editorial Council

Atshabar B.B., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Kazakhstan, Almaty*); Belov A.M., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Moscow*); Belokrinitskaya T.E., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Chita*); Bokhan N.A., Doctor of Medical Sciences (*Russia, Tomsk*); Bychkov I.V., Academician of RAS (*Russia, Irkutsk*); Danchinova G.A., Doctor of Biological Sciences (*Russia, Irkutsk*); Dubrovina V.I., Doctor of Biological Sciences (*Russia, Irkutsk*); Konstantinov Yu.M., Doctor of Biological Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Kozhevnikov V.V., Doctor of Medical Science, professor (*Russia, Ulan-Ude*); Lutsenko M.T., Academician of RAS (*Russia, Blagoveshchensk*); Mazutsava T., MD, Professor (*Japan, Chiba*); Makarov L.M., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Moscow*); Malyshev V.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Kaliningrad*); Manchouk V.T., Corresponding Member of RAS (*Russia, Krasnoyarsk*); Nikitenko L.L., Doctor of Biological Sciences (*UK, Oxford*); Nyamdavaa P., Academician of Mongolian Academy of Sciences (*Mongolia, Ulaanbaatar*); Protopopova N.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Rychkova L.V., Doctor of Medical Sciences (*Russia, Irkutsk*); Savchenkov M.F., Academician of RAS (*Russia, Irkutsk*); Salyajev R.K., Corresponding Member of RAS (*Russia, Irkutsk*); Suturina L.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Irkutsk*); Sergelen O., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Mongolia, Ulaanbaatar*); Takakura K., MD, Professor (*Japan, Tokyo*); Uvarova E.V., Doctor of Medical Sciences, Professor (*Russia, Moscow*); Yanagihara R., MD, Professor (*USA, Hawaii*)

The authors of the published articles account for choice and accuracy of presented facts, quotations, historical data and other information; the authors are also responsible for not presenting data which are not meant for open publication.

The opinion of the authors may not coincide with that of editorial board.

Address of editorial board: 16, Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003

SC FHHRP.

Tel. (3952) 20-90-48.

E-mail: sikol@sbamsr.irk.ru

Bulletin of Eastern-Siberian Scientific Center of Siberian Branch of Russian Academy of Medical Sciences is registered in Federal Service of Supervision in communication sphere, information technologies and mass media. Certificate of Mass Media Registration – ПИ № 7-58651 of 21 June 2014.

The Bulletin has been founded in 1993.

Founders – Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (16, Timiryazev str., Irkutsk, Russia, 664003), Irkutsk Scientific Center of Surgery and Traumatology (1, Bortsov Revolutsii str., Irkutsk, Russia, 664003), Interbranch Scientific and Technical Complex «Eye Microsurgery» named after Academician S.N. Fyodorov (59A, Beskudnikovskiy blvd., Moscow, 127486).

Bulletin is included in Abstract Journal and Data base of All-Russian Institute of Scientific and Technical Information. Information about the Bulletin is published in international question-answering system of periodicals and continued publications "Ulrich's Periodicals Directory".

Bulletin ESSC SB RAMS is included in «List of Russian reviewed scientific periodicals where main scientific results of dissertations for a degree of Candidate and Doctor of Science should be published»

Subscription index 24347.

Key title: Bulleten' Vostocno-Sibirskogo nauchnogo centra

Abbreviated key title: Bull. Vost.-Sib. nauchn. cent.

СОДЕРЖАНИЕ

CONTENTS

Клиническая медицина

- Алексеева Н.С., Салмина-Хвостова О.И. Аффективные расстройства у пациентов с метаболическим синдромом 9
- Зубкова Е.В., Дворниченко В.В., Манькова Т.Л. Анализ причин летальности при неходжкинских лимфомах в отделении химиотерапии опухолей Иркутского областного онкологического диспансера в 2011–2013 гг. 13
- Кузьмина О.К. Клинические предикторы кальцификации ксеноаортальных биопротезов клапанов сердца 17
- Прокопьева М.Л., Винокуров Е.В., Собенников В.С. Клинические и клинико-психологические особенности соматизированных депрессий 20
- Ходаковская Г.Ф. Сравнительный нейропсихологический анализ особенностей слухоречевой памяти у первоклассников с разной успешностью обучения 24
- Чудинова Е.Л., Шолохов Л.Ф., Колесникова Л.И., Федоров Б.А., Рашидова М.А. Оценка функционального состояния гипоталамико-гипофизарно-гонадной системы у женщин репродуктивного возраста, больных острым гепатитом А 27

Клинические исследования
и испытания медицинских изделий

- Хуторная М.В., Понасенко А.В., Байракова Ю.В., Головкин А.С. Взаимосвязь полиморфизмов гена *IL1B* и табакокурения с риском возникновения инфаркта миокарда 30

Экспериментальные исследования

- Анганова Е.В., Савилов Е.Д., Ушкарева О.А., Аблов А.М., Духанина А.В. Способность патогенных и условно-патогенных энтеробактерий к формированию биопленок 34
- Боровская Т.Г., Камалова С.И., Кривова Н.А., Заева О.Б., Фомина Т.И., Полукткова М.Е., Вычужанина А.В., Щемерова Ю.А., Григорьева В.А., Гольдберг В.Е., Плотников М.Б. Влияние п-тирозолола на морфологию и антиоксидантно-прооксидантный баланс предстательной железы крыс при индуцированной сульпиридом доброкачественной гиперплазии 38
- Бухарова Е.В., Попкова С.М., Ракова Е.Б., Джисоев Ю.П., Шабанова Н.М., Немченко У.М., Иванова Е.И. Детек-

Clinical medicine

- Alekseeva N.S., Salmina-Khvostova O.I. Affective disorders in patients with metabolic syndrome
- Zubkova E.V., Dvornichenko V.V., Mankova T.L. Analysis of mortality at non-Hodgkin lymphomas in the unit of cancer chemotherapy of Irkutsk Regional Oncologic Dispensary in 2011–2013
- Kuzmina O.K. Clinical predictors of calcification of xenoaortic biological prosthesis of valves
- Prokopjeva M.L., Vinokurov E.V., Sobennikov V.S. Clinical and clinical-psychological profiles of somatized depressions
- Khodakovskaya G.F. Comparative neuropsychological analysis of audio-verbal memory features in first-formers with different learning success
- Chudinova E.L., Sholokhov L.F., Kolesnikova L.I., Fyodorov B.A., Rashidova M.A. Assessment of functional state of the pituitary-gonadal system in fertile women with acute hepatitis A

Clinical studies
and medical products testing

- Khutornaya M.V., Ponasenko A.V., Bayrakova Yu.V., Golovkin A.S. Relationship between *IL1B* gene polymorphism and smoking with the risk of myocardial infarction

Experimental researches

- Anganova E.V., Savilov E.D., Ushkareva O.A., Ablov A.M., Dukhanina A.V. Ability of pathogenic and opportunistic pathogenic Enterobacteriaceae to the formation of biofilms
- Borovskaya T.G., Kamalova S.I., Krivova N.A., Zaeva O.B., Fomina T.I., Poluektova M.Ye., Vychuzhanina A.V., Shchemerova Y.A., Grigorieva V.A., Goldberg V.Ye., Plotnikov M.B. Influence of p-thyrozol on the morphology and antioxidant-prooxidant balance in prostate of rats at sulpiride-induced benign prostatic hyperplasia
- Bukharova E.V., Popkova S.M., Rakova E.B., Dzhiyoev Yu.P., Shabanova N.M., Nemchenko U.M., Ivanova E.I. Detec-

- ция генетических маркеров факторов патогенности при ассоциативном симбиозе аутоштаммов *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus aureus*, выделенных от детей первого года жизни 44
- Вантеева О.А., Федоров Б.А. Глутатион у женщин с гемоконтактными вирусными гепатитами В и С 48
- Войткова В.В., Дубровина В.И., Витязева С.А., Старовойтова Т.П., Корытов К.М., Балахонов С.В. Изменение состава лимфоцитов селезенки при воздействии на экспериментальных животных аргентогалактоманана и аргенто-поли-1-винил-1,2,4-триазола 52
- Натяганова Л.В., Гаврилова О.А., Колесникова Л.Р. Оценка системы липопероксидации – антиоксидантной защиты у детей с эссенциальной артериальной гипертензией методами спектрофотометрии и хемилюминесценции 56
- Романова Р.С., Шантанова Л.Н., Мондодоев А.Г. Противосудорожное действие сухого экстракта корней *Paeonia anomala* L. 60
- Рыбалкина О.Ю., Лопатина К.А., Сафонова Е.А., Ефимова Л.А. Перспективы использования альгината натрия с различной молекулярной массой в комплексной терапии злокачественных новообразований 63
- Старовойтова Т.П., Иванова Т.А., Мухтургин Г.Б., Витязева С.А., Дубровина В.И., Корытов К.М., Балахонов С.В. Изменения клеточного состава перитонеальной жидкости белых мышей при инфекционном процессе, вызванном *Yersinia pestis* с различным плазмидным составом 68
- Шабанова Н.М., Джисоев Ю.П., Бухарова Е.В., Попкова С.М., Кочерыгина Е.В., Ракова Е.Б., Ерофеева О.В., Лесничая М.В., Кузнецов С.В., Сухов Б.Г. Видовая субстратная специфичность роста лактобацилл из вагинального биотопа на культуральных средах с включениями разных типов природных нанополисахаридов 72
- tion of genetic markers of pathogenicity factors at associative symbiosis of *Klebsiella* spp. and *Staphylococcus aureus* autostrains, isolated from infants
- Vanteeva O.A., Fedorov B.A. Glutathione in women with blood-borne viral hepatitis B and C
- Voytkova V.V., Dubrovina V.I., Vityazeva S.A., Starovoytova T.P., Korytov K.M., Balakhonov S.V. Change of the composition of splenic lymphocytes at the effect of argentogalactomanann and argento-poly-1-vinyl-1,2,4-triazole on the experimental animals
- Natyaganova L.V., Gavrilova O.A., Kolesnikova L.R. Assessment of the system of lipid peroxidation – antioxidant defense in children with essential arterial hypertension by the methods of spectrophotometry and chemiluminescence
- Romanova R.S., Shantanova L.N., Mondodoev A.G. Anticonvulsant effect of dry extract from the roots of *Paeonia anomala* L.
- Rybalkina O.Yu., Lopatina K.A., Safonova E.A., Efimova L.A. Perspectives of using sodium alginate with different molecular weight in the complex cancer therapy
- Starovoytova T.P., Ivanova T.A., Mukhturgin G.B., Vityazeva S.A., Dubrovina V.I., Korytov K.M., Balakhonov S.V. Changes in cellular components of peritoneal fluid of white mice with infection caused by *Yersinia pestis* with different plasmid profile
- Shabanova N.M., Dzhiyoev Yu.P., Bukharova E.V., Popkova S.M., Kocherygina E.V., Rakova E.B., Erofeeva O.V., Lesnichaya M.V., Kuznetsov S.V., Sukhov B.G. Species substrate specificity of growth of lactobacilli isolated from vaginal biotope on culture medium with inclusions of different types of natural nanopolysaccharides

Клиническая фармакология и лекарственные средства

- Горноста́й Т.Г., Чхенке́ли В.А., Пензи́на Т.А., Поляко́ва М.С., Боровский Г.Б. Изучение антирадикальной и антимикробной активности водно-спиртовых экстрактов плодовых тел и мицелия *Inonotus rheades* (pers.) Bondartsev & Singer 76
- Gornostay T.G., Chkhenkeli V.A., Penzina T.A., Polyakova M.S., Borovskiy G.B. Research of antioxidant and antimicrobial activity of aqueous alcoholic extracts from mycothallus and mycelium of *Inonotus rheades* (pers.) Bondartsev & Singer

Обзоры

- Променашева Т.Е., Колесниченко Л.С., Козлова Н.М. Роль оксидативного стресса и системы глутатиона в патогенезе неалкогольной жировой болезни печени 80
- Семёнова Н.В. Гормонально-метаболический профиль у женщин с инсомническими расстройствами в менопаузе 84
- Promenasheva T.E., Kolesnichenko L.S., Kozlova N.M. Role of oxidative stress and glutathione system in the pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease
- Semyonova N.V. Hormonal-metabolic profile in menopausal women with insomnia

Reviews

Геномика и протеомика

- Иванова Е.И., Попкова С.М., Джиоев Ю.П., Долгих В.В., Ракова Е.Б., Бухарова Е.В. Детекция некоторых генов, кодирующих факторы патогенности у типичных изолятов *Escherichia coli* 89
- Калюжная О.В., Баирова Т.А., Долгих В.В., Колесников С.И. Изучение полиморфизма S1/S2 (C3238G, rs5128) аполипопротеина C3 в европейской популяции Восточной Сибири 95
- Сенькина А.Ю., Баирова Т.А., Колесников С.И., Калюжная О.В. Сравнительная оценка распространенности полиморфизма (-455)G>A гена фибриногена у подростков разных популяций Восточной Сибири 98

Разное

- Кузева О.В., Романова А.А., Корнеев А.А., Ахутина Т.В. Нейропсихологический анализ особенностей становления графомоторных навыков у младших школьников 101

Информация

- Савченков М.Ф. Рецензия на монографию «Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения при ликвидации последствий наводнения на Дальнем Востоке» (под ред. Г.Г. Онищенко, С.В. Балахонова) 106
- Правила оформления статей в «Бюллетень ВСНЦ СО РАМН» 108

Genomics and proteomics

- Ivanova E.I., Popkova S.M., Dzhioev Yu.P., Dolgikh V.V., Rakova E.B., Bukharova E.V. Detection of some genes encoding pathogenicity factors in the typical isolates of *Escherichia coli*
- Kalyuzhnaya O.V., Bairova T.A., Dolgikh V.V., Kolesnikov S.I. Study of apolipoprotein C3 S1/S2 (C3238G, rs5128) polymorphism in Caucasian population of Eastern Siberia
- Senkina A.Yu., Bairova T.A., Kolesnikov S.I., Kalyuzhnaya O.V. Comparative assessment of prevalence of fibrinogen (-455)G>A gene polymorphism in teenagers from various populations of Eastern Siberia

Miscellanea

- Kuzeva O.V., Romanova A.A., Korneev A.A., Akhutina T.V. Neuropsychological analysis of peculiarities of formation of graphomotor skills in primary school children

Information

- Savchenkov M.F. Monograph review "Sanitary and epidemiological welfare of the population at flood relief in the Far East" (edited by G.G. Onishchenko, S.V. Balakhonov)
- Rules of publication of articles in «Bulletin ESSC SB RAMS»

КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА

УДК 616.895.4:616-056.52+616.379-008.64+616.12-008.331.1

Н.С. Алексеева, О.И. Салмина-Хвостова

АФФЕКТИВНЫЕ РАССТРОЙСТВА У ПАЦИЕНТОВ С МЕТАБОЛИЧЕСКИМ СИНДРОМОМ

Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей (Новокузнецк)

Исследование проведено среди 625 пациентов в возрасте от 25 до 70 лет с абдоминальным ожирением (женщин – 51,2 %, мужчин – 48,8 %). Аффективные расстройства (депрессию) выявили у 42,9 % пациентов с различными компонентами метаболического синдрома (МС). Аффективные расстройства способствовали возникновению и дальнейшему прогрессированию компонентов МС, оказывая неблагоприятное влияние на его течение. С увеличением длительности существования компонентов МС депрессивные состояния диагностировались чаще.

Ключевые слова: аффективные расстройства, депрессия, метаболический синдром, абдоминальное ожирение, сахарный диабет 2-го типа

AFFECTIVE DISORDERS IN PATIENTS WITH METABOLIC SYNDROME

N.S. Alekseeva, O.I. Salmina-Khvostova

Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine, Novokuznetsk

The research was conducted among 625 patients aged from 25 to 70 years with abdominal obesity (51,2 % women and 48,8 % men). Affective disorders (depressed mood) were revealed in 42,9 % of patients with various metabolic syndrome (MS) components. Affective disorders caused appearance and further advance of MS components, having negative influence on its course. At the increase of duration of existence of separate MS components the depressions were diagnosed more often.

Key words: affective disorders, depression, metabolic syndrome, abdominal obesity, type 2 diabetes mellitus

Аффективные расстройства являются гетерогенными, наиболее распространенными психическими заболеваниями зрелого возраста, сопровождающимися снижением социального функционирования и трудоспособности, преждевременной смертью и возрастающими экономическими затратами. Среди аффективных состояний, выявляемых у пациентов с метаболическим синдромом (МС), наиболее частыми являются депрессии. На протяжении жизни депрессию переносят 7–12 % мужчин и 20–25 % женщин [10]. В настоящее время проблему депрессии следует рассматривать как общемедицинскую. Этому способствует высокая коморбидность депрессии со многими соматическими заболеваниями, в особенности с СД и сердечно-сосудистыми. Пациенты, страдающие депрессивным расстройством, имеют высокий риск смерти от сердечно-сосудистой патологии. Связующим звеном между депрессией, СД и сердечно-сосудистыми заболеваниями является МС [14, 15].

Эпидемиологические исследования свидетельствуют о связи депрессивных и метаболических нарушений [10]. Распространенность МС в общей популяции довольно высока и колеблется от 14 до 24 %, среди лиц с нарушением толерантности к глюкозе она составляет 50 %, а при сахарном диабете (СД) 2-го типа – 80 % [3, 7]. Однако в группе пациентов, страдающих депрессией, проявления МС встречаются

чаще. У людей перенесших хотя бы один эпизод депрессии, распространенность МС составляет 36 % [8, 10]. У пациентов, которые в течение 6 лет страдают депрессией, распространенность увеличивается до 58 % [8]. У пациентов с наличием не менее трех компонентов МС депрессивная симптоматика выявляется в 61,5 % случаев [12].

В общесоматической клинике депрессивная симптоматика чаще всего своевременно не диагностируется и не лечится, так как у больных общетерапевтического профиля, как правило, наблюдаются маскированные депрессии. Классические депрессивные проявления мало выражены, а в ряде случаев не определяются вовсе. В этих ситуациях на первый план зачастую выходит и занимает доминирующее положение соматовегетативная симптоматика. При этом возможности выявления депрессивного расстройства резко минимизируются. Так, при предъявлении психологических жалоб депрессия диагностируется врачами общей практики в 90 % случаев, а при наличии изолированных соматических жалоб – только в 47 %.

Чаще всего «масками» депрессии являются различные нарушения сна (трудности засыпания, ещё чаще – раннее пробуждение или повышенная сонливость), нарушения аппетита (выраженное снижение или повышение), изменения массы тела, повышенная утомляемость и раздражительность,

хронический болевой синдром разной локализации (чаще всего кардиалгии, головные боли, боли в спине), вегетативные расстройства (приступы сердцебиения, одышки, головокружения), различные нарушения в сексуальной сфере, что довольно часто выявляется при МС [5, 6].

В настоящее время широко изучается вероятностная связь отдельных компонентов МС и депрессии, имеются убедительные данные, указывающие на гендерные различия в отношении физиологических и психологических аспектов сердечно-сосудистых заболеваний и МС [1, 9, 11]. У женщин с наличием депрессии выявлен повышенный риск развития двух из пяти основных компонентов развития МС – увеличение окружности талии и увеличение уровня глюкозы, а также имеется тенденция к ассоциации с другими тремя компонентами (низкий уровень липопротеинов высокой плотности, гипертония и увеличение уровня триглицеридов). Таким образом, у женщин имеется коморбидная связь со всеми компонентами МС. У мужчин депрессивная симптоматика была связана только с абдоминальным типом ожирения – одним обязательным компонентом МС [13]. Возможно, из-за того, что МС может быть диагностирован только при наличии не менее трех компонентов, у женщин более четко определяется связь депрессивных нарушений и МС. Аффективные нарушения могут являться ранним признаком, а зачастую и провоцирующим моментом в возникновении и дальнейшем прогрессировании компонентов МС, оказывая неблагоприятное влияние на его течение. Депрессия и вызванная ей гиперактивность гипоталамо-надпочечниковой системы приводят к развитию МС, висцерального ожирения и инсулинорезистентности [14, 15].

В литературе имеются весьма убедительные доказательства негативного влияния аффективных расстройств, в частности депрессии, на комплайнс пациентов с МС. Важную роль при этом играют трудности коммуникации с медперсоналом, снижающие удовлетворенность пациента лечением в целом и отдельными визитами к врачу в частности. В результате такие больные чаще отмечают побочные действия лекарств и в два раза чаще обращаются к врачам, требуют к себе больше внимания и потребляют непропорционально большую долю медицинских ресурсов. В связи с этим некоторым пациентам не удаётся достичь оптимального контроля заболевания [4].

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить влияние аффективных расстройств (депрессии) на компоненты метаболического синдрома и выявить их взаимосвязь.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании принимали участие 625 пациентов с абдоминальным ожирением (51,2 % женщин и 48,8 % мужчин, возраст – от 25 до 70 лет), находившихся на стационарном лечении в 2011–2012 гг. в терапевтическом отделении МБЛПУ «ГКБ № 5» г. Новокузнецка. Диагностику компонентов МС осуществляли, согласно рекомендациям экспертов

Всероссийского научного общества кардиологов (ВНОК, 2009). Основным критерием МС являлся центральный (абдоминальный) тип ожирения – окружность талии (ОТ) более 80 см у женщин и более 94 см у мужчин. Дополнительными критериями были артериальная гипертония (АД $\geq 130/85$ мм рт. ст.), повышение уровня триглицеридов (ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л), снижение уровня холестерина липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП $< 1,0$ ммоль/л у мужчин, $< 1,2$ ммоль/л у женщин), повышение уровня холестерина липопротеинов низкой плотности (ХС ЛПНП $> 3,0$ ммоль/л), гипергликемия натощак (глюкоза в плазме крови натощак $\geq 6,1$ ммоль/л) и НТГ (7,8 $\leq$ глюкоза в плазме крови через 2 часа после нагрузки глюкозой в пределах $\geq 11,1$ ммоль/л). Наличие у больного центрального ожирения и двух из дополнительных критериев являлись основанием для диагностирования у него МС. Избыточную массу тела и ожирение выявили на основании индекса массы тела (ИМТ) Кетле (1997). ИМТ – отношение массы тела (в кг) к росту (в м²). Нормальную массу тела диагностировали при ИМТ = 18,5–24,9 кг/м², избыточную массу тела – при ИМТ = 25,0–29,9 кг/м², ожирение 1-й степени – при ИМТ = 30,0–34,9 кг/м², ожирение 2-й степени – при ИМТ = 35,0–39,9 кг/м², ожирение 3-й степени – при ИМТ = 40 кг/м² и более. Для оценки резистентности к инсулину использовали индекс инсулинорезистентности НОМА-IR. Индекс НОМА-IR рассчитывают по формуле: НОМА-IR = глюкоза натощак (ммоль/л) $\times$ инсулин натощак (мкЕд/мл) / 22,5. За оптимальный показатель НОМА-IR принимается значение 1,0. При повышении уровня глюкозы или инсулина натощак индекс НОМА-IR, соответственно, растёт. Индекс НОМА-IR не входит в основные диагностические критерии МС, но его используют в качестве дополнительных лабораторных исследований этого профиля. Для самооценки уровня депрессии использовали шкалу Цунга (Zung W.W., 1965). Определение типологии нарушений пищевого поведения проводилось с использованием опросника DEBQ. Биохимическое исследование сыворотки крови (определение концентрации ТГ, уровня ХС ЛПВП, ХС ЛПНП и глюкозы) проводили ферментативными методами на аппарате Konelab-30i. Гормональное исследование (кортизол) определяли методом иммуноферментного анализа в сыворотке крови. Наличие вредных привычек, особенностей образа жизни, двигательной активности и пищевого рациона изучали по специально разработанной авторами анкете. Статистическая обработка результатов осуществлялась с использованием пакета прикладных статистических программ Statistica 6.0 и электронных таблиц Microsoft Excel 2003.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Центральный тип ожирения: объем талии (ОТ) более 94 см выявили у 48,8 % мужчин, ОТ более 80 см – у 51,2 % женщин. Нормальную массу тела диагностировали у 5,6 % пациентов, избыточную массу тела – у 25,3 % пациентов, ожирение 1-й степени – у 31,8 %, ожирение 2-й степени – у 26,6 %, ожирение 3-й степени – у 10,7 %. Артериальную гипертонию

(АД $\geq 130/85$ мм рт. ст.) зарегистрировали у 77,9 % пациентов. Повышение уровня ХС ЛПНП $> 3,0$ ммоль/л выявили у 65,9 % пациентов. Повышение уровня ХС ЛПВП $< 1,0$ ммоль/л диагностировали у 57,4 % мужчин и $< 1,2$ ммоль/л – у 51,9 % женщин. Повышение уровня ТГ $\geq 1,7$ ммоль/л диагностировали у 63 % пациентов. Нарушение гликемии натощак выявили у 4 %, НТГ – у 7,2 % и СД 2-го типа – у 41 %.

При выяснении анамнеза компонентов МС было выявлено, что избыточный вес в течение 5 лет наблюдался у 24,2 % пациентов, от 5 до 10 лет – у 43,9 %, более 10 лет – у 31,9 % пациентов. Артериальная гипертензия в течение 5 лет была выявлена в 27,1 % случаев, от 5 до 10 лет – в 33,1 % случаев, более 10 лет – в 39,8 % случаев. СД 2-го типа в течение 1 года был выявлен у 5,1 % пациентов, стаж данного заболевания от 1 года до 5 лет наблюдался у 18,4 %, от 5 до 10 лет – у 32,8 %, более 10 лет – у 43,8 % пациентов.

Изучение факторов риска МС выявило несбалансированное питание у 71,8 % пациентов, гиподинамию – у 78,4 %, нарушение пищевого поведения – у 72 %. Рациональный тип пищевого поведения наблюдался у 28 % пациентов, эмоциогенный – у 29,1 %, экстернальный – у 21,8 %, ограничительный – у 11,3 %, смешанный – у 9,8 %.

Депрессивные состояния отмечены у 42,9 % пациентов (33,4 % мужчин и 51,8 % женщин) с различными компонентами МС. Легкие депрессивные состояния были диагностированы у 25,7 % пациентов, средние (умеренные) – у 69,8 %, тяжелые – у 4,5 %. При этом признаки тяжелой депрессии были диагностированы у пациентов, в анамнезе у которых длительность компонентов МС составляла 10 лет и более, наблюдалось сочетание абдоминального типа ожирения и трех и более дополнительных критериев компонентов МС. У данных пациентов чаще наблюдалась декомпенсация углеводного обмена, нестабильность артериального давления и нарушение диетических и медикаментозных рекомендаций. При определении уровня кортизола в сыворотке крови было выявлено, что гиперкортизолемию наблюдалась у 86,2 % пациентов с депрессивными состояниями. При этом концентрация кортизола у пациентов с тяжелыми и средними депрессивными нарушениями была выше в 1,3–1,6 раза, чем у пациентов с легкими.

При наличии СД 2-го типа депрессивные нарушения выявлялись в 31,9 % случаев. По данным литературы, распространенность депрессий при СД по меньшей мере в 2 раза выше, чем у лиц без СД, и составляет 14,4–41,3 %, причём тяжесть депрессивных проявлений коррелирует со многими симптомами МС [1, 2, 6]. При длительности СД 2-го типа до 5 лет депрессивные состояния встречались у 21,7 % пациентов, при стаже заболевания от 5 до 10 лет – у 32,1 % пациентов, более 10 лет – у 40,2 %. При сочетании депрессивной симптоматики и СД 2-го типа чаще наблюдались нарушения диетических рекомендаций, ухудшение гликемического контроля, развития и прогрессирования диабетических осложнений.

При избыточной массе тела и ожирении депрессивная симптоматика была диагностирована у 40,8 % пациентов. По данным авторов, при депрессиях избы-

точный вес наблюдается в 18–42,4 % случаев [1, 2, 4]. При наличии в анамнезе избыточного веса со стажем до 5 лет депрессивные состояния выявили у 31,5 % пациентов, при стаже заболевания от 5 до 10 лет – у 41,7 %, более 10 лет – у 46,8 % пациентов. Довольно большое количество встречаемости при избыточном весе депрессивных нарушений было выявлено у пациентов, у которых наблюдалось сочетание абдоминального типа отложения подкожно-жировой клетчатки и двух или трех дополнительных критериев компонентов МС. Сочетание абдоминального типа ожирения и двух или трех дополнительных критериев МС было выявлено в 40,8 % и 35,8 % случаев соответственно. Наличие депрессивной симптоматики усугубляло приверженность к рекомендуемой терапии у пациентов с избыточной массой тела и ожирением.

У пациентов с артериальной гипертензией депрессивные нарушения наблюдались у 40,9 % пациентов. При наличии в анамнезе артериальной гипертензии со стажем до 5 лет депрессивные состояния были диагностированы у 29,5 % пациентов, при стаже заболевания от 5 до 10 лет – у 42,2 %, более 10 лет – у 47,4 % пациентов.

При диагностике аффективных нарушений, в частности депрессии, наблюдалось большее увеличение индекса инсулинорезистентности НОМА-IR. При выявлении легкой депрессивной симптоматики индекс инсулинорезистентности НОМА-IR в среднем соответствовал $2,85 \pm 0,35$, при умеренной и тяжелой депрессивной симптоматике – $4,05 \pm 0,55$ и $5,1 \pm 0,25$ соответственно.

При аффективных расстройствах (депрессии) наблюдалась большая частота встречаемости таких факторов риска МС, как несбалансированное питание (58,7 % пациентов), гиподинамия (52,6 %), курение (62,3 %). При сочетании абдоминального типа ожирения и двух дополнительных критериев МС депрессивные состояния выявлялись в 33,6 % случаев. При сочетании абдоминального типа отложения подкожно-жировой клетчатки и трех дополнительных критериев компонентов МС депрессивные нарушения выявлялись в 46,2 % случаев.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования была выявлена связь аффективных расстройств (депрессии) и метаболических нарушений. У пациентов с депрессивными состояниями чаще наблюдалось увеличение частоты встречаемости компонентов и факторов риска МС. Аффективные нарушения способствовали возникновению и дальнейшему прогрессированию компонентов МС, оказывая неблагоприятное влияние на его течение. При увеличении длительности существования отдельных компонентов МС депрессивные состояния диагностировались чаще. Аффективные расстройства (депрессия) при МС негативно влияют на приверженность к назначаемой терапии, тем самым затрудняют понимание пациентом медицинских рекомендаций и снижают готовность следовать им. Профилактические или лечебные мероприятия должны быть направлены на всю совокупность факторов риска МС, включая и аффективные расстройства.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Алексеева Н.С., Салмина-Хвостова О.И. Депрессивные нарушения у пациентов с метаболическим синдромом // Сибирский вестник психиатрии и наркологии. – 2013. – № 3 (78). – С. 28–32.

Alekseeva N.S., Salmina-Khvostova O.I. Depressive disorders in patients with metabolic syndrome // Sibirskij vestnik psichiatrii i narkologii. – 2013. – N 3 (78). – P. 28–32. (in Russian)

2. Анциферов М.Б., Мельникова О.Г., Дробизhev М.Ю., Захарчук Т.А. Сахарный диабет и депрессивные расстройства // Русский медицинский журнал. – 2003. – № 27. – С. 1480–1483.

Antsiferov M.B., Melnikova O.G., Drobizhev M.Yu., Zakharchuk T.A. Diabetes and depressive disorders // Russkij medicinskij zhurnal. – 2003. – N 27. – P. 1480–1483. (in Russian)

3. Консенсус российских экспертов по проблеме метаболического синдрома в РФ: определение, диагностические критерии, первичная профилактика и лечение // Актуальные вопросы болезней сердца и сосудов (Consilium Medicum). – 2010. – № 2. – С. 4–11.

Consensus of the Russian experts on the problem of metabolic syndrome in the Russian Federation: definition, diagnostic criteria, primary prevention and treatment // Aktual'nye voprosy boleznej serdca i sosudov (Consilium Medicum). – 2010. – N 2. – P. 4–11. (in Russian)

4. Салмина-Хвостова О.И. Расстройство пищевого поведения при ожирении (эпидемиологический, клинико-динамический, превентивный, реабилитационный аспекты): Автореф. дис. ... докт. мед. наук. – Томск, 2008. – 42 с.

Salmina-Khvostova O.I. Eating disorder at obesity (epidemiological, clinical dynamic, preventive, rehabilitation aspects): Abstract of medical doctoral thesis. – Tomsk, 2008. – 42 p. (in Russian)

5. Симаненков В.И. Психосоматические аспекты депрессии в общетерапевтической практике // Клиническое питание. – 2005. – № 4. – С. 27–30.

Simanenkova V.I. Psychosomatic aspects of depression in therapeutic practice // Klinicheskoe pitanie. – 2005. – N 4. – P. 27–30. (in Russian)

6. Смулевич А.Б. Депрессии в общей медицине. – М.: Медицинское информационное агентство, 2001. – 256 с.

Smulevitch A.B. Depressions in general medicine. – Moscow: Medicinskoe informacionnoe agentstvo, 2001. – 256 p. (in Russian)

7. Чазова И.Е., Мычка В.Б. Метаболический синдром, сахарный диабет 2 типа и артериальная гипертензия // Сердце: журнал для практикующих врачей. – 2003. – Т. 2, № 3. – С. 102–104.

Chazova I.E., Mychka V.B. Metabolic syndrome, diabetes mellitus type 2 and arterial hypertension // Serdce: zhurnal dlja praktikujushhih vrachej. – 2003. – Vol. 2, N 3. – P. 102–104. (in Russian)

8. Heiskanen T.H., Niskanen L.K., Hintikka J.J. et al. Metabolic syndrome and depression: a cross-sectional analysis // J. Clin. Psychiat. – 2006. – Vol. 67. – P. 422–427.

9. Hyde J.S. The gender similarities hypothesis // Am. Psychol. – 2005. – Vol. 60. – P. 581–592.

10. Kinder L.S., Carnethon M.R., Palaniappan L.P. et al. Depression and the metabolic syndrome in young adults: Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey // Psychosom. Med. – 2004. – Vol. 66. – P. 316–322.

11. Regitz-Zagrosek V., Lehmkuhl E., Weickert M.O. Gender differences in the metabolic syndrome and their role for cardiovascular disease // Clin. Res. Cardiol. – 2006. – Vol. 95. – P. 136–47.

12. Skilton M.R., Moulin P. et al. Associations between anxiety, depression, and the metabolic syndrome // Biol. Psychiat. – 2007. – Vol. 62. – P. 1251–1257.

13. Toker S., Shirom A., Melamed S. Depression and the metabolic syndrome: gender-dependent associations // Depression Anxiety. – 2007. – Vol. 25, N 8 – P. 661–669.

14. Vogelzangs N., Suthers K., Ferrucci L. et al. Hypercortisolemic depression is associated with the metabolic syndrome in late-life // Psychoneuroendocrinology. – 2007. – Vol. 32, N 2 – P. 151–159.

15. Weber-Hamann B., Werner M., Hentschel F. et al. Metabolic changes in elderly patients with major depression: evidence for increased accumulation of visceral fat at follow-up // Psychoneuroendocrinology. – 2006. – Vol. 31. – P. 347–354.

Сведения об авторах

Алексеева Наталья Сергеевна – кандидат медицинских наук, доцент кафедры общей гигиены и эпидемиологии Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей (654005, г. Новокузнецк, пр. Строителей, 5; тел.: 8 (3843) 45-13-44, факс: 8 (3843) 45-42-19; e-mail: natali-sim82@mail.ru)

Салмина-Хвостова Ольга Ивановна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой психиатрии, психотерапии и наркологии Новокузнецкого государственного института усовершенствования врачей (тел.: 8 (3843) 45-56-01; e-mail: Olga997006@rambler.ru)

Information about the authors

Alekseeva Natalia Sergeevna – Candidate of Medical Sciences, Assistant Professor of the Department of Common Hygiene and Epidemiology of Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine (Stroiteley av., 5, Novokuznetsk, 654005; tel.: +7 (3843) 45-13-44, fax: +7 (3843) 45-42-19; e-mail: natali-sim82@mail.ru)

Salmina-Khvostova Olga Ivanovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Psychiatry, Psychotherapy and Narcology of Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medicine (tel.: +7 (3843) 45-56-01; e-mail: Olga997006@rambler.ru)

Е.В. Зубкова ¹, В.В. Дворниченко ^{2, 3, 4}, Т.Л. Манькова ²

АНАЛИЗ ПРИЧИН ЛЕТАЛЬНОСТИ ПРИ НЕХОДЖКИНСКИХ ЛИМФОМАХ В ОТДЕЛЕНИИ ХИМИОТЕРАПИИ ОПУХОЛЕЙ ИРКУТСКОГО ОБЛАСТНОГО ОНКОЛОГИЧЕСКОГО ДИСПАНСЕРА В 2011–2013 ГГ.

¹ Педагогический институт Иркутского государственного университета (Иркутск)² Иркутский областной онкологический диспансер (Иркутск)³ Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)⁴ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

Проанализированы 29 случаев смертельных исходов от неходжкинских лимфом (НХЛ) в стационаре. 89 % погибших имели запущенную стадию опухоли, морфологически агрессивный вид, а 86,2 % – изначально неблагоприятный прогноз течения заболевания. Наиболее частой причиной смерти явился сепсис (55 %). Чаще всего источником инфекции являлись пневмония (68,8 %) и желудочно-кишечный тракт (31,3 %). Частота декомпенсированного геморрагического шока среди умерших от НХЛ пациентов составила 24 %. Синдром лизиса опухоли явился причиной стационарной летальности от НХЛ в 17 % случаев.

Ключевые слова: неходжкинские лимфомы, стационарная летальность

ANALYSIS OF MORTALITY AT NON-HODGKIN LYMPHOMAS IN THE UNIT OF CANCER CHEMOTHERAPY OF IRKUTSK REGIONAL ONCOLOGIC DISPENSARY IN 2011–2013

E.V. Zubkova ¹, V.V. Dvornichenko ^{2, 3, 4}, T.L. Mankova ²¹ Teaching Institute of Irkutsk State University, Irkutsk² Irkutsk Regional Oncologic Dispensary, Irkutsk³ Irkutsk State Medical University, Irkutsk⁴ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

We analyzed 29 fatal cases caused by non-Hodgkin lymphomas in the hospital. 89 % of deceased had advanced malignancy, morphologically aggressive type, 86,2 % had initially unfavorable prognosis for a disease. The most common cause of death was sepsis (55 %). The most often source of infection were pneumonia (68,8 %) and gastrointestinal tract (31,3 %). The frequency of decompensated hemorrhagic shock of patients died of non-Hodgkin lymphomas was 24 %. Tumor lysis syndrome was the cause of hospital mortality of non-Hodgkin lymphomas in 17 % of cases.

Key words: non-Hodgkin lymphomas, hospital mortality

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на улучшение результатов терапии пациентов, страдающих неходжкинскими лимфомами (НХЛ), связанное с широким внедрением в клиническую практику комбинированного лечения этих опухолей, интенсификацией химиотерапевтических режимов, использованием таргетных препаратов, расширением показаний к трансплантации гемопоэтических стволовых клеток, показатели смертности при этой нозологии ежегодно увеличиваются на 2–4 %. Во многом это связано с увеличением числа агрессивных форм НХЛ [2].

Причинами наступления летального исхода может быть как неблагоприятное течение самого заболевания, так и осложнения его лечения, и здесь на первый план выходит так называемая цитостатическая болезнь, проявляющаяся развитием постцитостатической панцитопении, токсического гепатита, некротической энтеропатии, а также непосредственно связанных с нею инфекционных осложнений, развитием геморрагического синдрома [3]. Кроме того, нельзя не отметить такие специфические расстройства, как синдром лизиса опухоли, синдром верхней полой вены, наличие опухолевых выпотов, которые не только ухудшают течение основного заболевания, но и зачастую являются непосредственной причиной смерти пациентов [4].

Миелосупрессия, индуцированная цитостатической терапией, считается ключевым фактором риска развития инфекции [1]. Частота развития инфекционных осложнений в период агранулоцитоза составляет более 80 % [3]. Летальность зависит от вида возбудителя и колеблется в пределах от 5 % (коагулазо-негативный стафилококк) до 40 % и более (ванкомицин-резистентный энтерококк) при бактериальных инфекциях, а при инвазивных микозах может достигать 85–100 % [3].

Геморрагический синдром может проявляться кровоточивостью различной степени выраженности и локализации. Так, кровотечения из верхних отделов желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются достаточно распространенными состояниями, летальность при которых достигает 10 % [4].

Литературные данные о непосредственных причинах стационарной летальности и частоте их развития при НХЛ крайне скудны и разрозненны, а на территории Иркутской области они не оценивались ни разу. Это послужило толчком к началу данного исследования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Работа выполнена на базе отделения химиотерапии опухолей и патологоанатомического отделения Иркутского областного онкологического диспансера. Нами была проанализирована первичная медицин-

ская документация: истории болезней и протоколы аутопсий пациентов с неходжкинскими лимфомами, умерших в отделении в 2011–2013 гг.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

За период с 2011 по 2013 гг. включительно в отделении химиотерапии Иркутского областного онкологического диспансера умерли 29 пациентов, страдавших различными вариантами неходжкинских лимфом: из них мужчин – 44,8 % (13 случаев), женщин – 55,2 % (16 случаев). Средний возраст умерших составил 56 лет (28–82 года). Распределение пациентов по морфологическим вариантам опухолей представлено в таблице 1.

Таблица 1
Характеристика пациентов с неходжкинскими лимфомами, умерших в отделении химиотерапии опухолей ГБУЗ ООД г. Иркутска в 2011–2013 гг. по морфологическому варианту опухоли

Вид лимфомы	Количество
Неходжкинские лимфомы первичные	23
диффузная В-крупноклеточная	17
лимфома Бёркитта	1
из клеток зоны мантии	1
маргинальная зона	2
ангиоиммуобластная Т-клеточная	1
В-клеточная, неутонченная	1
Неходжкинские лимфомы, рецидив	2
I ранний – диффузная В-крупноклеточная	1
I поздний – фолликулярная G2	1
Неходжкинские лимфомы, непрерывно-рецидивирующее течение	4
диффузная В-крупноклеточная	2
периферическая Т-клеточная, неутонченная	1
Т-крупноклеточная анапластическая ALK+	1
Всего НХЛ	29

Из проанализированных нами пациентов первичные больные составили 79,3 % (23 человека), 2 пациента (6,9 %) имели рецидив заболевания (1 человек – I ранний, 1 человек – I поздний), у 4 пациентов (13,8 %) заболевание носило непрерывно-рецидивирующий характер; 4 пациентов имели метакронный вариант первично-множественного рака, причём лимфопролиферативное заболевание было второй опухолью. Трое из них в плане комплексного и комбинированного лечения по поводу первой злокачественной опухоли получали иммуносупрессивную лучевую и/или химиотерапию, а одна пациентка страдала терминальной стадией ВИЧ-инфекции.

Определение факторов риска в соответствии с Международным прогностическим индексом (IPI/FLIPI) показало, что 25 (86,2 %) больных НХЛ изначально имели плохой прогноз заболевания. Общее состояние пациентов по шкале ECOG на момент диагностики в 27 случаях из 29 (93 %) было расценено как ECOG II и выше. 6 пациентов имели выраженный дефицит

массы тела, 11 страдали избыточным весом вплоть до ожирения III степени. У подавляющего большинства пациентов (25 человек (86 %)) отмечалась IV стадия заболевания, в 1 случае – III стадия, у 2 пациентов была установлена II стадия, у 1 пациента – I стадия. 28 человек имели мультифокальные экстранодальные поражения, из них 25 (89 %) – множественные.

5 пациентов имели сопутствующее хроническое вирусное поражение печени (ХВГ В – 2 человека, ХВГ С – 3 человека). 2 пациентов перенесли вирусный гепатит А в детстве. Одна пациентка страдала ВИЧ-инфекцией и хроническим вирусным гепатитом С в течение 14 лет (эпидемиологический номер с 1999 г., инъекционный путь заражения, 12 месяцев антиретровирусной терапии).

Наиболее часто встречающейся сопутствующей соматической патологией была артериальная гипертензия (1/3 пациентов), ишемическая болезнь сердца (в том числе перенесённый острый инфаркт миокарда – в анамнезе у 1 пациента), язвенная болезнь желудка и двенадцатипёрстной кишки, атеросклероз. Отмечены единичные случаи хронического обструктивного бронхита, пиелонефрита, остеомиелита, болезни Шагренна, варикозной болезни вен нижних конечностей, цирроза печени на фоне хронического вирусного гепатита, гематогенной тромбофилии.

28 пациентов из 29 получали химиотерапевтическое лечение. 1 пациентка в возрасте 82 лет с поражением желудка и двенадцатипёрстной кишки погибла от желудочно-кишечного кровотечения до начала специального лечения. 20 человек получали индукционную терапию, 10 из них – первый курс. 4 пациентам была назначена паллиативная «salvage»-терапия по поводу непрерывно рецидивирующего течения болезни, 2 – лечение рецидива. Двое пациентов закончили программу лечения (RCHOP-21 и RCHOP-14 № 8) и находились в ремиссии основного заболевания. Протоколы химиотерапевтического лечения представлены в таблице 2.

При попытке оценить непосредственные результаты лечения в соответствии с критериями Международной рабочей группы (1999 г.) у первичных пациентов выяснилось, что у 10 человек этого сделать невозможно по причине наступления смерти после 1-го индукционного курса. У 4 пациентов клинически отмечена положительная динамика в виде сокращения размеров пальпируемых периферических лимфоузлов, уменьшения или полного исчезновения симптомов интоксикации, однако это не было подтверждено объективными методами обследования в связи со смертью от осложнений химиотерапии. У 1 пациента констатирована частичная ремиссия, у 2 – полная ремиссия длительностью 5 и 8 месяцев. У 3 пациентов клинически отмечена отрицательная динамика. У всех пациентов с рецидивами и непрерывно рецидивирующим течением заболевания выявлено прогрессирование болезни как на I, так и на II линии полихимиотерапии.

71 % пациентов (20 случаев) в качестве осложнения проводимого лечения имели панцитопению разной степени выраженности. Нейтропения I и II степеней развилась у 1 пациента, III – у 2 пациентов, 15 человек (75 %) находились в агранулоцитозе. В среднем паде-

Таблица 2

Протоколы ведения пациентов с неходжкинскими лимфомами

Схема курсов	Индукция ремиссии	Лечение рецидива	Паллиативная химиотерапия
Схема курсов I линии	CP – 4 случая COP – 3 случая CHOP-21 – 6 случаев CHOP-14 – 2 случая RCHOP-21 – 3 случая RCHOP-14 – 1 случай R-GemCarbo – 1 случай Hyper-CVAD – 1 случай EP* – 1 случай	RCHOP-21 – 1 случай R-моно – 1 случай	CHOP-14 – 1 случай CHOP-21 – 1 случай RCHOP-14 – 1 случай RCHOP-21 – 1 случай
Схема курсов II линии	CAV* – 1 случай RCHOP – 1 случай	HD Mtx – 1 случай GA101 + Бендамустин – 1 случай	Hyper-CVAD – 1 случай ICE – 3 случая

Примечание: * – в связи с неверно установленным диагнозом рака лёгкого; CP – профаза циклофосфан, преднизолон; COP – циклофосфан, винкристин, преднизолон; CHOP-21 – циклофосфан, доксорубин, винкристин, преднизолон, введение каждый 21-й день; CHOP-14 – циклофосфан, доксорубин, преднизолон, введение каждый 14-й день; RCHOP-21 = CHOP-21 + ритуксимаб (Мабтера®); RCHOP-14 = CHOP-14 + ритуксимаб (Мабтера®); R-GemCarbo – ритуксимаб, гемзар, карбоплатин (у пациента с ранее диагностированным немелкоклеточным раком лёгкого); Hyper-CVAD – циклофосфан, месна, винкристин, адриамицин, дексаметазон, метотрексат, цитарабин, лейковорин; HDMtx – высокие дозы метотрексата; GA101 (обинутузумаб) – в рамках исследовательского протокола по лечению рецидива фолликулярной лимфомы; ICE – ифосфамид, цисплатин, этопозид; EP – этопозид, цисплатин; CAV – циклофосфан, адриамицин, винкристин.

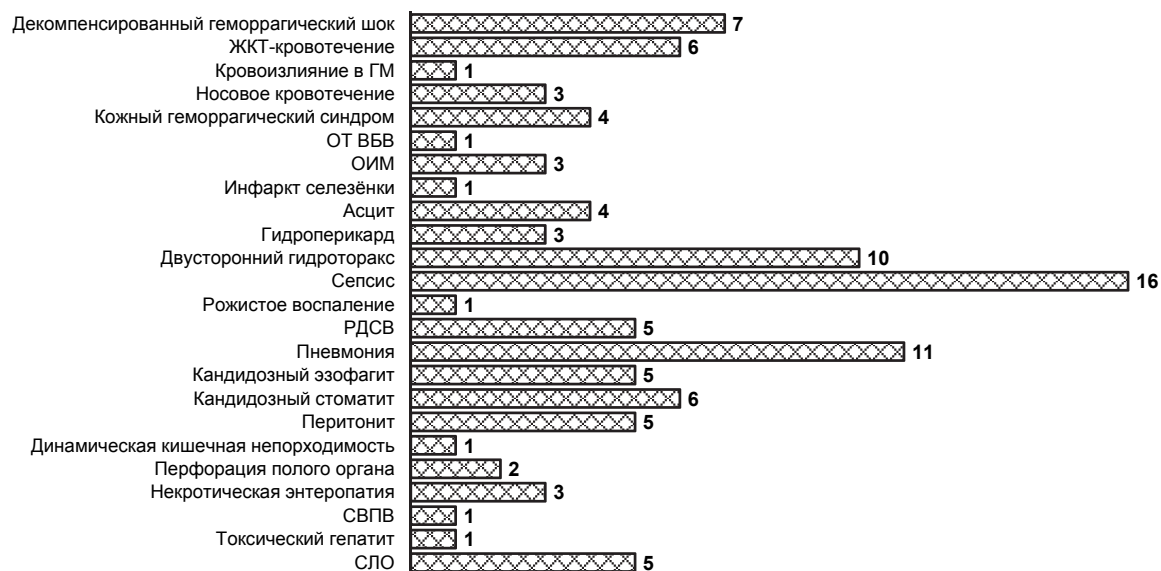


Рис. 1. Проявления цитостатической болезни, участвующий в танатогенезе: ГМ – головной мозг; ОТ ВБВ – острый тромбоз верхней брыжеечной вены; ОИМ – острый инфаркт миокарда; РДСВ – респираторный дистресс-синдром; СВПВ – синдром верхней полой вены; СЛО – синдром лизиса опухоли.

ние лейкоцитов наступало на 6,5 сутки (3–12-е сутки) после проведённой ПХТ и длилось 4,8 суток (от 1-х до 14-х суток). Снижение уровня тромбоцитов I степени по критериям СТС имело место у 4, II степени – у 2, III степени – у 6, IV степени – у 12 пациентов (42,8 %). Инициальная анемия лёгкой степени наблюдалась в 11 случаях (37,9 %), средней степени – в 8 случаях (27,6 %), тяжёлой степени – в 4 случаях (13,8 %), в 1 случае пациент поступил в стационар с анемией крайне тяжёлой степени (3,4 %). У 5 пациентов (17,3 %) при поступлении был нормальный уровень гемоглобина.

У 2 пациентов в момент диагностики был обнаружен кандидозный эзофагит (*Candida albicans*), в 1 случае выявлена колонизация слизистой оболочки полости рта и носа *Candida tropicalis*.

Проявления цитостатической болезни, сыгравшие свою роль в танатогенезе, представлены на рисунке 1. Как видно из приведённых данных, наиболее часто встречающейся причиной стационарной летальности

явился сепсис (55 % случаев), а наиболее частым очагом инфекции – пневмония (68,8 % случаев), которая практически всегда сопровождалась плевральным выпотом. В остальных случаях (5 случаев) его причиной стал перитонит в исходе перфорации полого органа (опухолевое поражение ЖКТ) в 2 случаях и некротической энтеропатии – в 3 случаях. Стоит указать, что число поверхностных кандидозов составило 37,9 % (11 случаев), и хотя самостоятельного значения в танатогенезе они не имели, но значительно ухудшали течение основного заболевания. В 15 случаях сепсис сопровождался повышением уровня прокальцитонина > 10, у 1 пациента с кандидозной генерализованной инфекцией уровень этого маркера не был повышен. Микробиологические исследования биологического материала (кровь, полость рта, мокрота, моча, отделяемое раны) выполнялись у всех пациентов, однако определить возбудителя до вида удалось далеко не во всех случаях. В связи с этим достоверно посчитать

частоту развития того или иного вида сепсиса не представляется возможным. Отметим, что все пациенты в связи с ухудшением состояния были переведены в палату интенсивной терапии (ПИТ), где в 79 % случаев (23 пациента) им был установлен центральный венозный катетер. Длительность катетеризации подключичной вены составила в среднем 9,6 суток (от 12 часов до 25 суток). 8 пациентов (27,6 %) получали зондовое питание в течение 1–16 суток (в среднем – 8,1 суток). Эти обстоятельства, несомненно, явились отягчающими в плане развития инфекционных осложнений.

Декомпенсированный геморрагический шок явился причиной смерти 7 пациентов (24 %), причём в 6 случаях (86 %) его развитие было вызвано желудочно-кишечным кровотечением. Отметим, что только в 3 случаях кровоточивость имела место на фоне тромбоцитопении СТС III–IV степени.

В 5 случаях имели место тромботические осложнения. Острый инфаркт миокарда развился у 3 пациентов на фоне первого курса с антрациклинами. Перед началом лечения факторов риска сосудистых катастроф выявлено не было (отсутствие анамнеза, нормальные электрокардиограмма и уровень холестерина, отсутствие зон гипо- и акинезий, а также удовлетворительная фракция выброса при эхокардиографии).

17 % (5 случаев) смертельных исходов заболевания, несмотря на проводимые профилактические мероприятия, в период индукционного курса химиотерапии были связаны с синдромом лизиса опухоли.

Особняком стоят два смертельных исхода, случившиеся у пациентов в ремиссии НХЛ. В одном случае смерть наступила от развития туберкулёза лёгких на фоне прогрессирования ВИЧ-инфекции, а в другом – от пневмонии и миокардита, осложнивших течение гриппа. Обе пациентки были госпитализированы в ГБУЗ ООД для исключения рецидива НХЛ.

ВЫВОДЫ

1. Подавляющее большинство погибших от НХЛ имели запущенную стадию опухоли, морфологически агрессивный вид (89 %), а также изначально неблагоприятный прогноз течения заболевания (86,2 %).

2. Множественное мультифокальное экстранодальное поражение является самостоятельным неблагоприятным фактором течения НХЛ.

3. Оценить непосредственные результаты лечения в полной мере не представляется возможным

в связи с гибелью 34 % пациентов после 1-го курса полихимиотерапии.

4. Наиболее частой причиной смерти от НХЛ явился сепсис (55 %). Чаще всего источником инфекции являлись пневмония (68,8 %) и желудочно-кишечный тракт (31,3 %).

5. Частота декомпенсированного геморрагического шока среди умерших от НХЛ пациентов составила 24 %. Его факторами риска являются поражение ЖКТ опухолью, а также сопутствующая язвенная болезнь желудка и двенадцатиперстной кишки.

6. Синдром лизиса опухоли явился причиной стационарной летальности от НХЛ в 17 % случаев. В половине случаев он осложнил первый индукционный курс полихимиотерапии.

7. Требуется совершенствования микробиологического обследования пациентов с целью определения вида возбудителя инфекционных осложнений.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Инфекции в онкологии / Под ред. М.И. Давыдова, Н.В. Дмитриевой. – М.: Практическая медицина, 2009. – 472 с.

Infections in oncology / Ed. by M.I. Davydov, N.V. Dmitrieva. – Moscow: Prakticheskaja medicina, 2009. – 472 p. (in Russian)

2. Клиническая онкогематология: рук-во для врачей; 2-е изд., перераб. и доп. / Под ред. М.А. Волковой. – М.: Медицина, 2007. – 1120 с.

Clinical oncohematology: manual for physicians; 2nd ed., revised and enlarged / Ed. by M.A. Volkova. – Moscow: Medicina, 2007. – 1120 p. (in Russian)

3. Руководство по гематологии: в 3-х т.; 3-е изд., перераб. и доп. / Под ред. А.И. Воробьева. – М.: Ньюдиамед, 2003. – Т. 2. – 280 с.

Manual on the hematology; 3rd ed., revised and enlarged / Ed. by A.I. Vorobjov. – Moscow: Newdiamed, 2003. – Vol. 2. – 280 p. (in Russian)

4. Румянцев А.Г., Масчан А.А., Самочатова Е.В. Сопроводительная терапия и контроль инфекций при гематологических и онкологических заболеваниях. Руководство для врачей. – М: МЕДПРАКТИКА-М, 2006. – 504 с.

Rumyantsev A.G., Maschyan A.A., Samochatova E.V. Covering therapy and control of the infections at hematological and oncological diseases. Manual for physicians. – Moscow: MEDPRAKTIKA-M, 2006. – 504 p. (in Russian)

Сведения об авторах

Зубкова Екатерина Викторовна – аспирант Педагогического института Иркутского государственного университета, врач-гематолог отделения химиотерапии опухолей Иркутского областного онкологического диспансера (664035, г. Иркутск, ул. Фрунзе, 32; e-mail: evzubkova@yandex.ru)

Дворниченко Виктория Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, главный врач Иркутского областного онкологического диспансера, заведующая кафедрой онкологии и лучевой терапии Иркутского государственного медицинского университета, заведующая кафедрой онкологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования

Манькова Татьяна Леонидовна – заведующая патологоанатомическим отделением Иркутского областного онкологического диспансера

Information about the authors

Zubkova Ekaterina Viktorovna – Postgraduate of the Teaching Institute of Irkutsk State University, hematologist of the Unit of Tumors Chemotherapy of Irkutsk Regional Oncologic Dispensary (Frunze str., 32, Irkutsk, 664035; e-mail: evzubkova@yandex.ru)

Dvornichenko Viktoria Vladimirovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head Physician of Irkutsk Regional Oncologic Dispensary, Head of the Department of Oncology and X-ray therapy of Irkutsk State Medical University, Head of the Department of Oncology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education

Mankova Tatyana Leonidovna – Head of the Department of morbid anatomy of Irkutsk Regional Oncologic Dispensary

О.К. Кузьмина

КЛИНИЧЕСКИЕ ПРЕДИКТОРЫ КАЛЬЦИФИКАЦИИ КСЕНОАОРТАЛЬНЫХ БИОПРОТЕЗОВ КЛАПАНОВ СЕРДЦА

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (Кемерово)

Проведена ретроспективная оценка клинического статуса реципиентов биопротезов в митральной позиции: с гистологически подтвержденной кальцификацией – I группа, с нормальной морфологией и функцией протеза – II группа. Полнота наблюдения составила 94,5 %, средние сроки наблюдения – $8,0 \pm 4,4$ года, объем наблюдения – 2792 пациенто-года.

Для пациентов I группы характерны более тяжелое клиническое состояние и большая длительность искусственного кровообращения при выполнении первичных хирургических вмешательств.

К числу факторов риска кальцификации биопротезов можно отнести степень декомпенсации сердечной недостаточности, продолжительность и травматичность хирургического вмешательства.

Ключевые слова: кальцификация, биопротезы, клинические предикторы

CLINICAL PREDICTORS OF CALCIFICATION OF XENOARTIC BIOLOGICAL PROSTHESIS OF VALVES

О.К. Kuzmina

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo

A retrospective analysis of clinical status of the recipients of biological prosthesis in mitral position was conducted: group I included patients with histologically confirmed calcification, group II included patients with normal morphology and functioning of prosthesis. Follow-up depth was 94,5 %, average terms are $8,0 \pm 4,4$ years, follow-up scope is 2792 patient-years. More severe clinical condition and prolonged cardiopulmonary bypass time while conducting primary surgical interventions are specific for the patients of the I group.

The risk factors of prosthesis calcification are degree of cardiac failure decompensation, duration and traumatizing effect of surgical intervention.

Key words: calcification, bioprosthesis, clinical predictors

Биологические протезы (БП) клапанов сердца, в отличие от большинства механических устройств, характеризуются высокой тромбрезистентностью, оптимальными (близкими к физиологическим) параметрами внутрисердечной гемодинамики и бесшумностью работы, что позволяет обеспечить лучшее качество жизни пациентов и возможность отказа от применения антикоагулянтной терапии в отдаленном послеоперационном периоде [7, 13]. Вместе с тем широкое клиническое использование данного типа клапанных заменителей лимитировано их относительной недолговечностью, что особенно актуально для пациентов молодого возраста [2, 4, 5, 6, 12].

Основной причиной развития дисфункций БП является первичная тканевая несостоятельность с кальцификацией протеза. Частота развития данного осложнения составляет 10–30 % к 10-му, и 20–50 % – к 15-му году после имплантации БП [6, 8]. Итогом дисфункций БП становятся тяжелые нарушения внутрисердечной гемодинамики, диктующие необходимость выполнения повторных хирургических вмешательств [5, 11, 12, 14]. Таким образом, проблема кальцификации химически модифицированного биоматериала не теряет своей значимости, а идентификация факторов, влияющих на темпы развития данного процесса, представляется достаточно перспективным направлением исследований.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Выявление потенциальных клинических предикторов кальцификации БП клапанов сердца, имплантированных в митральную позицию.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Более двух десятилетий в клинике НИИ КПССЗ для коррекции приобретенных пороков сердца, наряду с механическими клапанами, применяют ксеноаортальные БП, консервированные эпоксидным соединением – диглицидиловым эфиром этиленгликоля. В период с 1991 по 2009 гг. эпоксидобработанные БП имплантированы 382 пациентам с пороками митрального клапана. Показатели госпитальной летальности составили 5,8 % ($n = 22$), таким образом, из клиники выписано 360 реципиентов эпоксидобработанных БП в митральной позиции. Полнота наблюдения составила 94,5 %, средние сроки наблюдения – $8,0 \pm 4,4$ года, объем наблюдения – 2792 пациенто-года.

На амбулаторном этапе пациентам выполняли контрольные осмотры с периодичностью 1 раз в 1–2 года, включающие, помимо клинической оценки общего состояния, проведение трансторакальной эхокардиографии (ЭХОКГ) с целью исследования морфологии и функции БП. По данным на декабрь 2013 г., 53 пациентам (14,7 % от выписанных) выполнены повторные операции по поводу дисфункций БП, развившихся в результате первичной тканевой дегенерации с кальцификацией. Диагноз первичной дисфункции с кальцификацией биоматериала клапана во всех случаях подтвержден данными световой и электронной микроскопии. У 83 % реоперированных пациентов в качестве этиологического фактора формирования порока митрального клапана диагностирована ревматическая болезнь сердца. Эти больные ($n = 44$) составили I группу ретроспективного исследования клинических

предикторов структурной кальциевой дисфункции БП (табл. 1). В группу сравнения (II группа) были включены 147 пациентов с нормальной морфологией и функцией БП в митральной позиции, согласно данным ЭХОКГ-исследования. Средние сроки наблюдения (в I группе – от момента первичной имплантации БП до реоперации, во II группе – от проведения биопротезирования до последнего контрольного осмотра) не имели статистически значимых межгрупповых различий и составили $6,6 \pm 3,4$ и $6,5 \pm 2,7$ года в I и II группах соответственно. Полученные в результате обработки историй болезни фактические материалы в виде качественных и количественных клинических и инструментальных показателей регистрировали в компьютерной базе данных.

Статистическая обработка выполнялась с помощью программ SAS 6.12, STATISTICA 6.0 и SPSS. Во всех процедурах статистического анализа критический уровень значимости p принимали равным 0,05.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что в развитии кальцификации ксеногенной ткани БП принимают участие две группы факторов: факторы имплантата и факторы реципиента. Первая группа обусловлена трансформациями биоматериала в процессе консервации и/или дополнительной модификации [1, 3], вторая включает весь комплекс индивидуальных характеристик реципиента, способных влиять на имплантат: возраст, центральную гемодинамику, а также метаболический профиль, во многом определяемый особенностями клинического статуса. Также существует предположение, что патологическая кальцификация мягких тканей представляет собой универсальный клеточно-опосредованный процесс, подверженный сложной регуляции на биологическом и биохимическом уровнях [9, 10].

Включив в анализируемую выборку реципиентов идентичных моделей ксеноаортальных эпоксиобработанных клапанов и сопоставив сроки от момента

выполнения протезирования в обеих исследуемых группах, нам удалось избежать возможного влияния характеристик имплантируемых устройств на темпы формирования кальциевой дегенерации. Потенциальное воздействие факторов внутрисердечной гемодинамики на структурно-функциональное состояние БП было минимизировано выбором исключительно митральной позиции имплантации. Влияние этиологического фактора формирования порока нивелировано при формировании групп сравнения из пациентов с поражениями митрального клапана вследствие ревматического процесса. Кроме того, сравниваемые группы не имели достоверных различий по спектру сопутствующих заболеваний (табл. 1).

На момент выполнения первичного оперативного вмешательства средний возраст пациентов составил $46,3 \pm 9,4$ года в I группе и $48,3 \pm 10,4$ года – во II ($p = 0,01$). Следует отметить, что, несмотря на статистическую значимость различий, обе группы были значительно моложе минимального возрастного порога, перешагнув который, больные становятся оптимальными реципиентами БП [7].

До выполнения первичного биопротезирования пациенты обеих групп характеризовались достаточно тяжелым клиническим состоянием. Однако несмотря на более молодой возраст, количество больных с IV функциональным классом (ФК) ХСН по классификации NYHA в I группе было достоверно выше, чем во II (40,9 % против 30,6 %; $p = 0,03$) (табл. 1). Это позволяет рассматривать клиническую тяжесть пациента до операции как один из факторов, влияющих на сроки функционирования БП.

Кроме того, у пациентов с кальциевой дегенерацией биологических клапанов отмечена достоверно большая длительность искусственного кровообращения (ИК) при первичном оперативном вмешательстве, чем у пациентов контрольной группы ($116,8 \pm 22,3$ мин в I группе против $102,9 \pm 31,7$ мин во II группе; $p = 0,01$)

Таблица 1

Клиническая характеристика реципиентов эпоксиобработанных БП

Показатель	Дисфункция БП (группа I)	Сохранная функция БП (группа II)	p
Количество пациентов (n (%))	44 (100 %)	147 (100 %)	–
Пол: мужской / женский (n (%))	16 (36 %) / 28 (63,6 %)	67 (45,6 %) / 80 (54,4 %)	$> 0,05$
Возраст, лет	$46,3 \pm 9,4$	$48,3 \pm 10,4$	0,01
Период времени от имплантации БП, лет	$6,6 \pm 3,4$	$6,5 \pm 2,7$	$> 0,05$
ФК ХСН (NYHA)			
ФК II (n (%))	–	12 (8,2 %)	$> 0,05$
ФК III (n (%))	26 (59,1 %)	90 (61,2 %)	$> 0,05$
ФК IV (n (%))	18 (40,9 %)	45 (30,6 %)	0,03
Сопутствующие заболевания			
ИБС (n (%))	6 (13,6 %)	13 (8,8 %)	$> 0,05$
СД (n (%))	3 (6,8 %)	8 (5,4 %)	$> 0,05$
ГБ (n (%))	8 (18,2 %)	39 (26,5 %)	$> 0,05$
МФА (n (%))	3 (6,8 %)	7 (4,8 %)	$> 0,05$
ОНМК (n (%))	5 (11,4 %)	26 (17,7 %)	$> 0,05$

Таблица 2

Характеристика интраоперационного периода

Показатель	Дисфункция БП (группа I)	Сохранная функция БП (группа II)	p
Время ИК (мин)	116,8 ± 22,3	102,9 ± 31,7	0,01
Время ишемии (мин)	83,5 ± 17,9	81,7 ± 22,3	> 0,05
Вмешательства на 2 и более клапанах (n (%))	13 (29,5 %)	21 (14,3 %)	0,02
Осложненное течение п/о периода (n (%))	5 (11,4 %)	26 (17,7 %)	> 0,05
Предшествующие операции (n (%))	9 (20,5 %)	18 (12,2 %)	> 0,05

(табл. 2). Это может быть связано с большим объемом оперативных вмешательств (протезирование двух и более клапанов проведено в 29,5 % случаев в I группе и в 14,3 % – во II группе; $p = 0,02$), а также большей долей реопераций (20,5 % пациентов I группы и 12,2 % пациентов II группы; $p > 0,05$). Полученные результаты позволяют предполагать, что степень выраженности нарушений местного и системного гомеостаза, а также активность проявлений системного воспалительного ответа в раннем послеоперационном периоде могут оказывать отрицательное влияние на темпы формирования структурных дисфункций вследствие кальцификации БП.

Для детального изучения механизмов кальцификации БП клапанов сердца, безусловно, необходимо проведение более масштабных проспективных исследований. Однако в настоящей работе нам удалось показать взаимосвязь ряда клинических факторов, характеризующих исходную тяжесть состояния пациента, продолжительность и травматичность первичного хирургического вмешательства с развитием кальциевой дегенерации БП клапанов сердца в отдаленном периоде наблюдения.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

1. Барбараш Л.С., Барбараш Н.А., Журавлева И.Ю. Биопротезы клапанов сердца, проблемы и перспективы. – Кемерово, 1995. – 400 с.
2. Barbarash L.S., Barbarash N.A., Zhuravljova I.Yu. Bio-prostheses of valves: problems and prospects. – Kemerovo, 1995. – 400 p. (in Russian)
3. Bonow R., Carabello B., Chatterjee K. et al. ACC/AHA 2006 guidelines for the management of patients with valvular heart disease: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (writing Committee to Revise the 1998 guidelines for the management of patients with valvular heart disease) developed in collaboration with the Society of Cardiovascular Anesthesiologists endorsed by the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions and the Society of Thoracic Surgeons // J. Am. Coll. Cardiol. – 2006. – Vol. 48 (3). – P. e1–148

3. Grabenwöger M., Sider J., Fitzal F. et al. Impact of glutaraldehyde on calcification of pericardial bioprosthetic heart valve material // Ann. Thorac. Surg. – 1996. – Vol. 62 (3). – P. 772–777.

4. Jamieson W.R., Cartier P.C., Allard M. et al. Surgical management of valvular heart disease // Can. J. Cardiol. – 2004. – Vol. 20, Suppl. E. – P. 7E–120E.

5. Oakley R., Kleine P., Bach D.S. Choice of prosthetic heart valve in today's practice // Circulation. – 2008. – Vol. 117 (2). – P. 253–256.

6. Pibarot P., Dumesnil J. Prosthetic heart valves: selection of the optimal prosthesis and long-term management // Circulation. – 2009. – Vol. 119 (7). – P. 1034–1048.

7. Rahimtoola S.H. Choice of prosthetic heart valve for adult patients // J. Am. Coll. Cardiol. – 2003. – 41. – P. 893–904.

8. Ruel M., Kulik A., Rubens F.D. et al. Late incidence and determinants of reoperation in patients with prosthetic heart valves // Eur. J. Cardiothorac. Surg. – 2004. – Vol. 25. – P. 364–370.

9. Schoen F.J., Levy R.J. Calcification of tissue heart valve substitutes: progress toward understanding and prevention // Ann. Thorac. Surg. – 2005. – Vol. 79. – P. 1072–1080.

10. Sophie E.P., Aikawa E. Molecular imaging insights into early inflammatory stages of arterial and aortic valve calcification // Circ. Res. – 2011. – Vol. 108. – P. 1381–1391.

11. Thiene G., Valente M. Anticalcification strategies to increase bioprosthetic valve durability // J. Heart Valve Dis. – 2011. – Vol. 20 (1). – P. 37–44.

12. Tillquist M., Maddox T. Cardiac crossroads: deciding between mechanical or bioprosthetic heart valve replacement // Patient Prefer Adherence. – 2011. – Vol. 5. – P. 91–99.

13. Van Geldorp M., Jamieson E., Kappetein A.P. et al. Patient outcome after aortic valve replacement with a mechanical or biological prosthesis: weighing lifetime anticoagulant-related event risk against reoperation risk // J. Thorac. Cardiovasc. Surg. – 2009. – Vol. 137. – P. 881–886.

14. Vesey J.M., Otto C.M. Complication of prosthetic heart valves // Curr. Cardiol. Rep. – 2004. – Vol. 6. – P. 106–111.

Сведения об авторах

Кузьмина Ольга Константиновна – аспирант Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6; e-mail: Olga_shumilova@mail.ru)

Information about the authors

Kuzmina Olga Konstantinovna – Postgraduate of Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Sosnovy blvd, 6, Kemerovo, 650002, e-mail: Olga_shumilova@mail.ru)

М.Л. Прокопьева, Е.В. Винокуров, В.С. Собенников

КЛИНИЧЕСКИЕ И КЛИНИКО-ПСИХОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ
СОМАТИЗИРОВАННЫХ ДЕПРЕССИЙ

Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

В статье проведен сравнительный анализ депрессивных состояний, в структуре которых были выражены или отсутствовали соматоформные нарушения. Подробно рассмотрены наиболее значимые предикторы формирования внутренней картины болезни для пациентов пограничного психиатрического отделения. Установлены, вне зависимости от выраженности соматизации депрессии, наиболее часто встречающиеся типы реакции на болезнь. Учет этих данных в клинической практике имеет существенное значение в выборе подходов к психотерапии и реабилитации пациентов с соматизированной депрессией.

Ключевые слова: депрессивный эпизод, соматизированная депрессия, соматоформные симптомы, внутренняя картина болезни

CLINICAL AND CLINICAL-PSYCHOLOGICAL PROFILES OF SOMATIZED DEPRESSIONS

M.L. Prokopjeva, E.V. Vinokurov, V.S. Sobennikov

Irkutsk State Medical University, Irkutsk

A comparative analysis of depressions with or without somatoform disorders in their structure was conducted. The most significant predictors of formation of internal aspect of the disease for patients of border psych ward are reviewed. The most common types of disease reactions regardless of the intensity of somatization of the depression are determined. Accounting of these data has substantial significance in choosing approaches to psychotherapeutics and rehabilitation of the patients with somatized depression.

Key words: depressive episode, somatized depression, somatoform symptoms, internal aspect of the disease

Одной из наиболее быстро развивающихся областей медицины в последние десятилетия является пограничная психиатрия, что обусловлено неуклонным ростом в популяции психических расстройств невротического и аффективного регистров. Отмечается, что среди пациентов первичной медицинской сети распространены депрессии неглубокого уровня с преимущественно «телесной презентацией» на фоне доминирования симптомов тревоги и витальной астении [11]. В структуре таких аффективных состояний тревога и депрессия часто проявляются в форме смешанных состояний [20] в сочетании с соматоформными симптомами [9, 13, 15].

Клинические описания аффективных расстройств с преобладанием псевдосоматических симптомов известны с античных времен, однако базовые представления о соматизированной депрессии сформировались лишь в первой половине XX века. В отечественной и зарубежной психиатрии подобные расстройства классифицировались как скрытые [14], соматизированные [1], маскированные [17], ларвированные [10], алекситимические, латентные, вегетативные, тимопатические депрессии, депрессивные эквиваленты [3], депрессии без депрессии, аффективные эквиваленты, циклосомии [4], соматические [5] и тимопатические эквиваленты, психовегетативный синдром [6].

С начала 90-х годов по мере внедрения в клиническую психиатрию МКБ 10 наметилась тенденция смены концепции маскированных депрессий моделью коморбидности. Такой подход позволил оценить соотношение депрессивных расстройств с соматоформными, выделенными в самостоятельную

категорию. Мета-анализ исследований, проведенных за период с 1975 до начала 1990-х гг. [19], показал, что у «соматизированных» (включая больных с хронической болью) с высокой частотой встречается депрессия, а у депрессивных – жалобы на боль, симптомы соматизации и ипохондрии [20]. Терапия антидепрессантами оказывает позитивное влияние как на аффективные, так и на соматоформные расстройства. Установлено, что соматизация аффективных расстройств в значительной мере опосредована такими факторами, как пол, возраст, преморбидные личностные особенности [2, 8, 12, 16].

В качестве факторов риска «физиологического» варианта депрессии с преобладанием соматовегетативных расстройств рассматриваются также условия среды и социальные влияния, определяющие социально-психологические детерминанты внутренней картины болезни у таких пациентов [18].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучение клинико-психологических характеристик пациентов с депрессивными эпизодами легкой и средней степени тяжести, в структуре которых выражены соматоформные нарушения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании применялся клинический (клинико-психопатологический, клинико-анамнестический) метод, дополненный оценкой с использованием клинических шкал тревоги HAM-A (Hamilton M., 1959), депрессии HDRS (Hamilton M., 1960), а также экспериментально-психологических методик: метод цветовых выборов (МЦВ) (Собчик Л.Н., 1990;

Luscher M., 1969), методика «Акцент 2-90» (Вигдорчик М.И., 1995), опросник типов отношения к болезни (ТОБОЛ) (Вассерман Л.И. с соавт., 1990), опросник алекситимии (TAS-20) (Taylor G.J. et al., 1992), стандартизированный многофакторный метод исследования личности (СМИЛ) (Собчик Л.Н., 2001). При сборе анамнестических сведений углубленному анализу были подвергнуты данные семейного анамнеза, динамика личностных особенностей больных как в преморбиде, так и на этапе актуального состояния. Для статистического анализа цифровые результаты вводились в компьютерную базу данных в программу Statistica 10 (StatSoft Inc.). При сравнении социально-демографических и клинических характеристик использовались критерии χ^2 и точный критерий Фишера. Оценка значимости различий между показателями оценочных шкал проводилась с помощью теста Фридмана и критериев Вилкоксона и Манна – Уитни.

Объектом исследования являлись стационарные пациенты психиатрического отделения факультетских клиник ИГМУ с аффективными расстройствами. Всего обследовано 108 пациентов (69 женщин (64 %) и 39 мужчин (36 %), средний возраст – $44,0 \pm 1,2$ года. Психопатологические нарушения у всех испытуемых квалифицировались как депрессивный эпизод (F32.0, F32.1). Клиническая картина депрессии в большинстве случаев (82 пациента (76 %)) характеризовалась выраженностью соматоформных нарушений. Больше половины обследованных имели семью (57 человек (53 %)), 20 человек (18 %) находились в разводе, 19 человек (18 %) никогда не состояли в браке, 12 человек (11 %) вдовствовали. Также немногим больше половины обследованных были профессионально заняты (63 человека (58 %)), из них 70 % (44 человека) были служащими, 30 % (19 пациентов) имели рабочие специальности. Сравнительный анализ показал умеренное преобладание среди обследованных городских жителей (60 человек (56 %)) над представителями сельского населения (48 человек (44 %)). Высшее образование имели 50 человек (46 %), неоконченное высшее – 11 (10 %), среднее специальное – 34 (31 %), среднее образование – 13 (12 %). Наследственная отягощенность психической патологией установлена у 69 пациентов (64 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Изучение актуального статуса пациентов в обследованных группах (с выраженным и слабым проявлением соматизации) посредством клинических шкал и опросников показало превышение нормативных значений показателей по шкалам депрессии (HDRS) и тревоги (НАМ-А). В зависимости от представленности соматизированных симптомов показатели по шкале депрессии HDRS достоверно не различались ($17,9 \pm 3,4$ и $17,5 \pm 2,3$ соответственно). Показатели шкалы тревоги НАМ-А оказались достоверно выше ($p < 0,05$) среди пациентов со значительной представленностью соматизированных нарушений, при сравнении с пациентами с малым количеством соматических симптомов ($23,1 \pm 3,3$ и $18,3 \pm 2,1$ соответственно).

Применение опросника алекситимии TAS-20 позволило выявить симптомокомплекс алекситимии, характерный для всей выборки ($64,1 \pm 4,4$ балла). Суммарные показатели шкалы алекситимии TAS-20 при депрессии с выраженными соматизированными нарушениями также оказались достоверно выше ($65,4 \pm 4,7$ и $62,7 \pm 3,5$ балла соответственно при $p < 0,05$). Анализ показателей трех составляющих алекситимии также выявил достоверные различия ($p < 0,05$), но только по фактору «затруднения в идентификации и различении чувств и телесных ощущений» (DIF). Значительно более высокие показатели фактора DIF были характерны для депрессивных состояний с выраженными соматизированными нарушениями ($26,5 \pm 1,2$ балла). При депрессии с минимальными соматическими симптомами показатель фактора DIF составил $23,1 \pm 1,4$ балла.

Методика СМИЛ позволяет не только сравнить обследованные группы, но и верифицировать характерные личностные детерминанты, свойственные обследованным пациентам [7]. Профиль шкал достоверности во всех изученных группах был в рамках допустимой вариабельности, однако разница между показателями шкал F и K выявляла тенденцию к драматизации имеющихся проблем. Это можно соотнести с выраженностью аффективных нарушений и потребностью в помощи. Клиническая группа депрессивного эпизода с выраженными соматизированными нарушениями имела достоверно более высокие показатели базисных шкал ($p < 0,05$), а также «плавающий» усредненный профиль СМИЛ, свидетельствующий о выраженном стрессе и дезадаптации личности. В целом профиль СМИЛ, группы депрессии с соматизированными нарушениями характеризовались превышением усредненных показателей 75T по шкалам «пессимистичности», «эмоциональной лабильности», «тревожности» и превышением 70T по шкалам «сверхконтроля» и «индивидуалистичности». Профиль СМИЛ группы депрессии без соматических симптомов характеризовался превышением усредненных показателей 70T по шкалам «сверхконтроля», «пессимистичности», «эмоциональной лабильности», остальные базисные шкалы – 56T и выше.

Наиболее распространенными типами реагирования на болезнь (по методике ТОБОЛ) в обследованной группе оказались сенситивный и тревожный. При этом сенситивный тип (34 наблюдения (31 %)) обнаруживал положительную корреляцию с женским полом ($r = 0,37$; $p < 0,05$), вдовством ($r = 0,3$; $p < 0,05$), а также возрастом манифеста заболевания старше 45 лет ($r = 0,32$; $p < 0,05$). У пациентов с тревожным типом реагирования (34 случая (31 %)) выявлена положительная корреляционная связь с мужским полом ($r = 0,32$; $p < 0,05$), отсутствием детей ($r = 0,35$; $p < 0,05$), продолжительностью заболевания – 5 лет и более ($r = 0,39$; $p < 0,05$). В этих случаях клиническая картина депрессии имела специфические черты: наличие алгических переживаний различной локализации ($r = 0,31$; $p < 0,05$), а также выраженность гастроинтестинальных симптомов ($r = 0,33$; $p < 0,05$). У

22 пациентов (20 %) регистрировался неврастенический тип реагирования, обнаружены положительные корреляции с чертами застревания ($r = 0,32$; $p < 0,05$) и эмотивности ($r = 0,42$; $p < 0,05$) в преморбидном периоде. Анозогностический вариант (8 человек (7 %)) коррелировал с высшим образованием ($r = 0,36$; $p < 0,05$), феноменами деперсонализации и дереализации ($r = 0,39$; $p < 0,05$), выраженностью депрессии по шкале HDRS ($r = 0,35$; $p < 0,05$). Паранояльный тип (5 человек (5 %)) реагирования чаще наблюдался у лиц мужского пола ($r = 0,33$; $p < 0,05$) с повторными госпитализациями ($r = 0,39$; $p < 0,05$), отсутствием трудовой занятости ($r = 0,36$; $p < 0,05$), находящихся в разводе ($r = 0,3$; $p < 0,05$) и не имеющих детей ($r = 0,38$; $p < 0,05$), а также с высоким уровнем тревоги по шкале HAM-A ($r = 0,41$; $p < 0,05$). При гармоничном типе (5 человек (5 %)) отмечалась положительная корреляция с трудовой занятостью ($r = 0,39$; $p < 0,05$), а кроме того со снижением аппетита ($r = 0,35$; $p < 0,05$), обсессивными симптомами ($r = 0,38$; $p < 0,05$), алгиями ($r = 0,32$; $p < 0,05$), инсомническими расстройствами ($r = 0,30$; $p < 0,05$) в структуре клинической картины заболевания.

В обследованной выборке больных почти в равном соотношении были представлены случаи первичного обращения (50 человек (46 %)) и повторных госпитализаций (58 человек (54 %)). Результаты исследования по методике МЦВ свидетельствуют о том, что пациенты с преобладанием соматизированных симптомов при первичной госпитализации испытывали растерянность, тяготились пребыванием в психиатрическом стационаре и были озабочены сохранением своего социального реноме. Для пациентов второй группы была более характерна тенденция подавления выражения негативных эмоций из-за субъективного страха нарушить значимые социальные отношения (с медицинским персоналом и родственниками).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Согласно полученным результатам, депрессия, ассоциированная с выраженными соматоформными нарушениями, отличается большей выраженностью психопатологических нарушений, оцениваемых по клиническим шкалам депрессии и тревоги. При общей тенденции в исследуемой выборке превышения показателей по шкале алекситимии TAS-20 среди больных депрессией с наличием соматизированных нарушений установлено значимое превышение по фактору «затруднения в идентификации и различении чувств и телесных сенсаций» (DIF). Следовательно, установлены существенные различия между группами пациентов со значительной и малой представленностью соматических симптомов в клинике депрессии по эмоционально-сенситивному фактору алекситимии, но не по когнитивному. Пациенты выделенных групп также обнаруживали дифференцированные реакции при госпитализации в психиатрический стационар. Кроме того, вне зависимости от выраженности соматизации депрессии установлены наиболее часто встречающиеся типы реакции на болезнь – тревожный, сенситивный,

неврастенический, а также наиболее значимые их предикторы, к которым можно отнести преморбидные особенности личности, гендерный признак, семейное и социальное положение, в определенной степени кратность госпитализации и длительность самого заболевания. Учет этих данных в клинической практике имеет значение в выборе подходов к психотерапии и реабилитации пациентов с соматизированной депрессией.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Ануфриев А.К. Скрытые эндогенные депрессии. Сообщение III. Четыре компонента и четыре стадии скрытой эндогенной депрессии // Ж. невропатол. и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 1978. – Т. 78, Вып. 9. – С. 1342–1347.
2. Anoufrieв A.K. Hidden endogenous depression. Report III. Four components and four stages of the latent endogenous depression // Zh. nevropatol. i psikiatrii im. S.S. Korsakova. – 1978. – Vol. 78, Iss. 9. – P. 1342–1347. (in Russian)
3. Завидовская Г.И. Особенности депрессии у женщин (обзор литературы) // Российский психиатрический журнал. – 2001. – Приложение. – С. 1–4.
4. Zavidovskaya G.I. Features of depression in women (review of literature) // Rossijskij psikiatricheskij zhurnal. – 2001. – P. 1–4. (in Russian)
5. Каннабих Ю.В. Циклотимия, её симптоматика и течение. – М., 1914. – 419 с.
6. Kannabikh Yu.V. Cyclothymia, its symptoms and course. – Moscow, 1914. – 419 p. (in Russian)
7. Краснушкин Е.К. О некоторых отношениях между душевными и соматическими болезнями (избранные труды). – М., 1960. – С. 427–445.
8. Krasnushkin E.K. To the relationships between mental and physical illness (selected works). – Moscow, 1960. – P. 427–445. (in Russian)
9. Невзорова Т.А., Дробизhev Ю.З. Соматический эквивалент циркулярного психоза и циклотимии // Сов. мед. – 1962. – № 12. – С. 45–49.
10. Nevzorova T.A., Drobizhev Yu.Z. Somatic equivalent of circular psychosis and cyclothymia // Sov. Med. – 1962. – N 12. – P. 45–49. (in Russian)
11. Смудевич А.Б., Козырев В.Н., Сыркин А.Л. Депрессия у соматически больных. – М., 1998. – С. 108.
12. Smulevich A.B., Kozyrev V.N., Syrkin A.L. Depression in somatic patients. – Moscow, 1998. – P. 108.
13. Собчик Л.Н. Стандартизированный многофакторный метод исследования личности СМЛ. – СПб.: Речь, 2001. – 219 с.
14. Sobchik L.N. Standardized multivariate method of study of personality MMPI. – St. Petersburg: Rech, 2001. – 219 p.
15. De Leon J., Saiz-Ruiz J., Chinchilla A., Morales P. Why do some psychiatric patients somatize? // Acta Psychiatr. Scand. – 1987. – Vol. 76 (2). – P. 203–209.
16. Escobar J.I., Burnam M.A., Karno M., Torsythe A. et al. Somatization in the community // Arch. Gen. Psychiatry. – 1987. – N 8. – P. 713–718.
17. Glatzel J. Endogene Depressionen. Zur Psychopathologie, Klinik und Therapie zyklischer

Verstimmungen. Anankastisch melancholische Zyklothymien. – Stuttgart, 1973. – P. 118–123.

11. Hamilton M. Frequency of symptoms in melancholia (depressive illness) // Br. J. Psychiat. – 1989. – Vol. 154. – P. 201–206.

12. Jackson J.L., Chamberlin J., Kroenke K. Gender and symptoms in primary care practices // Psychosomatics. – 2003. – Vol. 44. – P. 359–366.

13. Katon W. Panic disorder and somatization. Review of 55 cases // Am. J. Med. – 1984. – Vol. 77 (1). – P. 101–106.

14. Kielholz P. Psychopathology of depression // Proceeding of the symposium by the section of clinical Psychopathology of the World Psychiatric Association. – Helsinki, 1980. – P. 153–157.

15. Kirmayer L.J., Robbins J.M. Current concepts of somatization: research and clinical perspectives. –

Washington: American Psychiatrics Press Inc., 1993. – P. 107–141.

16. Kretschmer E. Störungen des gefühlslebens Temperamente // Handbuch der geisteskrankheiten. – Berlin, 1928. – Bd. 1, T. 1. – S. 662–688.

17. Lopez-Ibor J.J. Masked depression // Brit. J. Psychiatry. – 1972. – Vol. 120. – P. 245–258.

18. Pollitt J.D. Suggestions for a physiological classification of depression // Br. J. Psychiat. – 1965. – Vol. 111. – P. 489–495.

19. Smith G.R. The epidemiology and treatment of depression when it coexists with somatoform disorders, somatization, or pain // Gen. Hosp. Psychiat. – 1992. – Vol. 14. – P. 265–272.

20. Stein M.B., Kirk P., Prabhu V., Grott M. Mixed anxiety – depression in primarycare clinic // J. of Affective Disorders. – 1995. – № 2. – P. 79–84.

Сведения об авторах

Прокопьева Мария Леонидовна – врач клиники неврозов и психотерапии Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, б-р Гагарина, 6; тел.: 8 (3952) 28-08-08; e-mail: maria310782@rambler.ru)

Винокуров Евгений Вячеславович – кандидат медицинских наук, врач клиники неврозов и психотерапии Иркутского государственного медицинского университета (e-mail: evgeniy_vinokurov@yahoo.com)

Собенников Василий Самуилович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой психиатрии и медицинской психологии Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; тел.: 8 (3952) 24-36-61; e-mail: vsobennikov@gmail.com)

Information about the authors

Prokopjeva Maria Lenidovna – physician of the Clinic of Neuroses and Psychotherapy of Irkutsk State Medical University (Gagarina Blvd, 6, Irkutsk, 664003; tel.: +7 (3952) 28-08-08; e-mail: maria310782@rambler.ru)

Vinokurov Evgenii Vyacheslavovich – Candidate of Medical Sciences, physician of the Clinic of Neuroses and Psychotherapy of Irkutsk State Medical University (e-mail: evgeniy_vinokurov@yahoo.com)

Sobennikov Vasily Samuilovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Psychiatry and Medical Psychology of Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str., 1, Irkutsk, 664003; tel.: +7 (3952) 24-36-61; e-mail: vsobennikov@gmail.com)

Г.Ф. Ходаковская

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ СЛУХОРЕЧЕВОЙ ПАМЯТИ У ПЕРВОКЛАССНИКОВ С РАЗНОЙ УСПЕШНОСТЬЮ ОБУЧЕНИЯ

Хакасский государственный университет им. Н.Ф. Катанова (Абакан)

В статье представлены результаты сравнительного нейропсихологического анализа особенностей слухоречевой памяти у первоклассников с разной успешностью в учебной деятельности: успешных в обучении, с парциальными и комплексными трудностями учения. Выявлены различия в состоянии функций запоминания, хранения и воспроизведения вербального материала у младших школьников в зависимости от успешности обучения. Низкие возможности фонематического восприятия и процессов запоминания слухоречевой информации неблагоприятно сказываются на усвоении базовых учебных знаний у детей с комплексными трудностями учения.

Ключевые слова: высшие психические функции, слухоречевая память, объем слухоречевой памяти, нейропсихологическое обследование, младший школьный возраст, трудности в обучении

COMPARATIVE NEUROPSYCHOLOGICAL ANALYSIS OF AUDIO-VERBAL MEMORY FEATURES IN FIRST-FORMERS WITH DIFFERENT LEARNING SUCCESS

G.F. Khodakovskaya

Katanov Khakass State University, Abakan

The article presents the results of comparative neuropsychological analysis of audio-verbal memory features in first-formers with different learning success: successful in learning or with partial and complex learning disabilities. The differences in the state of functions of memorization, storage, and replication of verbal information in junior school-children depending on the learning successes. Low possibilities of phonemic awareness and processes of audio-verbal information storage affect unfavorably on the acquisition of fundamental school knowledge in children with complex learning disabilities.

Key words: higher mental functions, audio-verbal memory, volume of audio-verbal memory, neuropsychological examination, primary school age, learning disabilities

Современное начальное общее образование, являющееся фундаментом всего последующего образования, ставит перед собой задачи формирования и развития универсальных учебных действий, познания и освоения мира младшими школьниками [1]. По мнению А.В. Семенович (2001), в настоящее время создаются, модернизируются и внедряются образовательные учебные программы, которые, к сожалению, не учитывают изменяющуюся специфику мозговой организации в современной детской популяции. Некоторые учащиеся в начальной школе сталкиваются с трудностями при овладении специфическими школьными навыками [2]. Ранняя нейропсихологическая диагностика школьников позволяет установить нейропсихологические причины возможных нарушений и дает возможность для своевременного принятия адекватных мер, направленных на оптимизацию развития мозговых механизмов, определяющих необходимый уровень сформированности психических функций для овладения базовыми учебными компетенциями [2, 4, 5].

Особый интерес представляет оценка состояния слухоречевой памяти первоклассников, так как именно эта функция является очень важной в процессе становления речи и обучения в целом [3].

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Провести сравнительный нейропсихологический анализ особенностей слухоречевой памяти у

младших школьников с разной успешностью обучения.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 153 первоклассника городских общеобразовательных школ г. Минусинска Красноярского края в возрасте от 7 до 8 лет. На основе анализа экспертных оценок учителей начальных классов были выявлены группы детей с разной успешностью обучения: 1-я группа – дети, которые успешно овладевают учебным материалом по основным школьным предметам (42,5 %); 2-я группа – учащиеся с парциальными трудностями учения (затруднено усвоение знаний, формирование навыков по отдельным школьным предметам) (16,3 %); 3-я группа – первоклассники с комплексными трудностями учения (допускают систематические ошибки при выполнении разной направленности учебных заданий по нескольким школьным предметам) (41,2 %).

Для анализа фонематического восприятия и процессов запоминания слухоречевой информации (непроизвольной слухоречевой памяти, объема, долговременности хранения, устойчивости к интерференции как гомогенной, так и гетерогенной, нейродинамической составляющей) была применена нейропсихологическая проба обследования слухоречевой памяти у детей, предложенная А.Р. Лурией (2000), адаптированная и снабженная

количественной оценкой коллективом авторов во главе с Т.В. Ахутиной [4]. Статистическая обработка данных производилась с использованием описательных статистик, однофакторного дисперсионного анализа ANOVA. Применялся пакет программ SPSS 17 for Windows.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе исследования выявлены различия в слухоречевой памяти у первоклассников в зависимости от успешности обучения.

У детей с комплексными трудностями учения возможности в обработке слухоречевой информации существенно снижены. Анализ способности к восприятию и воспроизведению слов при повторении обнаруживает значимые отличия: у первоклассников первых двух групп данные способности выше, по сравнению с младшими школьниками из 3-й группы. У детей с комплексными трудностями при повторении стимульных слов чаще встречаются звуковые замены (40 %), искажения (12,3 %) и вертикальные повторы однажды допущенной ошибки (13,8 %) (табл. 1).

Между первоклассниками сравниваемых групп выявлены отличия в особенностях слухоречевой памяти.

У большинства первоклассников с комплексными трудностями учения низкая способность к произвольному запечатлению информации, по сравнению с успешно обучающимися детьми ($p < 0,001$) и детьми с парциальными учебными трудностями ($p < 0,05$), которые в процессе второго воспроизведения (при включении механизмов произвольного запоминания) также демонстрируют более высокий объем кратковременной памяти, по сравнению с первоклассниками из 3-й группы ($p < 0,05$). Показательно, что в третьем воспроизведении у детей, успевающих в учебе, отмечается прирост слов, а у школьников с парциальными трудностями обучения не наблюдается динамики заучивания ($p < 0,05$). Первоклассники с комплексными трудностями учения к третьему воспроизведению демонстрируют прирост запоминания слов стимульного ряда, тем не менее, их показатели существенно ниже, чем у школьников, успевающих по всем учебным предметам ($p = 0,001$). Долговременная память у первоклассников 3-й груп-

пы сформирована хуже, по сравнению с учащимися из 2-й группы, и значительно хуже, чем у детей из 1-й группы ($p < 0,05$).

Количественный и качественный нейропсихологический анализ ошибочного воспроизведения стимульных слов сделал возможным получение дифференцированной информации об особенностях слухоречевой памяти. Младшие школьники с комплексными трудностями учения пропускают значительно большее количество стимульных слов ($p < 0,05$ – при сравнении с 1-й группой), для них характерны более частые звуковые замены ($p < 0,05$ – при сравнении с 1-й группой) (пример: гость – кость, гостья; холод – голод, клин – Клим), искажения ($p < 0,001$ – при сравнении с 1-й группой; $p < 0,05$ – при сравнении со 2-й группой) (пример: холод – полук). У школьников 3-й группы выявлена тенденция к более частым контаминациям ($p = 0,056$ – при сравнении с 1-й группой) (примеры вpletений: плитка, страх, встреча; примеры контаминаций: ристь (риск и гость); христ (холод, риск и гость)). Школьники с комплексными трудностями учения допускают более частое дублирование слов в ходе их припоминания ($p < 0,05$ – при сравнении с 1-й и 2-й группами). Ошибочное инертное повторение в последующих воспроизведениях звуковых или семантических замен, искажений, вpletений встречаются чаще у первоклассников 3-й группы ($p < 0,01$ и $p < 0,05$ – при сравнении с 1-й и 2-й группами соответственно). Нейродинамические компоненты деятельности благополучнее всего сформированы у школьников, хорошо успевающих в учебе (средний балл 2,6). В группе детей с парциальными трудностями в обучении показатели ниже (средний балл 1,8). Выражена дефицитарность активационных показателей у первоклассников с комплексными трудностями учения (средний балл –0,2) ($p = 0,000$ и $p = 0,004$ – при сравнении с 1-й и 2-й группами соответственно).

Таким образом, младшим школьникам, хорошо овладевающим учебными знаниями, навыками, свойственно успешное запоминание и воспроизведение вербального материала, что определяется достаточным уровнем сформированности префронтальных лобных отделов, височных отделов левого и правого полушария, необходимым уровнем целенаправленной активности. Учащиеся с парциальными труд-

Таблица 1

Среднегрупповые показатели при повторении (в баллах)

Показатели	Группы первоклассников			Уровни различий	
	1-я группа	2-я группа	3-я группа	p_{1-3}	p_{2-3}
1 повторение	5,7	5,8	5,3	0,005*	0,017*
2 повторение	5,9	5,8	5,4	0,001*	0,046*
3 повторение	5,8	5,8	5,5	0,007*	–
Звуковые замены	0,6	0,6	1,3	0,003*	0,034*
Искажение слов	0,2	0,4	0,5	0,050*	–
Вертикальные повторы	0,2	0,3	0,7	0,001*	0,086#

Примечание: ** – $p < 0,001$; * – $0,001 < p < 0,05$; # – $0,05 < p < 0,1$.

ностями в обучении характеризуются сниженным объемом кратковременной памяти. Возможно, недостаточное развитие регуляторных левополушарных функций и процессов нейродинамики не позволяет данным детям справляться со школьной программой на должном уровне в полном объеме. Детям с комплексными трудностями учения свойственны низкие возможности фонематического восприятия и процессов запоминания слухоречевой информации, которые обусловлены несформированностью механизма активности деятельности, малым объемом акустического восприятия, функциональной незрелостью III блока мозга, трудностями переработки кинестетической и слуховой информации (дефекты звукового оформления речи – трудности фонематического анализа), наличием правополушарного дефицита (искажение, нарушение порядка слов, низкий объем произвольной памяти).

Наши данные, согласуясь с существующим положением о важной роли функций переработки слуховой информации в процессе становления устной и письменной речи, могут использоваться для построения нейропсихологической компенсаторно-развивающей работы, учитывающей недостаточность в развитии слухоречевой памяти у младших школьников с комплексными трудностями учения.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Асмолов А.Г., Бурменская Г.В., Володарская И.А. и др. Формирование универсальных учебных действий в основной школе: от действия к мысли. Система заданий: пособие для учителя / под ред. А.Г. Асмолова. – М.: Просвещение, 2010. – 159 с.

Asmolov A.G., Burmenskaya G.V., Volodarskaya I.A. et al. Formation of universal educational activities in the primary school: from action to thought. A system of tasks: Textbook for the teachers. – Moscow: Prosveshhenie, 2010. – 159 p. (in Russian)

2. Ахутин Т.В., Пылаева Н.М. Преодоление трудностей учения: нейропсихологический подход. – СПб.: Питер, 2008. – 320 с.

Akhutina T.V., Pylaeva N.M. Overcoming difficulties of learning: neuropsychological approach. – Saint-Petersburg: Piter, 2008. – 320 p. (in Russian)

3. Возрастные, половые и индивидуально-типологические особенности высших психических функций в норме: коллективная монография / Под ред. Т.А. Фотековой. – Абакан: Изд-во Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова, 2007. – 168 с.

Age, sex and individual-typological features of higher mental functions in the norm / Ed. by T.A. Fotekova. – Abakan: Publ. of Katanov Khakass State University, 2007. – 168 p. (in Russian)

4. Практикум по клинической психологии. Часть 1. Нейропсихологическая диагностика: учебно-методический комплекс по дисциплине / Сост. Т.А. Фотекова. – Абакан: Изд-во Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова, 2008. – 92 с.

Clinical psychology practicum. Part 1. Neuropsychological diagnostics: teaching materials. – Abakan: Publ. of Katanov Khakass State University, 2008. – 92 p. (in Russian)

5. Семенович А.В. Нейропсихологическая коррекция в детском возрасте. Метод замещающего онтогенеза: учеб. пособие; 3-е изд-е. – М.: Генезис, 2010. – 474 с.

Semenovich A.V. Neuropsychological correction in childhood. Method of substitute ontogeny: Teaching guide; 3rd ed. – Moscow: Genezis, 2010. – 474 p. (in Russian)

Сведения об авторах

Ходаковская Гелена Федоровна – аспирант кафедры психологии Хакасского государственного университета им. Н.Ф. Катанова (655017, г. Абакан, ул. Ленина, 92; e-mail: gelena.khodakovskaya@gmail.com)

Information about the authors

Khodakovskaya Gelena Fyodorovna – Postgraduate of the Department of Psychology of Katanov Khakass State University (Lenin str., 92, Abakan, 655017; e-mail: gelena.khodakovskaya@gmail.com)

Е.Л. Чудинова, Л.Ф. Шолохов, Л.И. Колесникова, Б.А. Федоров, М.А. Рашидова

ОЦЕНКА ФУНКЦИОНАЛЬНОГО СОСТОЯНИЯ ГИПОФИЗАРНО-ГОНАДНОЙ СИСТЕМЫ У ЖЕНЩИН РЕПРОДУКТИВНОГО ВОЗРАСТА, БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ ГЕПАТИТОМ А*Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)*

Печень является обязательным участником метаболизма стероидных гормонов, поэтому при вирусном гепатите А возможно нарушение функционирования гипофизарно-гонадной системы. Проведена оценка функционального состояния гипофизарно-гонадного звена системы нейроэндокринной регуляции у женщин репродуктивного возраста, больных острым гепатитом А, и выявлены изменения, которые можно считать компенсаторно-адаптивной перестройкой организма.

Ключевые слова: вирусный гепатит А, гипофизарно-гонадная система, репродуктивный возраст

ASSESSMENT OF FUNCTIONAL STATE OF THE PITUITARY-GONADAL SYSTEM IN FERTILE WOMEN WITH ACUTE HEPATITIS A

E.L. Chudinova, L.F. Sholokhov, L.I. Kolesnikova, B.A. Fyodorov, M.A. Rashidova

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

Liver is a necessary participant of the metabolism of steroid hormones, so dysfunction of pituitary-gonadal system is possible at viral hepatitis A. We assessed functional state of pituitary-gonadal part of neuroendocrinal regulation system in fertile women with acute hepatitis A and detected changes that can be regarded as compensatory-adaptive shielding of an organism.

Key words: viral hepatitis A, pituitary-gonadal system, fertile age

Вирусный гепатит А (ВГА) занимает доминирующее место в структуре острых вирусных гепатитов. Это острое вирусное заболевание с фекально-оральным механизмом передачи, характеризующееся цитолитическим действием вируса на гепатоциты [1, 10]. Ежегодно в мире регистрируется около 1,4 млн случаев заболевания острым гепатитом А.

На фоне неблагоприятной экологической обстановки и снижения общего уровня здоровья человека происходит изменение структуры и качества инфекционных болезней [5, 6]. Что касается вирусного гепатита А, то наблюдается смещение возрастной структуры заболевших от детского возраста к старшим возрастным группам, к тому же заболевание у взрослых чаще развивается на фоне уже имеющейся соматической патологии [2, 3].

Актуальность проблемы определяется необходимостью дальнейшего изучения аспектов патогенеза и лечения вирусных гепатитов [11].

Единственным органом-мишенью при ВГА является печень. Ее влияние на метаболизм стероидных гормонов не ограничивается тем, что она синтезирует холестерин, здесь же они подвергаются инактивации. Из тестостерона образуются 17-кетостероиды, которые конъюгируются с сульфатами и экскретируются с мочой. Эстрогены превращаются в эстриол и эстрон, после чего конъюгируются с глюкуроновой кислотой и сульфатами [8]. При хронических болезнях печени метаболизм эстрогенов и тестостерона часто нарушается.

Из вышесказанного следует, что при воспалении печени может измениться функциональное состояние гипофизарно-гонадного звена системы нейроэндокринной регуляции. Нарушение гормонального

гомеостаза в свою очередь может привести к ухудшению репродуктивного здоровья.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Оценка функционального состояния гипофизарно-гонадного звена системы нейроэндокринной регуляции у женщин репродуктивного возраста, больных острым гепатитом А, для профилактики репродуктивных нарушений.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Нами были обследованы 47 женщин репродуктивного возраста, 19 из которых (средний возраст – $23,6 \pm 1,6$ лет) был поставлен диагноз острый вирусный гепатит А, желтушная форма, среднетяжелой и тяжелой степени тяжести. Остальные 28 практически здоровых женщин (средний возраст – $30,8 \pm 0,5$ лет) без эндокринной патологии были включены в контрольную группу.

С помощью иммуноферментных методов исследования были найдены концентрации гормонов гипофизарно-гонадной системы – пролактина (ПРЛ), лютеинизирующего (ЛГ) и фолликулостимулирующего (ФСГ) гормонов, тестостерона (Тс), эстрадиола (E_2) и 17-гидроксипрогестерона (17-ОН-Пр). В работе были использованы тест-системы «Алкор-Био» (Россия), иммуноферментный анализатор «Cobas ELL» (США).

Исследования проводились в лабораториях физиологии и патологии эндокринной системы и гинекологической эндокринологии ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» и в гепатологическом отделении Городской инфекционной клинической больницы г. Иркутска.

В оценке результатов исследований использована интегрированная система для комплексного статистического анализа и обработки данных в среде STATISTICA 6.1 (Stat-Soft Inc., США) (правообладатель лицензии – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека») [7].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке функционального состояния гипотизарно-гонадной системы нами были получены следующие данные. У женщин, больных ВГА, не наблюдалось статистически значимого повышения содержания пролактина, по сравнению с женщинами контрольной группы (табл. 1). Содержание лютеинизирующего и фолликулостимулирующего гормонов оставалось в норме. Концентрация тестостерона в сыворотке крови больных женщин была повышена, но это повышение, как и в случае с ПРЛ, не было статистически значимо.

Статистически значимым изменениям подверглись концентрации эстрадиола и 17-гидроксипрогестерона. У пациенток с ВГА содержание E_2 в сыворотке крови было в 2,7 раза выше, чем в сыворотке крови здоровых женщин, а содержание 17-ОН-Пр, напротив, снизилось на 69 %, по сравнению с таковым в контрольной группе.

Известно, что пролактин оказывает многообразное действие на организм женщины. Его основная биологическая роль – рост молочных желез и регуляция лактации. Пролактин поддерживает секрецию прогестерона, следовательно, повышение его уровня в крови тормозит стероидогенез в яичниках и развитие фолликулов, что является одной из частых причин бесплодия. К неспецифическим эффектам пролактина относят его адаптогенное действие, которое заключается в стимуляции роста внутренних органов и эритропоэза, гипергликемическом эффекте, активации липогенеза в жировой ткани, снижении экскреции воды в почках и влиянии на реабсорбцию ионов Na^+ и K^+ [4]. В нашем случае изменение содержания пролактина у исследуемой группы не было статистически значимо, тем не менее, из таблицы 1 видно, что у больных женщин намечается тенденция к его увеличению [9].

Тестостерон, помимо своей основной роли, также имеет неспецифические функции. Он оказывает мощное анаболическое действие – активирует биосинтез

белка, стимулирует рост и минерализацию костной ткани и развитие скелетной мускулатуры. Но, следуя полученным данным, мы не можем говорить о том, что у женщин с ВГА тестостерон участвует в восстановлении пораженных инфекцией тканей.

К неспецифическим эффектам эстрогенов относят стимуляцию основного обмена и процессов заживления, анаболическое действие на кости и хрящи, расширение сосудов, усиление синтеза факторов свертывания крови II, VII, IX, X, снижение концентрации антитромбина III в крови [4]. Можно предположить, что повышенные концентрации эстрадиола у исследуемой группы стимулируют восстановление печеночной ткани, пораженной вирусом гепатита А.

Учитывая, что для синтеза 17-ОН-прогестерона необходим холестерин, который одновременно является предшественником кортикостероидов, тестостерона и эстрогенов, логично предположить, что в условиях патологического процесса, вызванного гепатитом А, холестерина недостаточно для его синтеза.

Полученные результаты свидетельствуют об изменении функционального состояния гипотизарно-гонадного звена нейроэндокринной регуляции репродуктивной системы пациенток, больных острым вирусным гепатитом А, по сравнению со здоровыми женщинами.

Изменения в функциональном состоянии гипотизарно-гонадной системы у исследуемых женщин можно считать компенсаторно-адаптивной перестройкой, направленной на осуществление гормонами гипотизарно-гонадной системы их неспецифических функций, направленных на восстановление и регенерацию пораженных тканей, за счет снижения основного действия – поддержания репродуктивного здоровья.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Астафьев В.А., Степаненко Л.А., Погорелов В.И. Оценка заболеваемости острым вирусным гепатитом А населения Иркутской области // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2013. – Т. 121, № 6. – С. 110–113.

Astafiev V.A., Stepanenko L.A., Pogorelov V.I. Assessment of acute viral hepatitis A morbidity of the population of

Таблица 1

Функциональное состояние гипотизарно-гонадной системы у женщин репродуктивного возраста, больных острым гепатитом А

Гормоны гипотизарно-гонадной системы	Группы обследованных пациенток	
	Контрольная группа (n = 28)	ВГА (n = 19)
Пролактин (мЕД/мл)	242,6 ± 107,1	349,8 ± 264,3
Лютеинизирующий гормон (мЕД/мл)	4,1 ± 1,7	4,2 ± 2,8
Фолликулостимулирующий гормон (мЕД/мл)	3,7 ± 1,9	3,8 ± 2,4
Эстрадиол (пмоль/л)	116,6 ± 32,0	310,0 ± 159,1*
Тестостерон (нМ/л)	2,8 ± 1,6	3,8 ± 2,1
17-гидроксипрогестерон (нмоль/л)	4,4 ± 2,1	1,4 ± 0,9*

Примечание: * – различия статистически значимы при $p < 0,05$.

Irkutsk Region // Sibirskij medicinskij zhurnal (Irkutsk). – 2013. – Vol. 121, N 6. – P. 110–113. (in Russian)

2. Каира А.Н. Особенности ВГА в Московской области // Инфекции, обусловленные иерсениями (иерсениоз, псевдотуберкулез) и другие актуальные инфекции. Избранные тезисы по гепатиту А и Е. МЗ РФ: матер. междунар. конф. (Санкт-Петербург, 29–31 мая 2000 г.). – СПб., 2000. – С. 45.

Kaira A.N. Peculiarities of viral hepatitis A in Moscow Region // Infekcii, obuslovlennye iersenijami (iersenioz, psevdotuberkulez) i drugie aktual'nye infekcii. Izbrannye tezisy po gepatitu A i E. MZ RF: mater. mezhdunar. konf. (St. Petersburg, 29–31 May 2000). – St. Petersburg, 2000. – P. 45. (in Russian)

3. Курбанов Ш.М., Рахматуллоева Д.М. Современные представления об острых вирусных гепатитах А и Е во время беременности // Известия Академии наук Республики Таджикистан. Отделение биологических и медицинских наук. – 2009. – № 2. – С. 64–71.

Kurbanov Sh.M., Rakhmatulloeva D.M. Modern concepts of acute viral hepatitis A and E during pregnancy // Izvestija Akademii nauk Respubliki Tadjikistan. Otdelenie biologicheskikh i medicinskih nauk. – 2009. – N 2. – P. 64–71. (in Russian)

4. Ларина М.В. Эндокринная система: Учебно-методическое пособие. – Иркутск, 2003. – 43 с.

Larina M.V. Endocrine system: Study guide. – Irkutsk, 2003. – 43 p. (in Russian)

5. Михеева И.В. Вакцинопрофилактика вирусного гепатита А – стратегический выбор // Доктор.Ру. – 2012. – № 9 (77). – С. 53–60.

Mikheeva I.V. Vaccinal prevention of viral hepatitis A – strategic choice // Doctor.Ru. – 2012. – N 9 (77). – P. 53–60. (in Russian)

6. Савилов Е.Д., Ильина С.В. Инфекционная патология в условиях техногенного загрязнения окружающей среды. – Новосибирск: Наука-Центр, 2010. – 248 с.

Savilov E.D., Iljina S.V. Infective pathology in the conditions of technogenic pollution of environment. – Novosibirsk: Nauka-Centr, 2010. – 248 p. (in Russian)

7. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. Эпидемиологический анализ: Методы статистической обработки материала. – Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 156 с.

Savilov E.D., Astafjev V.A., Zhdanova S.N., Zarudnev E.A. Epidemiological analysis: Methods of statistical processing of data. – Novosibirsk: Nauka-Centr, 2011. – 156 p. (in Russian)

8. Толоконская Н.П., Усолкина Е.Н., Хохлова Н.И., Василец Н.М. Вирусный гепатит А у взрослых: совершенствование клинической диагностики и терапии // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 7-1. – С. 199–203.

Tolokonskaya N.P., Usolkina E.N., Khokhlova N.I., Vasilets N.M. Viral hepatitis A in adults: development of clinical diagnostics and therapy // Fundamental'nye issledovaniya. – 2012. – N 7-1. – P. 199–203. (in Russian)

9. Чудинова Е.Л., Шолохов Л.Ф., Федоров Б.А. Состояние гипофизарно-гонадной системы при вирусных гепатитах с позиции общего адаптационного синдрома // Известия ИГУ. Серия «Биология. Экология». – 2011. – № 4. – С. 124–128.

Chudinova E.L., Sholokhov L.F., Fyodorov B.A. State of pituitary-gonadal system at viral hepatitis from the position of general adaptation syndrome // Izvestija IGU. Serija "Biologija. Jekologija". – 2011. – N 4. – P. 124–128. (in Russian)

10. Юркевич И.В. Вирусный гепатит А: проблемы клиники, диагностики, профилактики в Республике Беларусь // Рецепт. – 2006. – № 4 (48). – С. 125–131.

Yurkevich I.V. Viral hepatitis A: problems of clinic, diagnostics, prevention in the Republic of Belarus // Recept. – 2006. – N 4 (48). – P. 125–131. (in Russian)

11. Ющук Н.Д., Климова Е.А., Знойко О.О., Кареткина Г.Н. и др. Вирусные гепатиты. Клиника, диагностика, лечение. – М.: ГЭОТАР-Медицина, 2012. – 160 с.

Yushchuk N.D., Klimova E.A., Znoyko O.O., Karetkina G.N. et al. Viral hepatitis. Clinic, diagnostics, treatment. – Moscow: GEOTAR-Medicina, 2012. – 160 c. (in Russian)

Сведения об авторах

Чудинова Екатерина Леонидовна – младший научный сотрудник лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67, факс: 8 (3952) 20-76-36; e-mail: medec_iphr@sbamsr.irk.ru)

Шолохов Леонид Федорович – доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией физиологии и патологии эндокринной системы Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Колесникова Любовь Ильинична – член-корр. РАН, директор Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Федоров Борис Александрович – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории гинекологической эндокринологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Рашидова Мария Александровна – и. о. младшего научного сотрудника лаборатории физиологии и патологии эндокринной системы Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Information about the authors

Chudinova Ekaterina Leonidovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003; tel.: +7 (3952) 20-73-67, fax: +7 (3952) 20-76-36; e-mail: medec_iphr@sbamsr.irk.ru)

Sholokhov Leonid Fyodorovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Kolesnikova Lyubov Iljichina – Corresponding Member of RAS, Director of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Fyodorov Boris Aleksandrovich – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Gynaecological Endocrinology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Rashidova Maria Aleksandrovna – Ag. Junior Research Officer of the Laboratory of Physiology and Pathology of Endocrine System of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

КЛИНИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИСПЫТАНИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

УДК 616.06-12; 575.164; 57.049

М.В. Хуторная, А.В. Понасенко, Ю.В. Байракова, А.С. Головкин

ВЗАИМОСВЯЗЬ ПОЛИМОРФИЗМОВ ГЕНА *IL1B* И ТАБАКОКУРЕНИЯ С РИСКОМ ВОЗНИКНОВЕНИЯ ИНФАРКТА МИОКАРДА

Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний
(Кемерово)

Генотип и табакокурение определяют риски развития инфаркта миокарда (ИМ) у пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС). Гомозиготный генотип C (rs16944) IL1B ассоциирован с ИМ (ОШ = 3,17 (95% ДИ = 0,92–10,89); $p < 0,01$), а гетерозиготное носительство этой аллели риски не увеличивает (ОШ = 1,36 (95% ДИ = 0,83–2,2); $p = 0,01$). Табакокурение увеличивает риск ИМ в 5 раз (ОШ = 5,16 (95% ДИ = 1,05–25,39); $p < 0,05$) у гомозигот, в 1,5 раза (ОШ = 1,46 (95% ДИ = 0,77–2,78); $p < 0,05$) – у гетерозигот 511T/C IL1B. Геплотип CT (rs1143634 – rs16944) IL1B связан со снижением риска ИМ у некурящих пациентов (ОШ = 0,43 (95% ДИ = 0,19–0,95); $p < 0,01$).

Ключевые слова: интерлейкин-1, полиморфизмы, гены, табакокурение, инфаркт миокарда, ишемическая болезнь сердца, факторы риска, генетическая предрасположенность

RELATIONSHIP BETWEEN *IL1B* GENE POLYMORPHISM AND SMOKING WITH THE RISK OF MYOCARDIAL INFARCTION

M.V. Khutornaya, A.V. Ponasenko, Yu.V. Bayrakova, A.S. Golovkin

Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases, Kemerovo

Genotype and smoking determined risks of myocardial infarction in patients with ischemic heart disease. Homozygous genotype C (rs16944) of IL1B is associated with myocardial infarction (OR = 3,17 (95% CI = 0,92–10,89); $p < 0,01$) and heterozygous carrier state of this allelic gene doesn't increase risks (OR = 1,36 (95% CI = 0,83–2,2); $p = 0,01$). Smoking 5 times increases risk of myocardial infarction (OR = 5,16 (95% CI = 1,05–25,39); $p < 0,05$) in homozygotes, and 1,5 times (OR = 1,46 (95% CI = 0,77–2,78); $p < 0,05$) – in heterozygotes of 511T/C IL1B. Haplotype CT (rs1143634 – rs16944) of IL1B is connected with the decrease of risk of myocardial infarction in nonsmoking patients (OR = 0,43 (95% DI = 0,19–0,95); $p < 0,01$).

Key words: interleukin 1, polymorphisms, genes, smoking, myocardial infarction, ischemic heart disease, risk factors, genetic predisposition

Инфаркт миокарда занимает ведущее место в структуре смертности кардиологических больных [6]. В то же время развитие инфаркта миокарда напрямую связано с ишемической болезнью сердца (ИБС), а многочисленные эпидемиологические, клинические и экспериментальные исследования показывают определяющее значение в возникновении ИБС и её прогрессировании различных факторов риска (ФР) и генетической предрасположенности. Одним из распространённых ФР признано табакокурение. Курение является модифицируемым фактором риска, но его вклад в патогенез ИБС настолько значителен, что некоторые авторы [4] рассматривают табакокурение в качестве этиологического фактора этого заболевания. Табакокурение является острой проблемой в современном здравоохранении, в том числе и в отношении развития осложнений ИБС в виде инфаркта миокарда. Курение табака стимулирует выброс адреналина, что может привести к катехоламиновым повреждениям сосудистой стенки и миокарда, а также вызывать спазм коронарных артерий. Установлено и прокоагулянтное

действие компонентов табака. У курильщиков в крови увеличивается содержание плазменного фибриногена, усиливается агрегация тромбоцитов, что повышает вероятность тромбоза и сосудистых катастроф [3].

Ишемическая болезнь сердца относится к заболеваниям мультифакториальной природы, и значительную роль в её патогенезе играет генетическая предрасположенность. Генетически детерминированные механизмы адаптации тесно связаны с воспалением, и в то же время воспаление признано одним из ведущих факторов развития атеросклероза ИБС [7]. Система цитокинов является одной из ключевых в сложном механизме атерогенеза и вносит существенный вклад в динамику воспалительного ответа. Цитокины не только способствуют эффективной иммунной защите против повреждающих факторов, но и определяют степень выраженности воспалительного процесса [2].

В каскаде провоспалительных цитокинов ключевое значение принадлежит интерлейкину-1 бета (interleukin 1 beta – IL-1 β), обладающему воспалительной и иммунорегуляторной активностью. Нарушение

баланса в продукции белков IL-1 β может влиять на характер заболевания и являться одним из пусковых моментов для генерации патологических изменений [1]. Известно, что структурные различия в генах, контролирующих защитные реакции организма, могут определять различный характер воспалительного ответа и выраженность специфических иммунологических реакций [5].

Цель работы: оценить значение совокупности генетической предрасположенности (полиморфизмов гена *IL1B*) и табакокурения в риске развития инфаркта миокарда у пациентов с ишемической болезнью сердца.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включены 317 пациентов, подвергшиеся аортокоронарному шунтированию на базе Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (г. Кемерово). Группу контроля составили 300 доноров, проживающих на территории крупного промышленного Западно-Сибирского региона Российской Федерации (Кемеровская область). Группы были сопоставимы по гендерно-половым признакам (мужчин – 71 %, женщин – 29 %; средний возраст составил 47 лет). Исследование одобрено локальным этическим комитетом Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний. Все участники были проинформированы о проведении исследования и дали письменное добровольное согласие на участие. В качестве группы референсных значений для анализа частоты встречаемости полиморфизмов гена в исследуемой популяции, приняты данные международной базы NSBI для популяции европеоидов. Материалом в исследовании послужили образцы геномной ДНК. Выделение производилось методом фенол-хлороформной экстракции с протеиназой K по модификации K. Smith et al. из цельной венозной крови [9]. Концентрация и качество выделения ДНК проверялась с использованием спектрофотометра NanoDrop-2000 (TFS, США). Идентификацию аллельных вариантов гена *IL1B* осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (англ. Polymerase Chain Reaction in Real Time (RT-PCR)) [8] с использованием коммерческого набора для пробоподготовки к ПЦР TagMan® Universal PCR MasterMix no AmpErase UNG и флуоресцентно меченных зондов по технологии Taqman (Applied Biosystems, США). Проведение RT-PCR осуществляли согласно протоколу производителя. Ис-

следовали однонуклеотидные замены в полиморфных локусах *IL1B* rs1143634 (-3953C/T) и rs16944 (-511T/C). Использовали статистические процедуры программного обеспечения SNPStats. Для оценки рисков, предоставляемых определенными аллелями или генотипами, высчитывали отношения шансов (ОШ) с 95% доверительными интервалами (95% ДИ). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Распределение генотипов и частот встречаемости аллелей в анализируемых группах по всем исследуемым локусам было равновесным в соответствии с законом Харди – Вайнберга.

Анализ полученных данных проводили в несколько этапов. На первом этапе было проведено сравнение частот генотипов и аллелей гена *IL1B* между группами у пациентов с ИБС, контрольной группой и популяцией европеоидного происхождения (база NCBI). В результате было определено, что частота аллелей в популяции европеоидов была сопоставима ($p > 0,05$) с таковой у доноров контрольной группы, жителей Кемеровской области (табл. 1).

Сходные характеристики структуры исследуемых локусов в двух анализируемых популяциях предполагают возможность использования полученных в настоящем исследовании результатов применительно ко всем лицам европеоидного происхождения.

Одновременно сопоставление частот аллелей и генотипов *IL1B* rs1143634 (-3953C/T) и rs16944 (-511T/C) доноров контрольной группы и пациентов с ИБС показало отсутствие статистически значимых отличий ($p > 0,05$) между этими группами (табл. 2).

Такое распределение частот генотипов демонстрирует отсутствие ассоциаций изучаемых генетических маркеров с ишемической болезнью сердца. Однако установлено, что носительство минорных аллелей являлось критичным для формирования острого коронарного события в виде инфаркта миокарда. Для этого был проведен третий этап анализа. На этом этапе в обработку включены только пациенты с ИБС, поделенные на 2 группы: 1-я группа – пациенты, имеющие в анамнезе инфаркт миокарда (197 человек); 2-я группа – пациенты, не имеющие в анамнезе инфаркт миокарда (120 человек).

Было установлено, что достоверные отличия между пациентами с инфарктом миокарда и без него имеются только по маркерному региону -511T/C (рис. 1), в то время как -3953C/T не имел ассоциаций с этим ослож-

Таблица 1

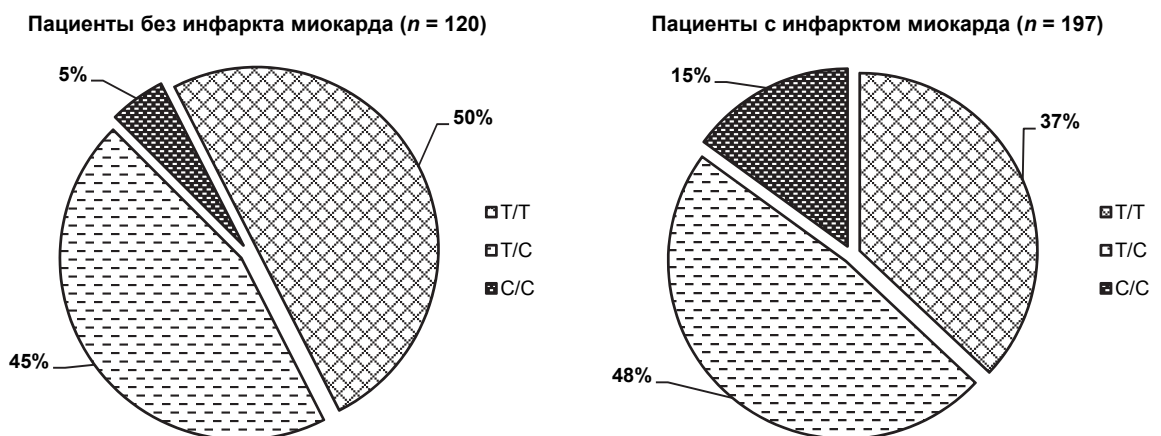
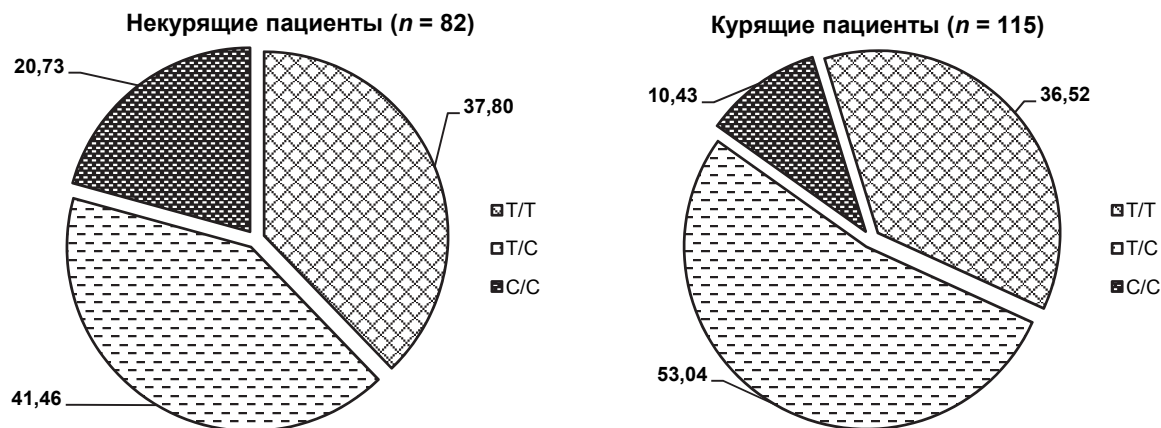
Частота встречаемости аллелей локусов гена *IL1B*

Аллель	Европеоиды (n = 120)	Доноры (n = 300)	Пациенты с ИБС (n = 317)
rs1143634 (-3953 C/T)			
C	179 (74,58 %)	431 (71,83%)	473 (74,61 %)
T	61 (25,41 %)	169 (28,17%)	161(25,39 %)
rs16944 (-511 T/C)			
T	155 (64,58 %)	387 (64,50 %)	415 (65,46 %)
C	85 (35,42 %)	213 (35,50 %)	219 (34,54 %)

Таблица 2

Частота генотипов *IL1B* у доноров контрольной группы и пациентов с ишемической болезнью сердца

Группа исследования	Генотип			p
	rs1143634 (-3953 C/T)			
	C/C	C/T	T/T	
Доноры (n = 300)	154 (51,33%)	123(41,00%)	23 (7,67%)	0,89
Пациенты с ИБС (n = 317)	174 (54,89%)	125 (39,43%)	18 (5,68%)	0,55
Группа исследования	rs16944 (-511T/C)			p
	T/T	C/T	C/C	
Доноры (n = 300)	121(40,33%)	145(48,33%)	34 (11,34%)	0,38
Пациенты с ИБС (n = 317)	133 (41,96%)	149 (47,00)	35 (11,04%)	0,54

Рис. 1. Распределение генотипов rs16944 *IL1B* в двух группах пациентов с ИБС (%).Рис. 2. Частота встречаемости генотипов rs16944 *IL1B* у пациентов с ИБС, имеющих в анамнезе инфаркт миокарда (%).

нением. Лица, являющиеся носителями гомозиготного генотипа по минорному аллелю C rs16944 *IL1B*, в 3 раза чаще (ОШ = 3,17 (95% ДИ = 0,92–10,89); $p = 0,006$) имели инфаркты, тогда как у гетерозигот риски значительно не увеличивались (ОШ = 1,36 (95% ДИ = 0,83–2,2); $p = 0,01$). Эти риски не зависели ни от возраста пациента, ни от его половой принадлежности.

Далее группу пациентов с инфарктом миокарда разделили на 2 подгруппы: курящие (115 человек) и некурящие (82 человека). Частота встречаемости минорного аллеля C -511T/C (рис. 2) у пациентов обеих групп была равной (62 % у некурящих и 63 % у курящих).

Однако у пациентов с инфарктом миокарда, не курящих табак, частота генотипа C/C полиморфизма -511T/C *IL1B* в 2 раза выше, чем у курящих пациентов (20,73 % против 10,43 %; $p < 0,05$), что предполагает активное участие воспаления в формировании острых сердечных событий у курильщиков. Данные результаты дополняют известные [3, 7] к настоящему времени сведения об участии воспаления в атерогенезе и роли табакокурения как иницирующего воспалительный ответ фактора. Одновременно определено, что при прочих равных условиях наличие такого фактора риска, как курение, дополнительно увеличивает риск

возникновения инфарктов миокарда в 5 раз (ОШ = 5,16 (95% ДИ = 1,05–25,39); $p < 0,05$) у гомозиготных носителей минорного аллеля С (генотип С/С rs16944 *IL1B*) и в 1,5 раза (ОШ = 1,46 (95% ДИ = 0,77–2,78); $p < 0,05$) – у гетерозигот (генотип Т/С rs16944 *IL1B*), что указывает на значимое влияние никотиновой зависимости на процесс формирования инфаркта миокарда как фактора, усугубляющего генетическую предрасположенность.

Независимо от того, что не было определено роли полиморфизма в локусе -3953С/Т *IL1B* ни при ишемической болезни сердца, ни для острых коронарных событий, анализ ассоциаций показал его протективное значение. Установлено, что носительство гаплотипа СТ (rs1143634 – rs16944) связано с уменьшением риска инфарктов в 2 раза у некурящих пациентов (ОШ = 0,43 (95% ДИ = 0,19–0,95); $p = 0,0011$). У курящих пациентов такой зависимости выявлено не было. Отсутствие положительных ассоциаций у курящих пациентов указывает на значение никотиновой зависимости в процессе осложнений ишемической болезни сердца воспалительного генеза.

ВЫВОДЫ

Генетическая вариабельность маркерных локусов гена *IL1B* может вносить значимый вклад в развитие инфарктов миокарда у пациентов с сердечной патологией. Совокупность носительства генотипа С/С rs16944 *IL1B* и табакокурения у пациентов с ишемической болезнью сердца связана с увеличением риска возникновения инфаркта миокарда в 5 раз, тогда как отказ от никотиновой зависимости позволяет снизить риск в среднем в 2 раза. Одновременно, носительство гаплотипа СТ (rs1143634 – rs16944 *IL1B*) связано с уменьшением риска инфарктов в 2 раза у некурящих пациентов, тогда как для курящих пациентов такой взаимосвязи не выявлено.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Громова А.Ю., Симбирцев А.С. Полиморфизм генов семейства IL-1 человека // Цитокины и воспаление. – 2005. – Т. 4, № 2. – С. 3–12.

Gromova A.Yu., Simbirtsev A.S. Polymorphism of human genes of IL-1 family // Citokiny i vospalenie. – 2005. – Vol. 4, N 2. – P. 3–12. (in Russian)

2. Козлов В.К. Сепсис: методология и алгоритм диагностики по критериям дисфункции иммунной системы // Клиническая иммунология, аллергология, инфектология. – 2009. – Т. 7 (26), № 6. – С. 26–29.

Kozlov V.K. Sepsis: methodology and algorithm of diagnostics by the criteria of immune system dysfunction // Klinicheskaja immunologija, allergologija, infektologija. – 2009. – Vol. 7 (26), N 6. – P. 26–29. (in Russian)

3. Смирнова И.П., Коновалова Т.Т. Современное состояние проблемы атеросклероза: факторы риска, роль курения в атерогенезе // Сибирский медицинский журнал. – 2006. – № 1. – С. 15–23.

Smirnova I.P., Konovalova T.T. Modern state of problem of atherosclerosis: risk factors, role of smoking in atherogenesis // Sibirskij medicinskij zhurnal. – 2006. – N 1. – P. 15–23. (in Russian)

4. Шевченко Н.М. Кардиология. – М.: Медицинское информационное агентство. – 2006. – 544 с.

Shevchenko N.M. Cardiology. – Moscow: Medicinskoe informacionnoe agentstvo. – 2006. – 544 p.

5. Araki S., Shimada Y., Kaji K. et al. Apoptosis of vascular endothelial cells by fibroblast growth factor deprivation // Biochem. Biophys. Res. Commun. – 1990. – Vol. 168. – P. 1194–1200.

Dolbilkin A.Y., Abramovich S.G., Raspopin Y.A. Condition of microcirculation at patients with the arterial hypertension under the influence of the complex magneto therapy. Health medical ecology // Science. – 2014. – Vol. 2, N 56. – P. 79–83.

6. Hansson G.K. Inflammation, atherosclerosis, and coronary artery disease // N. Engl. J. Med. – 2005. – Vol. 352, N 16. – P. 1685–1695.

Heid C.A., Stevens J., Livak K.J., Williams P.M. Real time quantitative PCR // Genome Research. – 1996. – N 6. – P. 986–994.

9. Smith K., Klinko C., Cantor C. Puls-electrophoresis and methods of work with the big molecules of DNA // The Analysis of the Genome. Methods. – Moscow: Mir, 1990. – P. 58–94.

Сведения об авторах

Хуторная Мария Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6; e-mail: masha_hut@mail.ru)

Понасенко Анастасия Валериевна – заведующая лабораторией геномной медицины отдела экспериментальной и клинической кардиологии Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (e-mail: ponaav@cardio.kem.ru)

Байракова Юлия Вячеславовна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории реконструктивной хирургии отдела мультифокального атеросклероза Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (e-mail: bayakovayv@gmail.com)

Головкин Алексей Сергеевич – кандидат медицинских наук, заведующий отделом экспериментальной и клинической кардиологии Научно-исследовательского института комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний (e-mail: goloas@cardio.kem.ru)

Information about the authors

Khutornaya Maria Vladimirovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Genomic Medicine of the Department of Experimental and Clinical Cardiology of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (Sosnovy blvd, 6, Kemerovo, 650002; e-mail: masha_hut@mail.ru)

Ponassenko Anastasia Valerievna – Head of the Laboratory of Genomic Medicine of the Department of Experimental and Clinical Cardiology of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (e-mail: ponaav@cardio.kem.ru)

Bayrakova Yulia Vyacheslavovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Reconstructive Surgery of the Department of Multifocal Atherosclerosis of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (e-mail: bayakovayv@gmail.com)

Golovkin Alexey Sergeevich – Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Experimental and Clinical Cardiology of the Research Institute for Complex Issues of Cardiovascular Diseases (e-mail: goloas@cardio.kem.ru)

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

УДК 579.22.017.3

Е.В. Анганова^{1,4}, Е.Д. Савилов^{1,4}, О.А. Ушкарева², А.М. Аблов³, А.В. Духанина¹

СПОСОБНОСТЬ ПАТОГЕННЫХ И УСЛОВНО-ПАТОГЕННЫХ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ К ФОРМИРОВАНИЮ БИОПЛЕНОК

¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

² Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Саха (Якутия) (Якутск)

³ Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория (Иркутск)

⁴ Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования (Иркутск)

Большинство исследованных возбудителей кишечных инфекций способны к формированию биопленок (*Salmonella* spp. – 84,2 %; *Shigella* spp. – 90,0 %; патогенные *E. coli* – 75,0 %; условно-патогенные энтеробактерии, изолированные от людей с кишечными инфекциями – 100,0 %, изолированные от больных животных – 83,3 %). У изученных микроорганизмов в условиях культивирования при температуре 37 °C, по сравнению с более низкой температурой (24 °C), наблюдалось более активное формирование биопленочных сообществ.

Ключевые слова: бактериальные биопленки, степень биопленкообразования, условно-патогенные энтеробактерии, шигеллы, сальмонеллы, патогенные эшерихии, возбудители кишечных инфекций

ABILITY OF PATHOGENIC AND OPPORTUNISTIC PATHOGENIC ENTEROBACTERIACEAE TO THE FORMATION OF BIOFILMS

E.V. Anganova^{1,4}, E.D. Savilov^{1,4}, O.A. Ushkareva², A.M. Ablov³, A.V. Dukhanina¹

¹ Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

² Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Sakha (Yakutia), Yakutsk

³ Irkutsk Interregional Veterinary Laboratory, Irkutsk

⁴ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

The most of studied pathogens of intestinal infections are capable of forming biofilms (*Salmonella* spp. – 84,2 %; *Shigella* spp. – 90,0 %; pathogenic *E. coli* – 75,0 %; opportunistic Enterobacteriaceae isolated from people with intestinal infections – 100,0 %, isolated from diseased animals – 83,3 %). More active formation of biofilms in studied microorganisms was detected in conditions of cultivation at 37 °C, in comparison with lower temperatures (24 °C).

Key words: bacterial biofilms, degree of biofilm formation, opportunistic Enterobacteriaceae, *Shigella*, *Salmonella*, pathogenic *Escherichia*, enteric pathogens

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время биопленки находятся в фокусе особого внимания, что связано с возросшим объемом информации, касающейся роли данной организации микроорганизмов при инфекционных заболеваниях человека [1, 3]. Н.В. Белобородова [2], И.В. Чеботарь с соавт. [9] и другие авторы подчеркивают, что в ближайшее время мишенью для воздействия на инфекционный и микробный процессы станут не только сами бактерии, но также и микробные биопленки, т. к. биопленочные сообщества обеспечивают бактериям большую устойчивость к неблагоприятным факторам воздействия. Особое практическое значение имеет определение степени способности микроорганизмов образовывать биопленки [4].

Цель исследования: изучение биопленкообразования у патогенных и условно-патогенных энтеробактерий, выделенных от человека и животных при кишечных инфекциях.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Биопленкообразование определяли у культур, выделенных из испражнений, поступивших на исследование в бактериологические лаборатории ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии в Республике Саха (Якутия)». Всего исследовано 63 штамма бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, в т. ч. условно-патогенные энтеробактерии (УПЭ) – 34 (*Proteus mirabilis* – 3, *Klebsiella oxytoca* – 3, *K. pneumoniae* – 15, *Citrobacter freundii* – 8, *Enterobacter aerogenes* – 2, *E. cloacae* – 2, *Morganella morganii* – 1), патогены – 29 (*Salmonella typhimurium* – 2, *S. enteritidis* – 17, *Shigella flexneri* 2a – 5, *S. sonnei* – 5). Также исследовали 14 изолятов, выделенных от животных на базе Иркутской межобластной ветеринарной лаборатории, из них патогенные *E. coli* – 8 (O4 – 1; O20 – 2; O141 – 1; O15 – 2; O8 – 2), условно-патогенные энтеробактерии – 6 (*P. vulgaris* – 2, *P. mirabilis* – 2, *P. rettgeri* – 1, *C. Freundii* – 1). Идентификация микроорганизмов проводилась методами традиционной таксономии с учетом морфо-

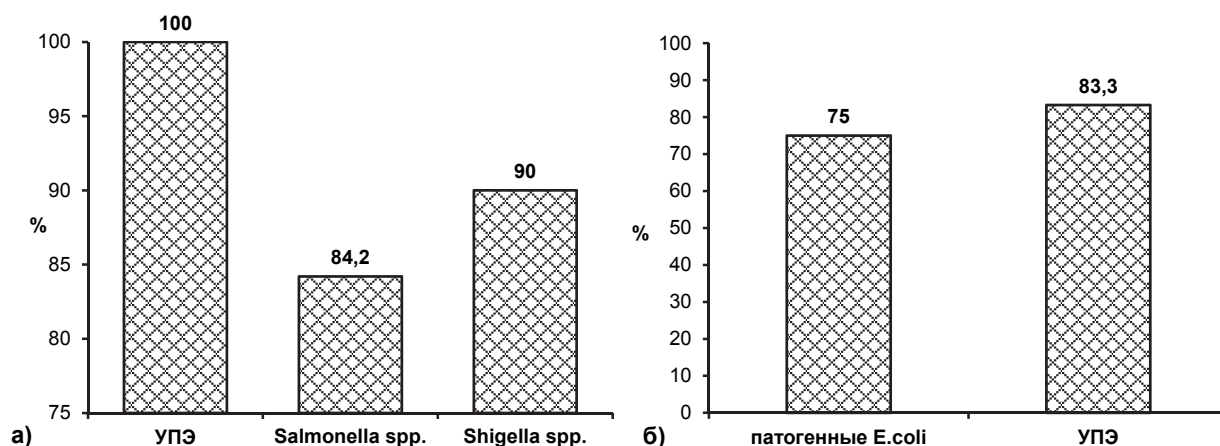


Рис. 1. Способность патогенных и условно-патогенных энтеробактерий, возбудителей кишечных инфекций к образованию биопленок: а – изоляты от человека; б – изоляты от животных.

логических, культуральных, биохимических и антигенных свойств, согласно существующим методикам [5, 6, 7]. Образование биопленок изучали с помощью определения способности штаммов энтеробактерий к адгезии на поверхности 96-луночной полистироловой панели [10]. Микроорганизмы культивировали на мясо-пептонном бульоне (МПБ) при двух температурах (24 ° и 37 °С) в течение 48 ч. Из лунок панели удаляли планктонные клетки и окрашивали пленки. Для этого в лунку вносили 150,0 мкл дистиллированной воды и 20,0 мкл 1% кристаллвиолета и инкубировали в течение 45 мин при комнатной температуре. После трехкратного промывания дистиллированной водой в лунки для экстракции краски из пленки добавляли 200,0 мкл 96% этанола и измеряли оптическую плотность раствора при длине волны 492 нм. Интенсивность окрашивания содержимого лунок соответствовала степени пленкообразования. Количественным выражением степени образования биопленок служили значения оптической плотности (ОП), измеряемые на спектрофотометре. Значимость различий полученных показателей определяли по критерию Стьюдента [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Свойство биопленкообразования было выявлено у подавляющего большинства протестированных изолятов. Условно-патогенные энтеробактерии, изолированные от людей с острыми кишечными инфекциями, в 100 % случаев обладали способностью к формированию биопленочных сообществ; среди шигелл и сальмонелл данное свойство выявлено в 90,0 % и 84,2 % случаев соответственно. Также высокой оказалась частота встречаемости биопленкообразования у энтеробактерий, изолированных от больных животных (рис. 1).

Следует отметить влияние температуры на биопленкообразование бактерий. При культивировании при более низкой температуре способность штаммов энтеробактерий образовывать биопленки снижалась. Установлено, что у энтеробактерий, выделенных от больных с кишечными инфекциями, формирование

биопленок более активно идет при температуре 37 °С, по сравнению с таковым при температуре 24 °С. Так, при температуре 24 °С способность формировать биопленки выявлена у 60,3 % штаммов микроорганизмов, при 37 °С – у 93,6 % изолятов. Различия носили значимый характер ($p < 0,05$). Данная закономерность выявлена как в отношении условно-патогенных энтеробактерий, так и в отношении патогенов-бактерий родов *Salmonella* и *Shigella* (рис. 2).

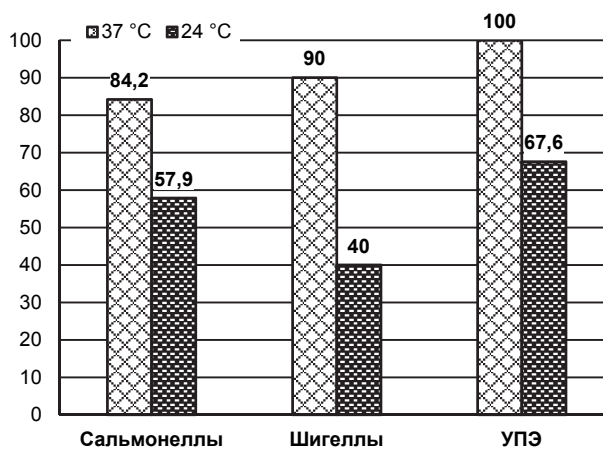


Рис. 2. Способность шигелл, сальмонелл и условно-патогенных энтеробактерий формировать биопленки при разных температурах культивирования (%).

Условно-патогенные энтеробактерии при температуре 37 °С формировали биопленки во всех случаях, при снижении температуры их способность к пленкообразованию уменьшилась до 67,6 % ($p < 0,01$). Бактерии рода *Salmonella* в условиях 37 °С были способны к биопленкообразованию в 84,2 % случаев, в условиях 24 °С – только в 57,9 % случаев. Культивирование представителей рода *Shigella* при снижении температуры также привело к уменьшению ($p < 0,05$) встречаемости изолятов, способных формировать биопленки (с 90,0 % до 40,0 % соответственно).

Сравнение плотности пленкообразования при культивировании в разных температурных условиях показало, что при более высокой температуре (37 °С)

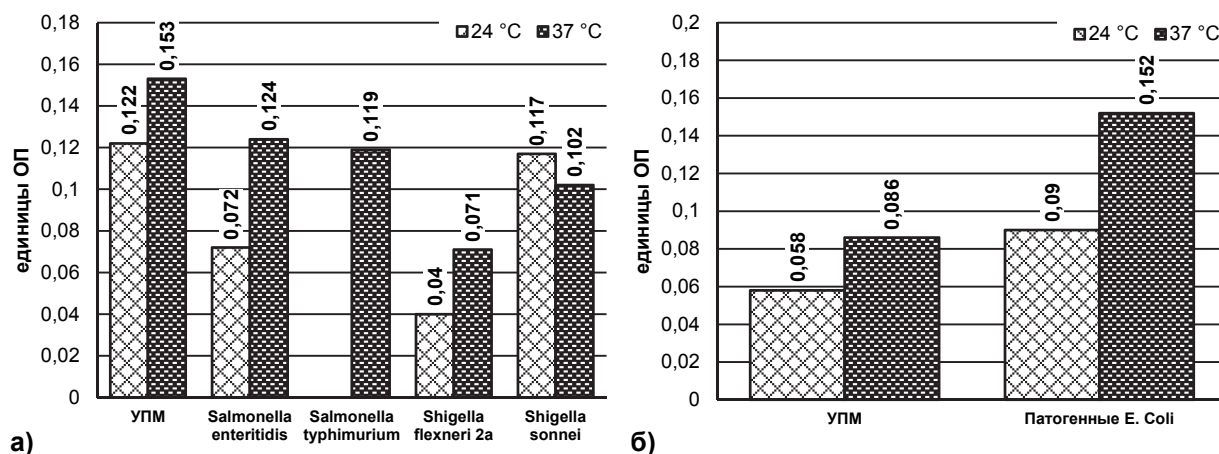


Рис. 3. Плотность пленкообразования энтеробактерий при разных температурах культивирования: а – изоляты от человека; б – изоляты от животных.

уровень адсорбции кристалвиолета этанолом был выше, чем при 24 °C. Превышение оптической плотности пленкообразования в условиях культивирования при температуре 37 °C, по сравнению с более низкой температурой, было отмечено в отношении большинства протестированных штаммов (рис. 3).

Сравнение различных представителей энтеробактерий по степени биопленкообразования показало, что условно-патогенные энтеробактерии, выделенные от людей с кишечными инфекциями, характеризовались более высоким уровнем адсорбции кристалвиолета этанолом, по сравнению с *Salmonella spp.* и *Shigella spp.* Низкая степень пленкообразования была отмечена у *Shigella flexneri* 2a: 0,04 единиц ОП при температуре 24 °C и 0,071 единиц ОП при температуре 37 °C. Патогенные *E. coli*, изолированные от животных с колибактериозами, характеризовались высокой плотностью биопленки при культивировании при 37 °C (0,152 единиц ОП).

Таким образом, проведенные исследования показали, что большинство исследованных возбудителей кишечных инфекций, изолированных от человека и животных, способны к образованию биопленок. У протестированных микроорганизмов более активное формирование биопленочных сообществ наблюдалось в условиях культивирования при температуре 37 °C, по сравнению с более низкой температурой (24 °C). Наиболее высокая плотность биопленок была выявлена в условиях культивирования при 37 °C среди условно-патогенных энтеробактерий, изолированных от людей с кишечными инфекциями, и патогенных *E. coli*, выделенных от животных при колибактериозах.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

- Анганова Е.В. Условно-патогенные энтеробактерии: доминирующие популяции, биологические свойства, медико-экологическая значимость: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Иркутск, 2012. – 46 с.
- Anganova E.V. Opportunistic pathogenic Enterobacteriaceae: dominant populations, biological features, medico-ecological relevance: Abstract of dissertation

of Doctor of Biological Sciences. – Irkutsk, 2012. – 46 p. (in Russian)

- Белобородова Н.В. Клиническое значение микробных биопленок [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.internist.ru>.

Beloborodova N.V. Clinical relevance of microbial biofilms [Digital Source]. – On-line access: <http://www.internist.ru>. (in Russian)

- Голуб А.В. Бактериальные биопленки – новая цель терапии? // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 23–29.

Golub A.V. Bacterial biofilms – new aim of therapy? // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. – 2012. – Vol. 14, N 1. – P. 23–29. (in Russian)

- Лямин А.В., Боткин Е.А., Жестков А.В. Проблемы в медицине, связанные с бактериальными биопленками // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 4. – С. 268–275.

Lyamin A.V., Botkin E.A., Zhestkov A.V. Problems in medicine connected with bacterial biofilms // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. – 2012. – Vol. 14, N 4. – P. 268–275. (in Russian)

- Определитель бактерий Берджи: в 2-х т. Пер. с англ. / Под. ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уилльямса. – М.: Мир, 1997. – Т. 1. – 432 с.

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology: in 2 volumes. Transl. from the Engl. / Ed. by J. Holt, N. Krieg, P. Sneath, J. Staley, S. Williams. – Moscow: Mir, 1997. – Vol. 1. – 432 p. (in Russian)

- Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинко-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.1985.

To the standardization of microbiological (bacteriological) methods of research used in clinicodiagnostic laboratories of medical preventive institutions: Order of Ministry of Health of the USSR N 535 d.d. 22.04.1985. (in Russian)

- Руководство по медицинской микробиологии / Под ред. А.С. Лабинской, Н.Н. Костюковой. – М.: БИНОМ, 2013. – 752 с.

Manual on the medical microbiology / Ed. by A.S. Labinskaya, N.N. Kostyukova. – Moscow: BINOM, 2013. – 752 p. (in Russian)

8. Савилов Е.Д., Астафьев В.А., Жданова С.Н., Заруднев Е.А. Эпидемиологический анализ: методы статистической обработки материала. – Новосибирск: Наука-Центр, 2011. – 156 с.

Savilov E.D., Astafjev V.A., Zhdanova S.N., Zarudnev E.A. Epidemiological analysis: methods of statistical data processing. – Novosibirsk: Nauka-Centr, 2011. – 156 p. (in Russian)

9. Чеботарь И.В., Маянский А.Н., Кончакова Е.Д., Лазарева А.В. и др. Антибиотикорезистентность биопленочных бактерий // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2012. – Т. 14, № 1. – С. 51–58.

Chebotar I.V., Mayanskiy A.N., Konchakova E.D., Lazareva A.V. et al. Antibiotic resistance of biofilm bacteria // Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. – 2012. – Vol. 14, N 1. – P. 51–58. (in Russian)

10. O'Toole G.A., Kaplan H.B., Kolter R. Biofilm formation as microbial development // Ann. Rev. Microbiol. – 2000. – Vol. 54. – P. 49–79.

Сведения об авторах

Анганова Елена Витальевна – доктор биологических наук, профессор кафедры эпидемиологии и микробиологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664025, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3; тел.: 8 (3952) 33-34-25; e-mail: eva.irk@mail.ru)

Савилов Евгений Дмитриевич – доктор медицинских наук, профессор, главный научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека, заведующий кафедрой эпидемиологии и микробиологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования (e-mail: savilov47@gmail.com)

Ушкарева Ольга Антоновна – главный врач Центра гигиены и эпидемиологии в Республике Саха (Якутия) (677005, г. Якутск, ул. Петра Алексеева, 60/2; тел.: 8 (4112) 22-63-70; e-mail: fguz@fguz-sakha.ru)

Аблов Александр Михайлович – заместитель директора Иркутской межобластной ветеринарной лаборатории (664005, г. Иркутск, ул. Боткина, 4; тел.: 8 (3952) 38-91-09, e-mail: imvl2004@mail.ru)

Духанина Алла Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально значимых инфекций Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: duhanina.alla@yandex.ru)

Information about the authors

Anganova Elena Vitaljevna – Doctor of Biological Sciences, Professor of the Department of Epidemiology and Microbiology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Senior Research Officer of the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Karl Marks str., 3, Irkutsk, 664025; tel.: +7 (3952) 33-34-25; e-mail: eva.irk@mail.ru)

Savilov Yevgeny Dmitrievich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Chief Research Officer of the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Head of the Department of Epidemiology and Microbiology of Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education (e-mail: savilov47@gmail.com)

Ushkareva Olga Antonovna – Head Physician of the Center for Hygiene and Epidemiology in the Republic of Sakha (Yakutia) (Petra Alekseeva str., 60/2, Yakutsk, 677005; tel.: +7 (4112) 22-63-70; e-mail: fguz@fguz-sakha.ru)

Ablov Alexander Mikhaylovich – Deputy Director of Irkutsk Interregional Veterinary Laboratory (Botkina str., 4, Irkutsk, 664005; tel.: +7 (3952) 38-91-09; e-mail: imvl2004@mail.ru)

Dukhanina Alla Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: duhanina.alla@yandex.ru)

Т.Г. Боровская ¹, С.И. Камалова ¹, Н.А. Кривова ², О.Б. Заева ², Т.И. Фомина ¹, М.Е. Полуэктова ¹,
А.В. Вычужанина ¹, Ю.А. Шемерова ¹, В.А. Григорьева ², В.Е. Гольдберг ¹, М.Б. Плотников ^{1, 2}

ВЛИЯНИЕ П-ТИРОЗОЛА НА МОРФОЛОГИЮ И АНТИОКСИДАНТНО-ПРООКСИДАНТНЫЙ БАЛАНС ПРЕДСТАТЕЛЬНОЙ ЖЕЛЕЗЫ КРЫС ПРИ ИНДУЦИРОВАННОЙ СУЛЬПИРИДОМ ДОБРОКАЧЕСТВЕННОЙ ГИПЕРПЛАЗИИ

¹ Научно-исследовательский институт фармакологии им. Е.Д. Гольдберга (Томск)

² Национальный исследовательский Томский государственный университет (Томск)

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния п-тирозола на морфологию и антиоксидантно-прооксидантный баланс предстательной железы крыс при индуцированной сульпиридом ее доброкачественной гиперплазии. Установлено, что введение п-тирозола способствовало торможению развития патологического процесса, о чем свидетельствовала меньшая степень выраженности пролиферативных процессов эпителия и клеточной инфильтрации стромы. При этом отмечалось возрастание антиоксидантного резерва железы.

Ключевые слова: п-тирозол, доброкачественная гиперплазия простаты, крысы, морфология, антиоксидантно-прооксидантный баланс

INFLUENCE OF P-THYROZOL ON THE MORPHOLOGY AND ANTIOXIDANT-PROOXIDANT BALANCE IN PROSTATE OF RATS AT SULPIRIDE-INDUCED BENIGN PROSTATIC HYPERPLASIA

T.G. Borovskaya ¹, S.I. Kamalova ¹, N.A. Krivova ², O.B. Zaeva ², T.I. Fomina ¹, M.Ye. Poluektova ¹,
A.V. Vychuzhanina ¹, Y.A. Shchemerova ¹, V.A. Grigorieva ², V.Ye. Goldberg ¹, M.B. Plotnikov ^{1, 2}

¹ Goldberg Research Institute of Pharmacology, Tomsk

² National Research Tomsk State University, Tomsk

The aim of the research was to study the influence of p-thyrozol on the morphology and antioxidant-prooxidant balance in prostate of rats at sulpiride-induced benign prostatic hyperplasia. It was found that introduction of p-thyrozol promoted thwarting progress of pathological process that was proved by less degree of manifestation of proliferative processes in epithelium and of cellular infiltration of stroma. In addition, increase of antioxidant reserve of gland was registered.

Key words: p-thyrozol, prostatic hyperplasia, rats, morphology, antioxidant-prooxidant balance

ВВЕДЕНИЕ

Абсолютное число зарегистрированных пациентов с заболеваниями предстательной железы в последние годы прогрессивно возрастает [1]. Среди патологий простаты наиболее распространена доброкачественная гиперплазия (ДГПЖ), опережающая частоту встречаемости рака простаты и простатита [2]. По данным разных авторов, это заболевание встречается более чем у 50 % мужчин в возрасте 51–60 лет [12]. Развитие данного состояния связывают, в основном, со стромальной и железистой пролиферацией клеток в периуретральной зоне [11]. Железистая гиперплазия происходит в результате превращения тестостерона в дигидротестостерон под действием фермента 5-альфа-редуктазы [6]. Результаты исследований, проведенных в последнее десятилетие, свидетельствуют о полиэтиологичности ДГПЖ. Установлено, что нарушения метаболических процессов сопровождается нарушением микроциркуляции, воспалительной реакцией, развитием окислительного стресса [8]. В связи с этим формируются новые подходы к лечению этого заболевания. Так, установлена необходимость использования антиоксидантных препаратов при терапии ДГПЖ [9].

Фенольный гликозид п-тирозол – 4-(2-гидрокси-этил) фенол – представляет собой действующее вещество лекарственного растения родиолы розовой. Он обладает антигипоксической, актопротекторной, антистрессорной, гемореологической и кардиопротекторной активностью, но фундаментальным его свойством является антиокислительная активность [7].

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния п-тирозола на морфологию и антиоксидантно-прооксидантный баланс предстательной железы крыс при индуцированной сульпиридом ее доброкачественной гиперплазии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 30 белых крысах-самцах популяции Вистар (возраст – 5 месяцев, масса тела – 450–660 г), 10 из которых составили фоновую (интактные животные), 10 – контрольную и 10 – экспериментальную группы. Животные были получены из отдела экспериментальных биологических моделей Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга (г. Томск). Крыс содержали в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных

животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (Страсбург, 1986).

Доброкачественную гиперплазию предстательной железы вызывали гиперпролактинемией, для получения которой крысам-самцам вводили ежедневно в течение 60 дней сульпирид (Эглонил, Синтелabo групп, Франция) [10]. Все исследуемые животные были разделены на следующие группы: 1-я группа – фон – интактные животные; 2-я группа – контроль – сульпирид ежедневно внутривентриально в дозе 40 мг/кг и растворитель (крахмальная слизь) ежедневно внутривентриально по 0,5 мл/100 г массы животного в течение 60 дней; 3-я группа – опыт – сульпирид ежедневно внутривентриально в дозе 40 мг/кг + п-тирозол (субстанция производства ФГБН «Институт проблем химико-энергетических технологий» СО РАН, г. Бийск) ежедневно внутривентриально в дозе 10 мг/кг в течение 60 дней. Через 2 месяца после начала эксперимента животных взвешивали (для определения весовых коэффициентов железы), затем декапитировали после эфирного наркоза. Для исследования была выбрана боковая доля предстательной железы, так как сульпирид даже при длительном применении не влияет на морфологию передней и задней долей [12]. Латеральную долю предстательной железы препарировали, определяли ее массу, весовой коэффициент и объем. Для проведения морфологического анализа у половины животных в группе выделенную долю предстательной железы фиксировали в 10%-м формалине и заливали в парафин. Депарафинированные срезы окрашивали гематоксилином и эозином. На окрашенных срезах с помощью графического компьютерного анализа на стандартной площади измеряли площадь эпителиальных структур, стромы, вычисляли стромально-паренхиматозное соотношение. Кроме того, определяли количество центров (10 последовательных полей зрения) пролиферации (структур, состоящих из 2–3 плотно прилегающих друг к другу ацинусов, дочерних ацинусов), центров с выраженной клеточной инфильтрацией стромы. У оставшейся части животных исследовали антиоксидантно-прооксидантную активность в предстательной железе. Для этого боковую долю предстательной железы препарировали, помещали в физиологический раствор, гомогенизировали. Антиоксидантную и прооксидантную активность определяли с помощью индуцированной люминолом хемилюминесценции и методом гашения интенсивности люминолзависимой хемилюминесценции (CL) в радикалопродуцирующей системе после добавления биологической пробы [13] с помощью кюветного биолуминометра Lumat LB9507 (Berthold Technologies, США). Количественно уровень хемилюминесценции и антиоксидантной активности определяли с помощью светосуммы хемилюминесценции образца гомогената ткани, которую выражали в RLU/1 г ткани/сек, где RLU – относительная единица света (Relative Light Units = 10 фотонам). Антиоксидантно-прооксидантный баланс определяли по отношению светосуммы AOA (SmAOA) к светосумме ХЛ (SmХЛ). Результаты обрабатывали методом вариационной статистики

с использованием непараметрического U-критерия Манна – Уитни.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

При микроскопическом исследовании боковой доли предстательной железы фоновых крыс какие-либо патологические изменения не выявлялись. Концевые отделы боковой доли железы представляли собой ацинусы, выстланные однослойным цилиндрическим эпителием и заполненные различным количеством гомогенного секрета (рис. 1А). Между ацинусами находились тонкие прослойки рыхлой неоформленной соединительной ткани, клеточные элементы и сосуды. В строме железы встречались лейкоциты, фибробласты, макрофаги и единичные тучные и гладкомышечные клетки.

Введение сульпирида крысам-самцам в течение 2 месяцев привело к значимому возрастанию (в 5 раз), по сравнению с фоном ($p \geq 0,05$) весового коэффициента боковой доли железы и ее объема, что согласуется с данными литературы [3]. Гистологически ткань гиперплазированной предстательной железы была представлена многочисленными небольшими железами неправильной формы, окруженными прослойками соединительной ткани. В ацинусах часто встречались папиллярные разрастания эпителия (рис. 1Б). Наблюдалось также разрастание соединительной ткани стромы, появление в ней лимфо-макрофагального инфильтрата, усиленное слущивание эпителиальных клеток в просвет ацинусов, кистозное расширение ацинусов (рис. 1Б). В ткани предстательной железы крыс этой группы выявлялся ряд последовательных стадий развития пролиферативных процессов, наблюдаемых при развитии ДГПЖ [5]. Начальная стадия представляла собой центр пролиферации, состоящий из 2–3 плотно прилегающих друг к другу ацинусов (пролиферативный центр 1-го типа (рис. 1В)). На последующей стадии наблюдалось появление дочерних ацинусов (центр пролиферации 2-го типа).

Количественный морфологический анализ показал (табл. 1), что введение сульпирида приводило к достоверному возрастанию (на 33 %) площади эпителия ацинусов на стандартную площадь среза, что свидетельствует об его усиленной пролиферации. Относительная площадь стромальных структур увеличивалась на 22 %. Последнее является, по-видимому, следствием склеротических изменений в ткани, являющихся результатом воспалительной реакции. Стромально-паренхиматозное соотношение имело тенденцию к снижению, по сравнению с фоном, что, очевидно, связано с опережающим развитием эпителиального компонента. Количество центров пролиферации 1-го и 2-го типа и число центров с выраженным клеточным инфильтратом на стандартную площадь среза составило $2,20 \pm 0,60$, $3,20 \pm 0,60$ и $2,40 \pm 0,93$ соответственно (табл. 1).

В группе животных, получавших сульпирид и п-тирозол, весовой коэффициент и объем железы не отличались от контрольных значений ($p \geq 0,05$). Следует отметить, что данные литературы [6] свидетельствуют о том, что снижение объема предста-

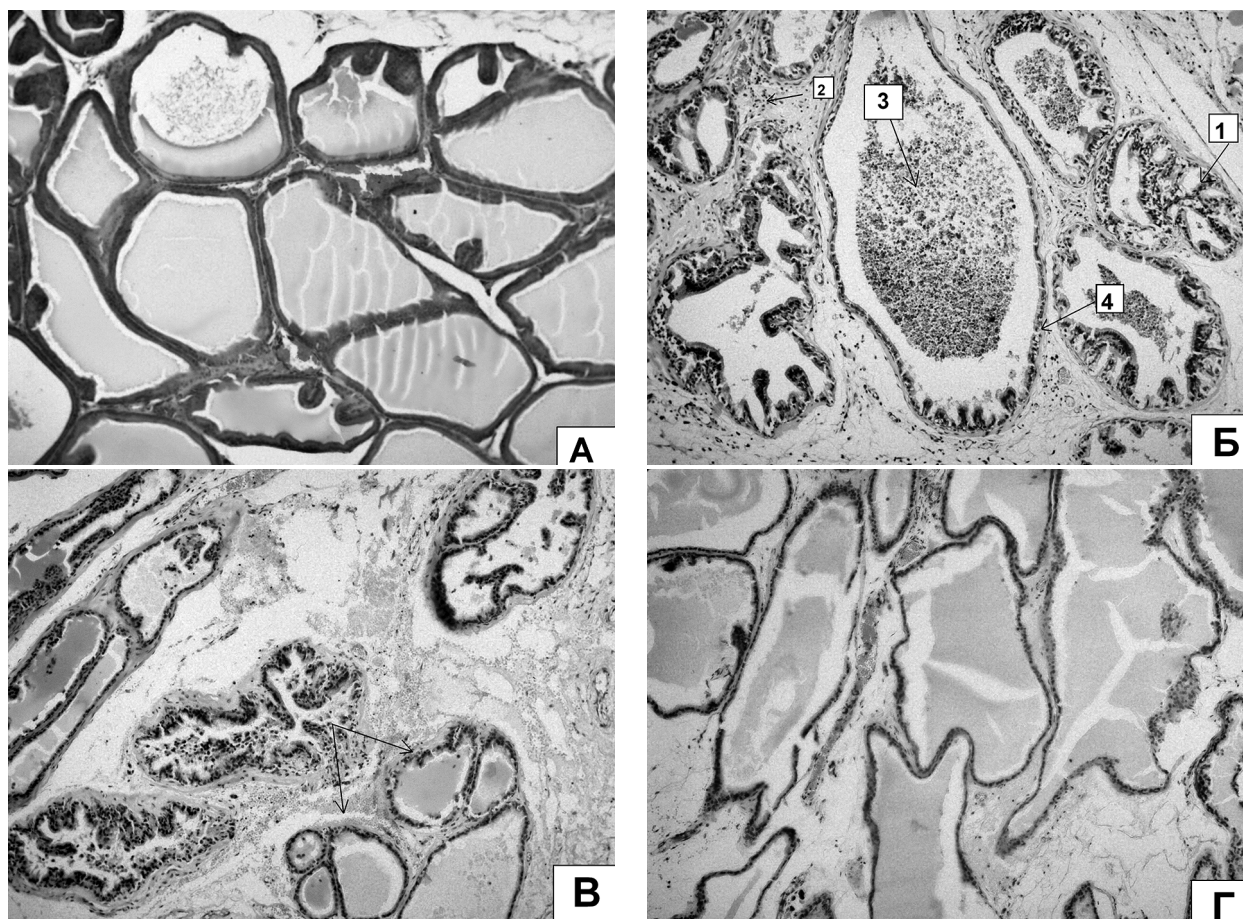


Рис. 1. Морфологическое состояние боковой доли предстательной железы крыс (возраст 5 месяцев): **А** – боковая доля предстательной железы интактной крысы (ацинусы, выстланные однослойным цилиндрическим эпителием, между ними – тонкие прослойки соединительной ткани); **Б** – боковая доля предстательной железы крысы, получавшей сульфиприд (адематозная форма гиперплазии; ацинарные структуры с папиллярными разрастаниями, образование дочерних ацинусов (1), клеточная инфильтрация стромы (2), усиленное сращивание эпителиальных клеток в просвет ацинусов (3), кистозное расширения ацинусов (4); **В** – боковая доля предстательной железы крысы после введения сульфиприда (образование структур, состоящих из 2–3 плотно прилегающих друг к другу железок (стрелки); **Г** – боковая доля предстательной железы крысы, получавшей сульфиприд и п-тирозол (уменьшение площади эпителия; отсутствие клеточной инфильтрации стромы). Ув. $\times 100$, окраска гематоксилин-эозином.

Влияние п-тирозола на морфологическое состояние предстательной железы крыс на фоне ее доброкачественной гиперплазии

Таблица 1

Показатель, (на стандартной площади среза)	Группа		
	Фон	Контроль	п-тирозол
Относительная площадь (%) эпителия ацинусов	15,43 $\pm$ 2,43	20,59 $\pm$ 1,15 [#]	11,83 $\pm$ 2,36*
Относительная площадь (%) стромы	34,73 $\pm$ 3,29	43,52 $\pm$ 1,46 [#]	38,51 $\pm$ 6,22
Стромально-эпителиальное соотношение	2,72 $\pm$ 0,78	2,15 $\pm$ 0,18	4,17 $\pm$ 1,18
Количество пролиферативных центров (абс.), имеющих 2–3 плотно прилегающих друг к другу ацинуса	0,00 $\pm$ 0,00	2,20 $\pm$ 0,58 [#]	1,60 $\pm$ 0,60
Количество пролиферативных центров, имеющих дочерние ацинусы (абс.)	0,00 $\pm$ 0,00	3,20 $\pm$ 0,60 [#]	1,20 $\pm$ 0,58*
Количество пролиферативных центров, имеющих дочерние ацинусы (абс.)	0,00 $\pm$ 0,00	2,40 $\pm$ 0,93 [#]	0,60 $\pm$ 0,40*

Примечание: * – различия значимы при сравнении с контролем ($p < 0,05$); # – различия значимы при сравнении с фоном ($p < 0,05$).

тельной железы в клинике у пациентов с ДГПЖ не происходит даже при применении альфа-адреноблокаторов, имеющих серьезные побочные эффекты, но принадлежащих к средствам терапии первой линии этого заболевания. При подсчете площади эпителия

ацинусов, являющейся основным морфологическим показателем эффективности лечения [4], оказалось, что этот показатель достоверно снижался (на 42 %), по сравнению с контролем (табл. 1). Относительная площадь стромальных структур не отличалась от

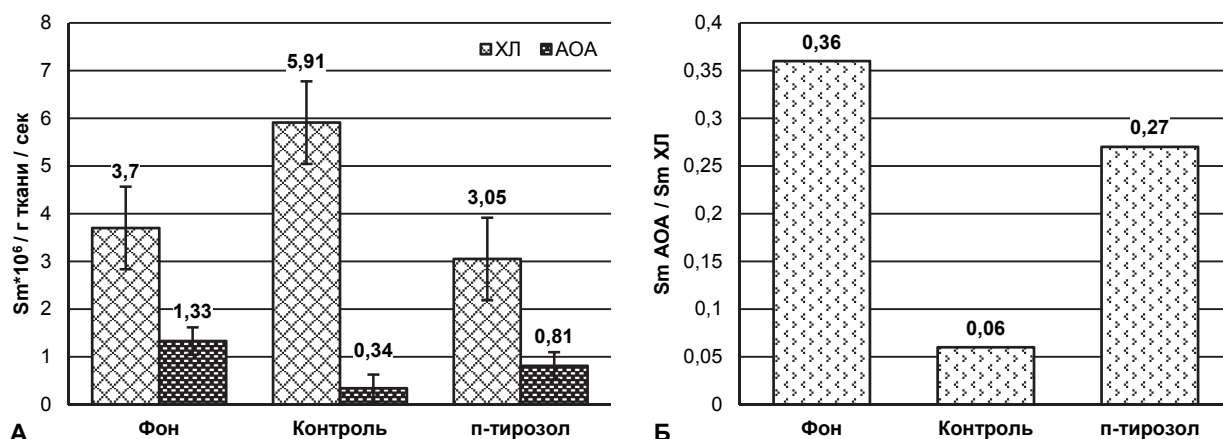


Рис. 2. Влияние п-тирозола на антиоксидантно-прооксидантный баланс простаты крыс с ДГПЖ: **А** – уровень светосуммы индуцированной хемилюминисценции гомогената предстательной железы и уровень светосуммы антиоксидантной активности гомогената предстательной железы; **Б** – антиоксидантно-прооксидантный баланс гомогената предстательной железы.

таковой в группе интактных животных (табл. 1). Стромально-эпителиальное отношение возросло (почти в 2 раза), но из-за большого разброса экспериментальных данных значения оказались статистически не значимыми.

В предстательной железе крыс экспериментальной группы выявлялось появление центров пролиферации первого и второго типа. Количество центров первого типа достоверно не снижалось, по сравнению с контрольными значениями. Количество пролиферативных центров второго типа статистически значимо уменьшалось (в 2,5 раза), по сравнению с контролем (табл. 1). Введение п-тирозола животным экспериментальной группы приводило к достоверному снижению (в 3 раза) количества центров с выраженными проявлениями клеточной инфильтрации стромы (табл. 1).

Исследование прооксидантной активности в ткани предстательной железы показало, что уровень светосуммы свободных радикалов в ткани железы контрольных животных достоверно превышал соответствующий показатель у фоновых животных в 1,6 раза (рис. 2А). В то же время в группе крыс, получавших на фоне ДГПЖ п-тирозол, уровень светосуммы свободных радикалов был достоверно ниже (почти в 2 раза), чем в контрольной группе (рис. 2А). Антиоксидантная активность гомогената предстательной железы крыс контрольной группы оказалась ниже фонового значения на 74,4 % (рис. 2А). Значения этого показателя у крыс опытной группы находились между таковыми в контроле и у интактных животных, значимо отличаясь от контрольных значений (рис. 2А). Антиоксидантно-прооксидантный баланс в контроле (рис. 2Б) оказался сниженным (почти в 5 раз). В экспериментальной группе этот показатель был значимо выше, чем контрольные значения. Полученные данные свидетельствуют о том, что введение сульпирида приводило к развитию оксидативного повреждения. П-тирозол оказывал нормализующее действие на антиоксидантно-прооксидантный баланс простаты.

ВЫВОДЫ

Таким образом, введение крысам сульпирида в дозе 40 мг/кг вызывает доброкачественную гиперплазию боковой доли предстательной железы, что подтверждается гистологическими характерными изменениями в ее ткани. При этом в ткани активизируются процессы, приводящие к угнетению антиоксидантных систем. Введение п-тирозола способствовало торможению развития доброкачественной гиперплазии предстательной железы крыс, о чем свидетельствовала меньшая степень выраженности пролиферативных процессов эпителия и клеточной инфильтрации стромы. Курсовое введение п-тирозола приводило к увеличению антиоксидантного резерва простаты крыс, что, по-видимому, способствовало торможению развития ДГПЖ.

Полученные данные свидетельствуют об эффективности использования п-тирозола в лечении ДГПЖ крыс, индуцированной сульпиридом.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Аполлхин О.И., Сивков А.В., Бешлиев Д.А., Солнцева Т.В. и др. Анализ урологической заболеваемости в Российской Федерации в 2002–2009 годах по данным официальной статистики // Эксперим. клин. урология. – 2011. – № 1. – С. 4–10.
2. Apollkhin O.I., Sivkov A.V., Beshliev D.A., Solntseva T.V. et al. Analysis of urologic morbidity in the Russian Federation in 2002–2009 according to official statistics // Jeksperim. klin. urologija. – 2011. – N 1. – P. 4–10. (in Russian)
3. Белостоцкая Л.И., Гомон О.Н., Никитченко Ю.В., Чайка Л.А. и др. Прооксидантно-антиоксидантный баланс в предстательной железе и крови крыс при индуцированной сульпиридом гиперплазии простаты и коррекции простатиленом // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2005. – Т. 139, № 3. – С. 313–315.
4. Belostotskaya L.I., Gomon O.N., Nikitchenko Yu.V., Chayka L.A. et al. Prooxidant-antioxidant balance in prostate and blood of rats at sulpiride-induced prostatic

hyperplasia and Prostatilen correction // Bjul. jeksperim. biol. i med. – 2005. – Vol. 139, N 3. – P. 313–315. (in Russian)

3. Боровская Т.Г., Фомина Т.И., Ермолаева Л.А., Вычужанина А.В. и др. Сравнительная оценка эффективности простатотропных средств природного происхождения при экспериментальной доброкачественной гиперплазии предстательной железы // Бюл. эксперим. биол. и мед. – 2013. – № 1. – С. 73–77.

Borovskaya T.G., Fomina T.I., Yermolaeva L.A., Vychuzhanina A.V. et al. Comparative assessment of natural prostaticotropic medicines at experimental benign prostatic hyperplasia // Bjul. jeksperim. biol. i med. – 2013. – N 1. – P. 73–77. (in Russian)

4. Волков А.А., Воронова О.В., Петричко М.И., Будник Н.В. и др. Морфологические изменения в простате под влиянием терапии дутастеридом // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 12, Ч. 1. – С. 36–39.

Volkov A.A., Voronova O.V., Petrichko M.I., Budnik N.V. et al. Morphological changes in prostate under the influence of Dutasteride therapy // Fundamental'nye issledovaniya. – 2012. – N 12, Part 1. – P. 36–39. (in Russian)

5. Кудрявцев Ю.В., Сивков А.В. Морфологические изменения в ткани предстательной железы при доброкачественной гиперплазии // Эксперим. клин. урология. – 2010. – № 1. – С. 18–22.

Kudryavtsev Yu.V., Sivkov A.V. Morphological changes in prostate tissue at benign prostatic hyperplasia // Jeksperim. klin. Urologiya. – 2010. – N 1. – P. 18–22. (in Russian)

6. Павлов В.Н., Казихинуров А.А., Измайлов А.А. Пути оптимизации медикаментозного лечения больных с доброкачественной гиперплазией предстательной железы // Бюл. сиб. мед. – 2012. – Т. 11, № 2. – С. 133–138.

Pavlov V.N., Kazikhinurov A.A., Izmaylov A.A. Ways of optimization of medicinal treatment of patients with benign prostatic hyperplasia // Bjul. sib. med. – 2012. – Vol. 11, N 2. – P. 133–138. (in Russian)

7. Плотников М.Б., Чернышова Г.А., Смольякова В.И., Краснов Е.А. и др. Антиоксидантные и кардиопротекторные свойства п-тирозола при ишемии миокарда с реперфузией у крыс // Кардиология. – 2010. – № 11. – С. 47–49.

Plotnikova M.B., Chernyshova G.A., Smolyakova V.I., Krasnov E.A. et al. Antioxidant and cardioprotective features of p-thyrozol at myocardium ischemia with reperfusion in rats // Cardiology. – 2010. – N 11. – P. 47–49. (in Russian)

8. Чайка А.В., Бородин А.Д., Черноус В.А., Вербовой П.П. Применение комплексного препарата «Алимакс» в лечении доброкачественной гиперплазии предстательной железы // Медико-социальные проблемы семьи. – 2012. – Т. 17, № 1. – С. 80–84.

Chayka A.V., Borodin A.D., Chernous V.A., Verbovoy P.P. Using complex medicine "Alimax" in the treatment of benign prostatic hyperplasia // Mediko-social'nye problemy sem'i. – 2012. – Vol. 17, N 1. – P. 80–84. (in Russian)

9. Ходченкова И.П., Зарубина И.В., Шабанов П.Д. Метаболические изменения в предстательной железе и иммунный статус крыс при доброкачественной гиперплазии // Психофармакология и биол. наркология. – 2005. – Т. 5, № 4. – С. 1091–1085.

Khodchenkova I.P., Zarubina I.V., Shabanova P.D. Metabolic changes in prostate and immune status of rats at benign prostatic hyperplasia // Psihofarmakologiya i biol. Narkologiya. – 2005. – Vol. 5, N 4. – P. 1091–1085. (in Russian)

10. Coppenolle V F, Slomianny C., Carpentier F. et al. Effect of hyperprolactinemia on rat prostate growth: evidence of androgeno-dependence // Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab. – 2001. – Vol. 280, N 1. – P. 120–129.

11. Fujimoto N., Sueoka N., Sueoka E. et al. Lung cancer prevention with (-)-epigallocatechin gallate using monitoring by heterogeneous nuclear ribonucleoprotein B1 // Int. J. Oncol. – 2002. – N 20. – P. 1233–1239.

12. Gupta S., Hussain T., Mukhtar H. Molecular pathway for (-)-epigallocatechin-3-gallate-induced cell cycle arrest and apoptosis of human prostate carcinoma cells // Arch. Biochem. Biophys. – 2003. – N 410 (1). – P. 177–185.

13. Marks L.S., Epstein J.I., Partin A.B., Simon I. et al. Effects of a saw palmetto herbal blend in men with symptomatic benign prostatic hyperplasia // J. Urol. – 2000. – Vol. 163. – P. 1451–1456.

14. Muller C.H., Lee T.K.Y., Montañó M.A. Improved chemiluminescence assay for measuring antioxidant capacity of seminal plasma // In: Spermatogenesis. Methods and Protocols; ed. by L. Barnard, K.I. Aston. – 2012. – Vol. 927. – P. 363–376.

Сведения об авторах

Боровская Татьяна Геннадьевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией фармакологии репродуктивной системы Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга (634028, г. Томск, пр. Ленина, 3; тел.: 8 (3822) 47-37-02; e-mail: repropharm@yandex.ru)

Кривова Наталья Андреевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией экспериментальной физиологии Научно-исследовательского института биологии и биофизики Национального исследовательского Томского государственного университета (634028, г. Томск, пр. Ленина, 36, стр. 13; тел.: 8 (3822) 52-97-01)

Заева Ольга Борисовна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории экспериментальной физиологии Научно-исследовательского института биологии и биофизики Национального исследовательского Томского государственного университета

Фомина Татьяна Ивановна – кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории токсикологии Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга

Камалова Светлана Ивановна – аспирант лаборатории фармакологии репродуктивной системы Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга

Полуэктова Марина Евгеньевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии репродуктивной системы Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга

Вычужанина Анна Владимировна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории фармакологии репродуктивной системы Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга
Щемерова Юлия Александровна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории фармакологии репродуктивной системы Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга
Григорьева Валерия Александровна – лаборант лаборатории фармакологии репродуктивной системы Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга
Гольдберг Виктор Евгеньевич – доктор биологических наук, профессор, Научно-исследовательский институт фармакологии им. Е.Д. Гольдберга
Плотников Марк Борисович – доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией фармакологии кровообращения Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга

Information about the authors

Borovskaya Tatiana Gennadjevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Pharmacology of Reproductive System of Goldberg Research Institute of Pharmacology (Lenina av., 3, Tomsk, 634028; tel.: +7 (3822) 47-37-02; e-mail: repropharm@yandex.ru)
Krivova Natalia Andreevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Experimental Physiology of the Research Institute of Biology and Biophysics of National Research Tomsk State University (Lenina av., 36, build. 13, Tomsk, 634028; tel.: +7 (3822) 52-97-01)
Zaeva Olga Borisovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Experimental Physiology of the Research Institute of Biology and Biophysics of National Research Tomsk State University
Fomina Tatiana Ivanovna – Candidate of Medical Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Toxicology of Goldberg Research Institute of Pharmacology
Kamalova Svetlana Ivanovna – Postgraduate of the Laboratory of Pharmacology of Reproductive System of Goldberg Research Institute of Pharmacology
Poluektova Marina Yevgenjevna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Pharmacology of Reproductive System of Goldberg Research Institute of Pharmacology
Vychuzhanina Anna Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Pharmacology of Reproductive System of Goldberg Research Institute of Pharmacology
Shchemerova Yuliya Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Researcher Officer of the Laboratory of Pharmacology of Reproductive System of Goldberg Research Institute of Pharmacology
Grigorieva Valeriya Aleksandrovna – Research Assistant of the Laboratory of Pharmacology of Reproductive System of Goldberg Research Institute of Pharmacology
Goldberg Viktor Yevgenievich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Goldberg Research Institute of Pharmacology
Plotnikov Mark Borisovich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of Pharmacology of Blood Circulation of Goldberg Research Institute of Pharmacology

Е.В. Бухарова ¹, С.М. Попкова ¹, Е.Б. Ракова ^{1, 2}, Ю.П. Джигоев ^{1, 2}, Н.М. Шабанова ¹,
У.М. Немченко ¹, Е.И. Иванова ¹

ДЕТЕКЦИЯ ГЕНЕТИЧЕСКИХ МАРКЕРОВ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ ПРИ АССОЦИАТИВНОМ СИМБИОЗЕ АУТОШТАММОВ *KLEBSIELLA* SPP. И *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ

¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

² Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

В работе представлены результаты детекции генетических детерминант патогенности у 120 штаммов клебсиелл (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*), а также 48 штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных из кишечного биотопа детей первого года жизни с дисбиозом кишечника. Регистрация исследованных детерминант в ДНК аутоштаммов *Klebsiella* spp., не относящихся к клиническим изолятам, свидетельствовало о циркуляции среди них факторов патогенности и, следовательно, о возможной этиологической роли в формировании дисбиотических процессов у детей раннего возраста.

Ключевые слова: *Klebsiella* spp., кишечная микробиота, ассоциативный симбиоз, гены патогенности, полимеразная цепная реакция (ПЦР)

DETECTION OF GENETIC MARKERS OF PATHOGENICITY FACTORS AT ASSOCIATIVE SYMBIOSIS OF *KLEBSIELLA* SPP. AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* AUTOSTRAINS, ISOLATED FROM INFANTS

E.V. Bukharova ¹, S.M. Popkova ¹, E.B. Rakova ^{1, 2}, Yu.P. Dzhigoev ^{1, 2}, N.M. Shabanova ¹,
U.M. Nemchenko ¹, E.I. Ivanova ¹

¹ Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

² Irkutsk State Medical University, Irkutsk

The article presents the results of detection of genetic determinants of pathogenicity in 120 *Klebsiella* strains (*Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*) and 48 *Staphylococcus aureus* strains isolated from the intestinal habitat of infants with intestinal dysbiosis. Registration of the investigated determinants in *Klebsiella* spp. autostrains DNA, which are non-clinical isolates, indicates the circulation of pathogenicity factors and, consequently, their possible causation in the formation of intestinal dysbiosis in infants.

Key words: *Klebsiella* spp., *Staphylococcus aureus*, intestinal microbiome, associative symbiosis, pathogenicity genes, polymerase chain reaction (PCR)

Симбиотические ассоциации – это форма существования микроорганизмов в экологических нишах, коими являются микробиоценозы, всех открытых полостей человеческого организма. Самым многочисленным как по видовому разнообразию, так и в количественном отношении является ассоциативный симбиоз микробных сообществ толстого кишечника. Доминантная микрофлора оказывает мутуалистическое влияние на организм хозяина (макросимбионта), включение же в этот симбиоз условно-патогенных микроорганизмов (УПМ) (ассоциативных микросимбионтов) может иметь разные последствия для макроорганизма. Это связано с тем, что межмикробные взаимодействия внутри ассоциаций – от синергизма до антагонизма – могут изменять биологические свойства микробов, что нередко является патогенетической основой формирования эндогенных инфекций [3, 5, 9]. У детей первого года жизни с высокой частотой и в этиологически значимых количествах выделяются клебсиеллы и золотистый стафилококк, что делает этот возраст уязвимым для развития эндогенных гнойно-воспалительных процессов различной локализации. Микробиоценоз кишечника характеризуется неустойчивостью, связанной с микробной сукцессией при формировании

микробиоты, особенностями иммунной системы, неадекватным иммунным ответом организма на заселение кишечника УПМ [2, 6]. *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus aureus* обладают различным набором факторов патогенности, чем и определяется их патогенный потенциал [1, 4, 7, 8, 10, 11, 12, 14]. Однако малоизученными остаются вопросы, связанные с распространенностью и взаимодействием генетических маркеров патогенности среди клебсиелл и стафилококков, персистирующих совместно в кишечном биотопе. Ввиду того, что кишечник является резервуаром для микроорганизмов, а спектр изученных факторов патогенности остается узким, актуальной является проблема поиска патогенных свойств у штаммов, вегетирующих в кишечнике в качестве одного из членов нормального микробного сообщества. В данном исследовании были изучены аутоштаммы клебсиелл и золотистого стафилококка на предмет присутствия генов патогенности *tag A*, *uge*, *kfu* [6, 14, 15, 16].

Цель работы: оценить патогенный потенциал аутоштаммов *Klebsiella* spp. в ассоциации со *St. aureus*, изолированных от детей первого года жизни с дисбиозами кишечника посредством детекции генетических детерминант патогенности.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Были исследованы копрологические пробы 120 детей первого года жизни, у которых на основании микробиологических критериев был установлен дисбиоз кишечника с индикацией клебсиелл в диагностически значимых концентрациях ($\geq 10^4$ КОЕ/г) [13]. Исследуемая выборка по биохимическим тестам была разделена на две группы: группа 1 – 48 аутоштаммов клебсиелл в ассоциации с золотистым стафилококком (40 % случаев); группа 2 – 72 аутоштамма клебсиелл в монокультуре. Исследования проводили с аутоштаммами клебсиелл и золотистого стафилококка, выделенными у детей первого года жизни, в течение 2012–2014 гг. Бактериологический анализ содержимого толстой кишки производили согласно отраслевому стандарту ОСТ 91500.11.0004-2003 [13] и в соответствии с утвержденными методическими рекомендациями. Выделенные микроорганизмы идентифицировали общепринятыми методами [2]. Всего для ПЦР детекции факторов патогенности использовали 168 проб из культуральных сред, где в группе 1 были типированы по 48 проб *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus aureus*, а в группе 2 – 72 пробы с *Klebsiella* spp. Для выделения ДНК бактерий из культуральной среды использовали комплект реагентов «ДНК-сорб-В» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Типирование проводили с тремя парами праймеров (табл. 1), отобранных, согласно рекомендациям [14, 15, 16].

Для ПЦР-амплификации использовали коммерческий набор AmpliSens-200-1 (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). ПЦР проводили с ДНК-матрицы (3 мкл), прямого и обратного праймеров (1 мкл). ДНК амплифицировали в соответствии с протоколом [6]. Электрофорез ПЦР-фрагментов ДНК клебсиелл проводили с использованием 1,0%-го агарозного геля в

1%-м трис-ацетатном буфере в течение 60 мин при 100 В, окрашивали бромистым этидием (1%) и просматривали с помощью УФ-просвечивания. Выделенные гены были идентифицированы и определены на основе размера фрагмента ДНК продукта (см. табл. 1) при его соответствии с длиной маркерного фрагмента. Для статистической обработки результатов использовали пакет прикладных программ Statistica, Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Микроэкологический дисбаланс детей первого года жизни характеризовался высокой плотностью бактерий рода *Klebsiella* ($> 10^4$ КОЕ/г), а также их сочетанием со *St. aureus* (в 40 % случаев). Был произведен скрининг изолятов *Klebsiella* spp. и *St. aureus* на наличие нуклеотидных последовательностей генов, контролирующих синтез факторов патогенности *mag A*, *uge*, *kfu* [6].

Как показано в таблице 2, в аутоштаммах клебсиелл обеих групп частота встречаемости гена *uge*, кодирующего уридин-дифосфат-галактозо-4-эпимеразу и оказывающего существенное влияние на вирулентность, регистрировалась в 75 % и 56,9 % случаев соответственно. Также этот ген был обнаружен у стафилококка в ассоциации с *Klebsiella* spp. в 43,8 % случаев. Ген *kfu*, кодирующий систему поглощения железа, выявлялся у штаммов *St. aureus* в 3 раза чаще (6,3 %), чем у клебсиелл группы 2 (1,4 %), в то время как у аутоштаммов клебсиелл, вегетирующих совместно с золотистым стафилококком (группа 1), он не был зарегистрирован ни в одном из исследованных образцов.

Сочетания двух генов патогенности наблюдалось достаточно часто и, как правило, с геном *uge*, который присутствовал в генетическом материале аутоштам-

Таблица 1
Нуклеотидные структуры праймеров, используемых для определения наличия генов патогенности клебсиелл [6, 14]

Ген патогенности	Праймеры	Нуклеотидная последовательность праймера (5'-3')	Размер ампликона (п. н.)
<i>mag A</i>	<i>mag A-F</i> <i>mag A-R</i>	GGT GCT CTT TAC ATC ATT GC GCA ATG GCC ATT TGC GTT AG	1280
<i>uge</i>	<i>uge-F</i> <i>uge-R</i>	TCT TCA CGC CTT CCT TCA CT GAT CAT CCG GTC TCC CTG TA	534
<i>kfu</i>	<i>kfu-F</i> <i>kfu-R</i>	GAA GTG ACG CTG TTT CTG GC TTT CGT GTG GCC AGT GAC TC	797

Таблица 2
Характеристика изолятов *Klebsiella* spp. в ассоциации со *St. aureus* и в монокультуре по наличию генов патогенности

Гены патогенности и их сочетания	<i>Klebsiella</i> spp. (n = 48)	<i>St. aureus</i> (n = 48)	<i>Klebsiella</i> spp. в монокультуре (n = 72)
	Группа 1		Группа 2
<i>mag A</i>	0	0	0
<i>uge</i>	36 / 75,0 $\pm$ 6,0	21 / 43,8 $\pm$ 4,6	41 / 56,9 $\pm$ 6,4
<i>kfu</i>	0	3 / 6,3 $\pm$ 1,7	1 / 1,4 $\pm$ 1,0
<i>mag A</i> + <i>uge</i>	3 / 6,3 $\pm$ 1,7	0	0
<i>uge</i> + <i>kfu</i>	9 / 18,8 $\pm$ 3,0	0	11 / 15,3 $\pm$ 3,3

Примечание: количество изолятов / частота встречаемости (%).

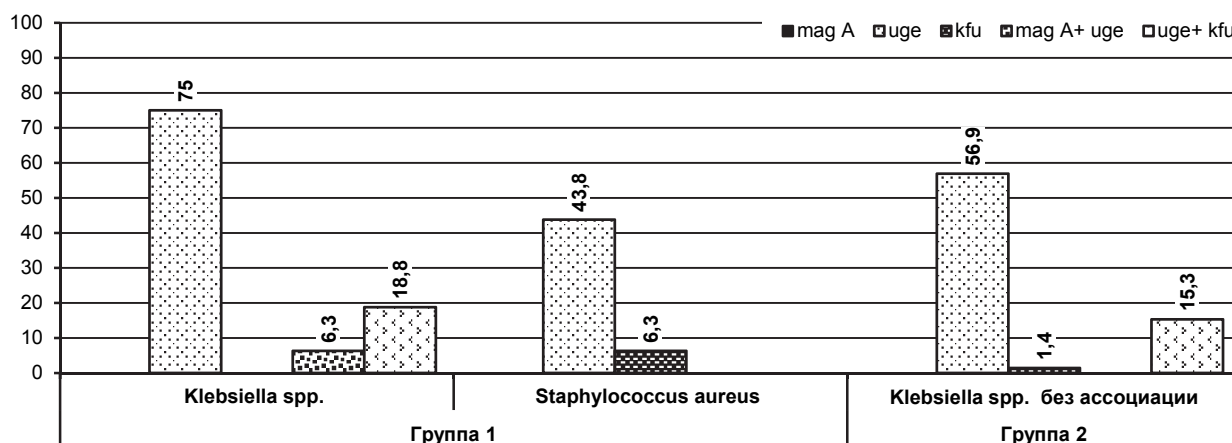


Рис. 1. Детекция генов патогенности в двух группах клебсиелл.

мов. Ген *mag A* у клебсиелл был обнаружен только в сочетании с геном *uge* (6,3 %) первой группы, что свидетельствовало о редкой встречаемости штаммов способных продуцировать слизистую субстанцию повышенной вязкости. Сочетания генов *uge + kfu* регистрировались примерно на одном уровне в обеих группах (18,8 % и 15,3 % случаев соответственно).

В исследовании показано, что у детей первого года жизни, в кишечном биотопе которых регистрируется высокая популяционная плотность клебсиелл, вегетируют штаммы с наличием генов патогенности. Наибольшее распространение (75 %) имеет ген *uge*, который с одинаковой частотой присутствует в генетическом материале обеих исследуемых нами групп (рис. 1).

Одновременное присутствие генов, ответственных за патогенные свойства, усиливает вирулентность бактерий и способствует развитию инфекционных осложнений. Полученные результаты свидетельствуют о том, что среди штаммов клебсиелл, не являющихся клиническими, а вегетирующих в кишечнике детей в качестве составляющей аллохтонной микробиоты, может быть сосредоточен достаточно заметный патогенный потенциал. Выявление генов патогенности у штаммов *Klebsiella* spp. в ассоциации со *St. aureus* различной вирулентности показало увеличение частоты встречаемости искомым ампликонов. Следовательно, в результате взаимoadaptации микросимбионтов с различной вирулентностью в условиях макроорганизма происходило увеличение численности особей, в генотипе которых локализованы *uge*, *kfu*, *mag A* гены и их сочетания, что является свидетельством их взаимного влияния на способность реализации патогенного потенциала в условиях ассоциативного симбиоза. Взаимовлияние ассоциативных симбионтов приводит к селекции и накоплению вирулентных вариантов в бактериальной популяции, которые могут быть этиологически ассоциированными с заболеваниями кишечного тракта. Для выяснения роли клебсиелл с набором генов патогенности, а также их ассоциаций с золотистым стафилококком, с высокой частотой встречающихся в кишечнике детей первого года жизни, необходимы дальнейшие исследования.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Бондаренко В.М. Генетические маркеры вирулентности условно патогенных бактерий // Ж. микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2011. – № 3. – С. 94–99.

Bondarenko V.M. Genetic markers of virulence of opportunistic pathogenic bacterium // Zh. mikrobiologii, jepidemiologii i immunobiologii. – 2011. – N 3. – P. 94–99. (in Russian)

2. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клиничко-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. – М.: ГЭОТАР-медиа, 2007. – 300 с.

Bondarenko V.M., Matsulevitch T.V. Intestinal dysbacteriosis as clinical laboratory syndrome: modern state of problem. – Moscow: GEOTAR-media, 2007. – 300 p. (in Russian)

3. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации // Ж. микробиологии. – 2010. – № 1. – С. 92–100.

Bondarenko V.M., Ryabichenko E.V. Role of intestinal barrier dysfunction in maintaining of chronic inflammatory process of different localization // Zh. mikrobiologii. – 2010. – N 1. – P. 92–100. (in Russian)

4. Бугранова Р.Ф. Изменение патогенности *Klebsiella pneumoniae* при дисбиозе кишечника, вызванного бластоцистной инвазией: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Челябинск, 2011. – 21 с.

Burganova R.F. Change of pathogenicity of *Klebsiella pneumoniae* at the intestinal dysbacteriosis caused by blastocyte invasion: abstract of dissertation of Candidate of Biological Sciences. – Chelyabinsk, 2011. – 21 p. (in Russian)

5. Бухарин О.В. Инфекция – модельная система ассоциативного симбиоза // Ж. микробиологии. – 2009. – № 1. – С. 83–86.

Bukharin O.V. Infection – a model system of associative symbiosis // Zh. mikrobiologii. – 2009. – N 1. – P. 83–86. (in Russian)

6. Бухарова Е.В., Попкова С.М., Ракова Е.Б. и др. Детекция некоторых генетических маркеров факторов патогенности в аутоштаммах *Klebsiella* spp. у детей

первого года жизни // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 2 (96). – С. 58–62.

Bukharova E.V., Popkova S.M., Rakova E.B. et al. Detection of some genetic markers of pathogenicity in *Klebsiella* spp. autostrains in infants // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2014. – N 2 (96). – P. 58–62. (in Russian)

7. Егорова С.А., Кафтырева Л.А., Макарова М.А. Патогенный потенциал микроорганизмов рода *Klebsiella* как возбудителей острых кишечных инфекций // Вестник Военно-медицинской академии. – 2008. – Прил. 2 (22). – С. 535–536.

Egorova S.A., Kaftyreva L.A., Makarova M.A. Pathogenic potential of *Klebsiella* microorganisms as infectious agents of acute enteric infections // Vestnik Voenno-medicinskoj akademii. – 2008. – Suppl. 2 (22). – P. 535–536. (in Russian)

8. Жеребцова Н.Ю., Баймиев А.Х., Валишин Д.А., Мавзютов А.Р. Генетические маркеры патогенности условно патогенных энтеробактерий, выделенных у детей и подростков при острых кишечных инфекциях // Ж. микробиологии. – 2007. – № 2. – С. 3.

Zherebtsova N.Yu., Baymiev A.Kh., Valishin D.A., Mavzyutov A.R. Genetic markers of pathogenicity of opportunistic pathogenic Enterobacteriaceae isolated from children and teenagers with acute enteric infections // Zh. mikrobiologii. – 2007. – N 2. – P. 3. (in Russian)

9. Захарова Ю.В. Микробиоценоз и биологические свойства микрофлоры кишечника у ВИЧ-инфицированных детей // Immunopathology, Allergology, Infectology. – 2012. – № 3. – С. 48–55.

Zakharova Yu.V. Microbiocenosis and biological properties of intestine microflora in HIV infected children // Immunopathology, Allergology, Infectology. – 2012. – N 3. – P. 48–55. (in Russian)

10. Мавзютов А.Р. Факторы патогенности оппортунистических энтеробактерий и их роль в развитии диареи // Ж. микробиологии – 2007. – № 1. – С. 89–97.

Mavzyutov A.R. Factors of pathogenicity of opportunistic pathogenic Enterobacteriaceae and their role in the course of diarrhea // Zh. mikrobiologii. – 2007. – N 1. – P. 89–97. (in Russian)

11. Мавзютов А.Р., Фиалкина С.В., Бондаренко В.М. «Острова» патогенности условно-патогенных энтеробактерий // Ж. микробиологии. – 2002. – № 6. – С. 5–9.

Mavzyutov A.R., Fialkina S.V., Bondarenko V.M. Pathogenicity islands of opportunistic pathogenic Enterobacteriaceae // Zh. mikrobiologii. – 2002. – N 6. – P. 5–9. (in Russian)

12. Николаева И.В. Энтеротоксигенность штаммов *S. aureus*, выделенных у детей с дисбиозом кишечника // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т. 6 (3). – С. 13–15.

Nikolaeva I.V. Enterotoxigenicity of *S. aureus* strains isolated from the children with intestinal dysbiosis // Vestnik sovremennoj klinicheskoy mediciny. – 2013. – Vol. 6 (3). – P. 13–15. (in Russian)

13. Отраслевой стандарт ОСТ 91500.11.0004-2003. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника. Утв. 09.06.2003.

Industrial standard OST 91500.11.0004-2003. Patient management protocol. Intestine dysbacteriosis. Approved 09.06.2003. (in Russian)

14. Aher T., Roy A., Kumar P. Molecular detection of virulence genes associated with pathogenicity of *Klebsiella* spp. isolated from the respiratory tract of apparently healthy as well as sick goats // Israel J. Veterinary Med. – 2012. – Vol. 67 (4). – P. 249–252.

15. Niyogi S.K., Pal A., Mitra U. et al. Enteroaggregative *Klebsiella pneumoniae* in association with childhood diarrhea // Indian J. Med. Res. – 2000. – Vol. 112. – P. 133–134.

16. Regue M., Hita B., Pique A. et al. Gene *uge* is essential for *K. pneumoniae* virulence // Infect. Immun. – 2004. – P. 54–61.

Сведения об авторах

Бухарова Екатерина Владимировна – младший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 33-34-41; e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru)

Попкова София Марковна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Ракова Елена Борисовна – научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Джигоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник НИИ биомедицинских технологий Иркутского государственного медицинского университета, руководитель лаборатории, старший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (e-mail: alanir07@mail.ru)

Шабанова Наталья Михайловна – младший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Немченко Ульяна Михайловна – младший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Иванова Елена Иннокентьевна – младший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Information about the authors

Bukharova Ekaterina Vladimirovna – Junior Research Officer of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 3, Irkutsk, 664025; tel.: +7 (3952) 33-39-52; e-mail: buxarowa.ekaterina@yandex.ru)

Popkova Sofia Markovna – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Rakova Elena Borisovna – Research Officer of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Dzhigoev Yuri Pavlovich – Candidate of Medical Sciences, Leading Research Officer of Research Institute of Biomedical Technologies of Irkutsk State Medical University, Head of the laboratory, Senior Research Officer of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: alanir07@mail.ru)

Shabanova Natalya Mikhaylovna – Junior Research Officer of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Nemchenko Ulyana Mikhaylovna – Junior Research Officer of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Ivanova Elena Innokentyevna – Junior Research Officer of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

О.А. Вантеева, Б.А. Федоров

ГЛУТАТИОН У ЖЕНЩИН С ГЕМОКОНТАКТНЫМИ ВИРУСНЫМИ ГЕПАТИТАМИ В И С

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

Проблема вирусных гепатитов имеет огромное медицинское и социальное значение, но все еще далека от разрешения. Тяжесть течения и прогноз развития заболеваний печени тесно взаимосвязаны с функциональным состоянием оксидантной и антиоксидантной систем организма. По результатам исследования установлено, что у беременных с гемоконтактными вирусными гепатитами В и С значимо выше уровень окисленного и значимо ниже уровень восстановленного глутатиона как по сравнению с показателями практически здоровых беременных женщина, так и с по сравнению с показателями группы контроля.

Ключевые слова: глутатион, вирусные гепатиты, беременные женщины

GLUTATHIONE IN WOMEN WITH BLOOD-BORNE VIRAL HEPATITIS B AND C

O.A. Vanteeva, B.A. Fedorov

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

The problem of viral hepatitis is of huge medical and social importance, but is still far from being resolved. The severity of course and prognosis of development of liver diseases are closely linked to the functional state of oxidant and antioxidant systems of an organism. Based on the research results we found that pregnant women with blood-borne viral hepatitis B and C had significantly higher level of oxidized glutathione and significantly lower level of reduced glutathione in comparison with indices of both healthy pregnant women and the women of control group.

Key words: glutathione, viral hepatitis, pregnant women

Вирусы гепатитов В (ВГВ) и С (ВГС) являются наиболее частой причиной хронических заболеваний печени у женщин детородного возраста, поэтому проблема вирусных гепатитов у беременных считается одной из наиболее актуальных в современной медицине [2, 8, 13, 14]. При вирусных гемоконтактных гепатитах увеличение признаков мезенхимального воспаления в печени ассоциируется с активацией процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и дисбалансом антиоксидантной системы [7].

Изменение системы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты организма (АОЗ) при различных заболеваниях в настоящее время является предметом пристального внимания специалистов различных областей науки [1, 3, 5, 9, 10, 15].

Повышение активности перекисного окисления рассматривается как неспецифический процесс, характерный для патогенеза различных заболеваний, сопровождающихся антиоксидантной недостаточностью. На первых рубежах защиты от активных форм кислорода в клетках всех организмов стоят такие низкомолекулярные соединения, как глутатион, аскорбиновая кислота, токоферолы, каротиноиды и т. п. Особое внимание среди них привлекает глутатион (GSH), который содержится в клетках в миллимолярных концентрациях и локализован практически во всех клеточных компартментах. Он принимает участие во многих ферментативных и неферментативных путях антиоксидантной защиты.

Функции глутатиона многообразны: восстановление и изомеризация дисульфидных связей, влияние на активность ферментов и других белков, поддержание мембранных функций, коферментные функции, участие в обмене эйкозаноидов, резервирование

цистеина, влияние на биосинтез нуклеиновых кислот и белка, пролиферацию и др. [12]. При окислительном стрессе идет интенсивное окисление GSH, и снижение соотношения GSH/GSSG является одним из основных признаков окислительного стресса в клетках.

Исходя из вышеизложенного, **целью настоящего исследования** явилось изучение состояния глутатионного звена антиоксидантной системы у женщин с гемоконтактными вирусными гепатитами В и С.

МЕТОДИКА

По результатам клинико-лабораторного обследования были сформированы следующие группы для исследования состояния системы глутатиона: 1-я группа – 28 беременных женщин с установленным вирусоносительством гепатита В и С в возрасте $24 \pm 2,0$ года; 2-я группа – 11 практически здоровых беременных женщин в возрасте $25 \pm 2,0$ года. Контрольную группу составили практически здоровые фертильные женщины в возрасте $24 \pm 1,5$ года.

В качестве материала для исследований использовался гемолизат, приготовленный из эритроцитов. Забор крови проводился из локтевой вены в соответствии с общепринятыми требованиями. В работе с больными соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинкской декларацией Всемирной медицинской ассоциации (1964, 2008 ред.).

Статистический анализ данных проводили с применением программы Statistica 6.1 (Statsoft Inc., США) (правообладатель лицензии – ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека»). Данные представлены в виде среднегрупповых значений показателей и среднеквадратичного отклонения ($M \pm \sigma$, где M – среднее арифметическое, σ – стандартное отклонение). Для оценки статистически

значимых различий полученных данных использовали критерий Стьюдента. Выбранный критический уровень значимости принимался менее или равным 5 % ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Результаты исследования системы глутатиона в крови у беременных с установленным вирусносительством гемоконтактных гепатитов В и С, по сравнению с показателями группы контроля, представлены на рисунке 1. Содержание окисленной формы глутатиона в крови у женщин с вирусными гепатитами значимо выше на 16,92 % ($p = 0,000$), по сравнению с группой контроля. Содержание GSH сопоставимо с показателями контрольной группы.

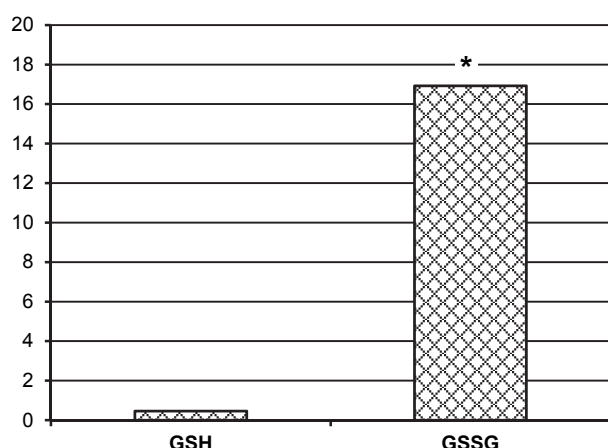


Рис. 1. Относительные величины концентрации глутатиона в крови у беременных женщин с ВГВ и ВГС (уровень показателей контрольной группы (100 %), находится на уровне 0): * – значения статистически значимы при $p \leq 0,05$.

При сравнении исследуемых показателей тиолдисульфидной системы в группе беременных женщин без вирусносительства и в контрольной группе (рис. 2) установлено значимое увеличение содержания восстановленного глутатиона на 21,09 % у беременных ($p = 0,04$). Концентрации окисленного глутатиона значимо не отличались друг от друга.

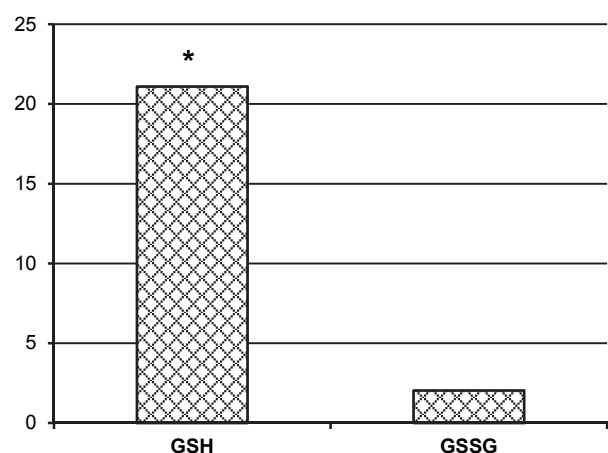


Рис. 2. Относительные величины концентрации глутатиона в крови у беременных женщин (уровень показателей контрольной группы (100 %), находится на уровне 0): * – значения статистически значимы при $p \leq 0,05$.

В группе беременных с вирусносительством гепатита В и С, по сравнению с группой практически здоровых беременных женщин (рис. 3), установлено значимое снижение концентрации восстановленного глутатиона на 21,45 % ($p = 0,000$) и значимое увеличение в 1,2 раза содержания окисленного глутатиона ($p = 0,014$). Возможно, быстрое включение GSH в процессы антиоксидантного окисления снижает его концентрацию в гемолизате, а не приводит к накоплению. Снижение уровня GSH ведет к повышению доступности мембраны для токсического действия продуктов перекисного окисления липидов, а увеличение содержания GSSG является результатом снижения антиоксидантной защиты клеток у женщин с гемоконтактными вирусными гепатитами. Уменьшение содержания GSH можно связать как со снижением синтеза глутатиона, так и с повышением его потребления, а также с замедлением восстановления из окисленной формы. Установленный нами дефицит GSH в эритроцитах может свидетельствовать об ослаблении антиоксидантной системы в целом в группе инфицированных вирусом женщин. Повышенное содержание окисленной формы глутатиона в плазме крови, в свою очередь, может вызвать окисление тиоловых групп белков плазмы и их инактивацию.

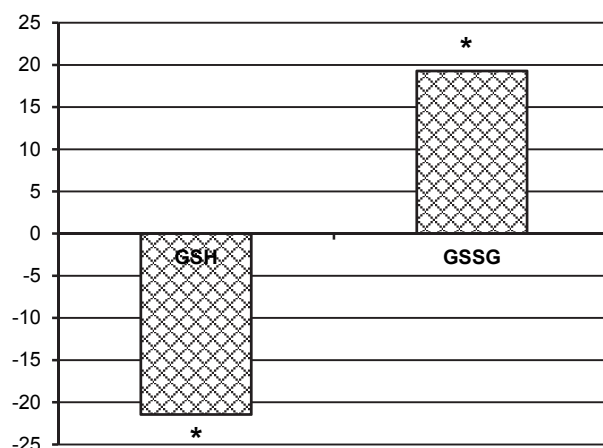


Рис. 3. Относительные величины концентрации глутатиона в крови у беременных женщин с ВГВ и ВГС (уровень показателей контрольной группы (100 %), находится на уровне 0): * – значения статистически значимы при $p \leq 0,05$.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о тесной взаимосвязи между течением патологического процесса в печени и состоянием системы глутатиона. Анализ полученных результатов свидетельствует об изменении функционального состояния изучаемой системы у женщин репродуктивного возраста, больных гемоконтактными вирусными гепатитами, по сравнению с практически здоровыми женщинами.

Сохранение оптимального для клетки соотношения GSH/GSSG является важным для ее жизнеспособности. Снижение уровня восстановленного GSH ниже

показателей нормы может служить индикатором дефицита антиоксидантной защиты. Нарушение внутриклеточного баланса глутатиона наблюдается при ряде патологий, включая злокачественные новообразования, ВИЧ, болезнь Паркинсона, этиопатогенетическим фактором которых является окислительный стресс [4, 6]. Исследование различных звеньев антиокислительной системы может иметь важное прогностическое значение при изучении гемоконтактных вирусных гепатитов и может способствовать познанию патогенетических процессов заболевания и развитию использования антиоксидантов и мембраностабилизирующих препаратов с целью защиты клеток организма от токсического воздействия продуктов липопероксидации и активных форм кислорода.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Даренская М.А., Колесникова Л.И., Бардымова Т.П. и др. Закономерности изменений показателей процесса пероксидации липидов у практически здоровых в различные периоды становления репродуктивной системы // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2006. – № 1. – С. 119–122.
2. Darenkaya M.A., Kolesnikova L.I., Bardymova T.P. et al. Regularities of changes of indices of lipid peroxidation process in apparently healthy people at different stages of development of reproductive system // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2006. – N 1. – P. 119–122. (in Russian)
3. Колесников С.И., Иванов В.В., Семенюк В.В. и др. Беременность и токсиканты. – Новосибирск: Наука, 1986. – 159 с.
4. Kolesnikov S.I., Ivanov V.V., Semenyuk V.V. et al. Pregnancy and toxicants. – Novosibirsk: Nauka, 1986. – 159 p. (in Russian)
5. Колесникова Л.И. Роль процессов перекисного окисления липидов в патогенезе осложнений беременности: автореф. дис. ... д-ра мед. наук: 14.00.16. – Иркутск, 1993. – 39 с.
6. Kolesnikova L.I. Role of processes of lipid peroxidation in the pathogenesis of pregnancy complications: abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences: 14.00.16. – Irkutsk, 1993. – 39 p. (in Russian)
7. Колесникова Л.И., Осипова Е.В., Гребенкина Л.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как индуктор патологических нарушений в организме человека // Бюл. СО РАМН. – 2009. – № S2. – С. 48–49.
8. Kolesnikova L.I., Osipova E.V., Grebenkina L.A., Vlasov B.Ya. Oxidative stress as an inductor of pathological disorders in human organism // Bjul. SO RAMN. – 2009. – N S2. – P. 48–49. (in Russian)
9. Колесникова Л.И., Протопопова Н.В., Мадаева И.М., Сахьянова Н.Л. Влияние нарушения сна на состояние плода у беременных женщин с артериальной гипертензией // Акушерство и гинекология. – 2012. – № 5. – С. 17–22.
10. Kolesnikova L.I., Protopopova N.V., Madaeva I.M., Sakhyanova N.L. Influence of sleep disorders on the state of fetus in pregnant women with arterial hypertension // Akusherstvo i ginekologija. – 2012. – N 5. – P. 17–22. (in Russian)
11. Колесникова Л.И., Гребенкина Л.А., Даренская М.А., Власов Б.Я. Окислительный стресс как неспецифическое патогенетическое звено репродуктивных нарушений // Бюл. СО РАМН. – 2012. – Т. 32, № 1. – С. 58–66.
12. Kolesnikova L.I., Grebenkina L.A., Darenkaya M.A., Vlasov B.Ya. Oxidative stress as non-specific pathogenic chain of reproductive disorders // Bjul. SO RAMN. – 2012. – Vol. 32, N 1. – P. 58–66. (in Russian)
13. Кудашкина Е.А. Оригинальный подход к терапии при вирусных гепатитах В и С // Инновации в науке. – 2012. – № 6. – С. 139–142.
14. Kudashkina E.A. Original approach to the therapy at viral hepatitis B and C // Innovacii v nauke. – 2012. – N 6. – P. 139–142. (in Russian)
15. Ладыгин К.В., Болдырев А.В., Стативко О.А., Авдеева И.В. Эпидемиологические аспекты хронических гепатитов у ВИЧ-инфицированных женщин во время их беременности // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2014. – № 4 (175), Вып. 25. – С. 5–10.
16. Ladygin K.V., Boldyrev A.V., Stativko O.A., Avdeeva I.V. Epidemiological aspects of chronic hepatitis in HIV infected women during their pregnancy // Nauchnye vedomosti. Seriya Medicina. Farmacija. – 2014. – N 4 (175), Vol. 25. – P. 5–10. (in Russian)
17. Мадаева И.М., Колесникова Л.И., Петрова В.А. и др. Изменения процессов перекисного окисления липидов и системы антиокислительной защиты у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2009. – № 3. – С. 24–27.
18. Madaeva I.M., Kolesnikova L.I., Petrova V.A. et al. Changes of processes of lipid peroxidation and antioxidant defense system in patients with obstructive sleep apnea syndrome // Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija. – 2009. – N 3. – P. 24–27. (in Russian)
19. Протопопова Н.В., Колесникова Л.И., Ильин В.П. Метаболизм и гемодинамика у беременных с артериальной гипертензией. – Новосибирск: Наука, 2000. – 258 с.
20. Protopopova N.V., Kolesnikova L.I., Iljin V.P. Metabolism and hemodynamics in pregnant women with arterial hypertension. – Novosibirsk: Nauka, 2000. – 258 p. (in Russian)
21. Ренева Л.В., Волкова Л.В., Казьянин А.В. Поствакцинальный иммунитет к гепатиту у доноров плазмы // Вестник Уральской мед. акад. науки. – 2013. – № 1. – С. 73–76.
22. Reneva L.V., Volkova L.V., Kazjyanin A.V. Artificial active immunity to hepatitis in plasma donors // Vestnik Ural'skoj med. akad. nauki. – 2013. – N 1. – P. 73–76. (in Russian)
23. Толпыгина О.А. Роль глутатиона в системе антиоксидантной защиты // Бюл. СО РАМН. – 2012. – № 2 (84), Ч. 2. – С. 171–173.

Tolpygina O.A. Role of glutathione in the system of antioxidant defense // *Bjul. SO RAMN.* – 2012. – N 2 (84), Part 2. – P. 171–173. (in Russian)

13. Федоров Б.А., Колесникова Л.И., Сутурина Л.В. и др. Состояние гормонально-метаболического гомеостаза у женщин репродуктивного возраста с вирусным гепатитом В и С // *Фундаментальные исследования.* – 2011. – № 2. – С. 157–160.

Fedorov B.A., Kolesnikova L.I., Suturina L.V. et al. State of hormone-metabolic homeostasis in fertile women with viral hepatitis B and C // *Fundamental'nye issledovaniya.* – 2011. – N 2. – P. 157–160. (in Russian)

14. Шехтман М.М. Хронический гепатит и цирроз печени у беременных // *Гинекология.* – 2004. – № 6. – С. 18–21.

Shekhtman M.M. Chronic hepatitis and hepatic cirrhosis in pregnant women // *Ginekologija.* – 2004. – N 6. – P. 18–21. (in Russian)

15. Kolesnikova L.I., Madaeva I.M., Semenova N.V. et al. Antioxidant potential of the blood in men with obstructive sleep breathing disorders // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine.* – 2013. – Vol. 154, N 6. – С. 731–733.

Информация об авторах

Вантеева Ольга Андреевна – кандидат биологических наук, младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел./факс: +7 (3952) 20-76-36, 8 (3952) 20-73-67; e-mail: olga_tolpygina@mail.ru)

Федоров Борис Александрович – кандидат медицинских наук, врач-гинеколог Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Information about the authors

Vanteeva Olga Andreevna – Candidate of Biological Sciences, Junior Research Officer of the Laboratory of Reproduction Pathophysiology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003, tel./fax: +7 (3952) 20-76-36, +7 (3952) 20-73-67; e-mail: olga_tolpygina@mail.ru)

Fedorov Boris Aleksandrovich – Candidate of Medical Sciences, gynecologist of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

**В.В. Войткова, В.И. Дубровина, С.А. Витязева, Т.П. Старовойтова,
К.М. Корытов, С.В. Балахонов**

ИЗМЕНЕНИЕ СОСТАВА ЛИМФОЦИТОВ СЕЛЕЗЕНКИ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ НА ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ АРГЕНТОГАЛАКТОМАНАННА И АРГЕНТО-ПОЛИ-1-ВИНИЛ-1,2,4-ТРИАЗОЛА

Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока (Иркутск)

В статье представлены результаты исследования влияния металлосодержащих нанокompозитов на содержание В- и Т-лимфоцитов селезенки белых мышей. Фенотипический анализ суспензии клеток селезенки проводили методом проточной цитометрии на приборе BD FACSCanto™ II. Показано стимулирующее влияние препаратов на формирование иммунного ответа, что подтверждается увеличением содержания В-лимфоцитов и Т-хелперов и свидетельствует о кооперационных взаимодействиях между клетками иммунной системы. Экспериментально показано, что препараты 2-Н-ПВТ-Аг, ГМ-Аг могут быть рекомендованы для дальнейшего исследования с целью повышения защитных свойств организма.

Ключевые слова: селезенка, субпопуляционный состав, нанокompозит, аргентогалактомананн, аргенто-поли-1-винил-1,2,4-триазол

CHANGE OF THE COMPOSITION OF SPLENIC LYMPHOCYTES AT THE EFFECT OF ARGENTOGALACTOMANANN AND ARGENTO-POLY-1-VINYL-1,2,4-TRIAZOLE ON THE EXPERIMENTAL ANIMALS

**V.V. Voytkova, V.I. Dubrovina, S.A. Vityazeva, T.P. Starovoytova, K.M. Korytov,
S.V. Balakhonov**

Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk

The article presents the results of the research of effect of metal-containing nanocomposites on the content of splenic B- and T-lymphocytes of white mice. Phenotypic analysis of the spleen cells suspension was conducted by flow cytometry on BD FACSCanto™ II. Stimulating effect of these medications on the immune response formation is showed and is proved by the increase of content of B-lymphocytes and T-helper cells and it indicates cooperative interactions between the cells of immune system. It was experimentally showed that the medications 2-N-HTP-Ag, GM-Ag can be recommended for the further research in order to increase protective properties of an organism.

Key words: spleen, subpopulation structure, nanocomposite, argentogalactomanann, argento-poly-1-vinyl-1,2,4-triazole

Число работ, посвященных изучению свойств иммуномодуляторов, растет с каждым годом. Интерес к веществам данной группы обусловлен, прежде всего, тем, что они способны влиять на отдельные звенья иммунного ответа. Такие свойства иммуномодуляторов играют важное значение при создании вакцин с целью повышения их иммуногенности. Однако не все известные иммуномодуляторы могут быть применены в связи с их токсичностью.

В настоящее время актуальной является разработка новых биологически активных форм синтетических препаратов медицинского назначения в форме наночастиц. Особый интерес представляют такие металлосодержащие полимерные композиты, как аргентогалактомананн (ГМ-Аг) и аргенто-поли-1-винил-1,2,4-триазол (2-Н-ПВТ-Аг), проявляющие иммуномодулирующие и бактерицидные свойства [1, 3, 6].

Известно, что основной функцией иммунной системы является формирование адекватного и эффективного иммунного ответа. При этом важная роль отводится иммунокомпетентным органам, в частности, селезенке. Тем не менее, в литературе отсутствует цитологическая характеристика состояния селезенки экспериментальных животных, инокулированных металлосодержащими полимерными композитами.

Цель исследования: характеристика изменения популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов селезенки у экспериментальных животных под воздействием аргентогалактомананна и аргенто-поли-1-винил-1,2,4-триазола.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использовали 50 сертифицированных (НПО «Вектор», Новосибирск) беспородных белых мышей, стандартных по условиям содержания и весу (массой 15–20 г).

В качестве объектов исследования использовали два полимерных нанокompозита: аргентогалактомананн (ГМ-Аг) [5] и аргенто-поли-1-винил-1,2,4-триазол (2-Н-ПВТ-Аг) [6]. Препараты вводили подкожно в правую заднюю лапу в дозе 2 мг/кг в 0,5 мл забуференного физиологического раствора (ЗФР, рН 7,2). Контролем служили белые мыши, получившие ЗФР в объеме 0,5 мл. Учет результатов проводили на 3-и, 7-е, 14-е и 21-е сутки. Животных выводили из эксперимента в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных», утвержденными Приказом МЗ СССР № 755 от 12.08.1977 и Приложением к Приказу Минздрава РФ № 267 от 2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Суспензию клеток селезенки получали по общепринятой методике [4]. Оценку клеточного состава проводили в панели CD45-APC/CD3-FITC/CD4-Alexa-700/CD8-APC-Cy7/CD19-PE-Cy7. Для лизирования эритроцитов суспензию клеток селезенки центрифугировали при 200 g в течение 5 мин., осадок ресуспендировали в 2 мл рабочего десятикратного буфера BD FACS Lysing Buffer (BD Biosciences, США), аккуратно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 3–4 мин. По истечении времени образцы центрифугировали при 200 g в течение 5 мин. Клетки селезенки подсчитывали в камере Горяева и доводили до концентрации 2×10^7 кл./мл 3ФР. В полистироловые пробирки BD Falcon™ 12 × 75 мм раскапывали по 50 мкл (10^6) клеток. Для предотвращения неспецифического связывания иммуноглобулинов с Fcγ II/III (CD32/CD16) рецепторами лимфоцитов, которое приводит к появлению высокого фона, до окрашивания специфическими флуоресцентными антителами суспензию клеток селезенки преинкубировали с 2 мкл Mouse BD Fc Block™ в течение 10 мин на льду. Рабочий раствор моноклональных антител готовили в буфере BD Cell WASH (BD Biosciences, США) [2], вносили в исследуемые образцы по 100 мкл, аккуратно перемешивали и инкубировали (в темноте) в течение 30 мин при 4 °C. Затем образцы отмывали в 1 мл холодного BD Cell WASH (BD Biosciences, США) буфере при 200 g в течение 5 мин. Осадок ресуспендировали в 0,5 мл холодного BD Cell WASH (BD Biosciences, США).

Анализ проводили на проточном цитофлуориметре BD FACSCanto™ II в программе BD Diva 6.0. В каждой пробе собирали 100 000 CD45⁺-клеток, которые идентифицировали на графике SSC/CD45. В результате иммунофенотипического анализа спленоцитов определяли процентное содержание В-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁺), Т-лимфоцитов (CD3⁺CD19⁻), Т-хелперов (CD3⁺CD4⁺), цитотоксических Т-лимфоцитов (CD3⁺CD8⁺), незрелых CD3⁺CD4⁺CD8⁻ и CD3⁺CD4⁻CD8⁻ клеток.

Статистическую обработку данных проводили при помощи стандартного пакета прикладных программ Statistica 6.0 (StatSoft, Inc.; 19842001, ИПЧИ 31415926535897) с использованием непараметрических тестов U-критерия Манна – Уитни и Спирмена (r_s). Для каждой выборки вычисляли M – среднее арифметическое и s – среднее квадратичное отклонение. Различия считали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В ходе экспериментов установлено, что показатели содержания оцениваемых субпопуляций лимфоцитов у интактных мышей между сроками наблюдения не имело статистической значимости. В связи с этим значения содержания субпопуляций лимфоцитов интактных представлены как усредненные показатели.

При оценке динамики содержания зрелых Т-клеток в селезенке экспериментальных животных под действием ГМ-Аг и 2-Н-ПВТ-Аг на 14-е и 21-е сутки зарегистрировано достоверное снижение содержания CD3⁺-клеток, по сравнению с контролем (табл. 1). Однако в случае инокуляции мышам ГМ-Аг выявлена тенденция к повышению этого показателя на 3-и и 7-е сутки ($p = 0,08$). Анализ субпопуляций Т-лимфоцитов у мышей, иммунизированных как ГМ-Аг, так и 2-Н-ПВТ-Аг, показал достоверное снижение цитотоксических Т-лимфоцитов во все сроки наблюдения, по сравнению с интактными животными. В ходе исследований нами установлено повышение содержания Т-хелперов в селезенке на 7-е сутки после введения препаратов в среднем в 1,3 раза, по сравнению с контролем ($p < 0,05$).

При воздействии 2-Н-ПВТ-Аг или ГМ-Аг в селезенке мышей наблюдалось достоверное повышение содержания В-лимфоцитов на 14-е и 21-е сутки наблюдения, по сравнению с контролем (рис. 1). При введении мышам ГМ-Аг выявлено снижение значений на 3-и сутки в среднем в 1,5 раза,

Таблица 1
Показатели содержания субпопуляций Т-лимфоцитов в селезенке мышей, иммунизированных ГМ-Аг и 2-Н-ПВТ-Аг ($M \pm s$)

Показатель (%)	Контроль	Препарат	Сроки наблюдения, сутки			
			3-и сутки	7-е сутки	14-е сутки	21-е сутки
CD3 ⁺ CD19 ⁻	65,6 ± 5,5	ГМ-Аг	68,41 ± 0,8	72,8 ± 2,0	41,9 ± 5,5**	52,5 ± 5,0**
		2-Н-ПВТ-Аг	63,8 ± 2,8	64,8 ± 1,8	44,4 ± 5,9**	47,9 ± 1,1**
CD3 ⁺ CD8 ⁺	22,3 ± 1,5	ГМ-Аг	9,2 ± 0,6**	12,7 ± 3,1**	8,7 ± 0,3**	7,6 ± 0,6**
		2-Н-ПВТ-Аг	15,1 ± 3,3**	16,4 ± 3,0**	9,1 ± 2,4**	7,2 ± 1,3**
CD3 ⁺ CD4 ⁺	36,3 ± 3,0	ГМ-Аг	36,5 ± 1,9	48,8 ± 8,0*	35,7 ± 6,8	35,8 ± 3,8
		2-Н-ПВТ-Аг	40,8 ± 9,2	41,2 ± 5,2*	31,7 ± 2,4	32,3 ± 0,5
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD8 ⁺	0,8 ± 0,2	ГМ-Аг	0,4 ± 0,1*	0,4 ± 0,1*	1,1 ± 0,2**	1,3 ± 0,3**
		2-Н-ПВТ-Аг	0,3 ± 0,1*	0,6 ± 0,2	0,8 ± 0,2	1,6 ± 0,3**
CD3 ⁺ CD4 ⁻ CD8 ⁻	5,4 ± 1,2	ГМ-Аг	10,0 ± 0,3*	3,2 ± 0,6	3,8 ± 1,0*	7,8 ± 0,7*
		2-Н-ПВТ-Аг	5,5 ± 1,6	3,3 ± 0,5	2,8 ± 1,0*	7,5 ± 0,8*

Примечание: различия, по сравнению с контролем, статистически значимы при * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,03$.

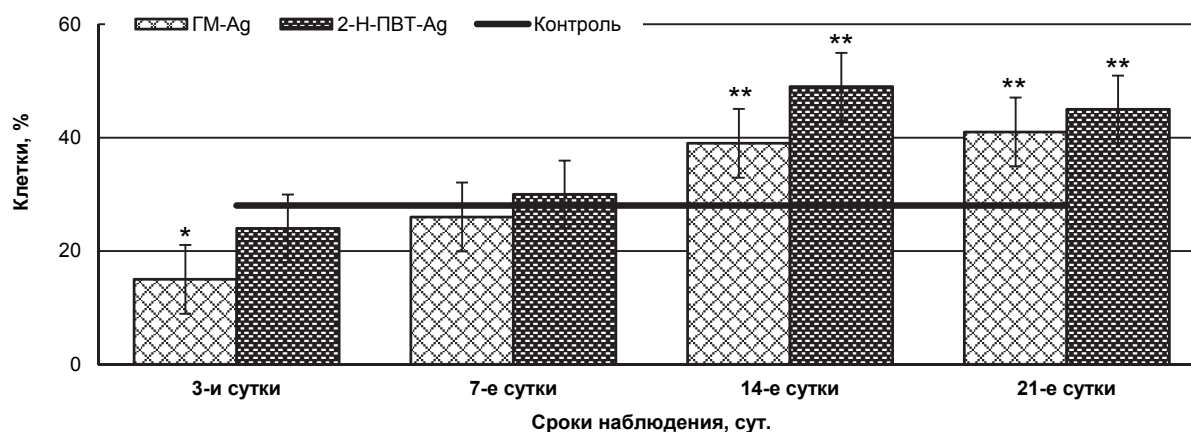


Рис. 1. Оценка процентного содержания В-лимфоцитов в селезенке у мышей после инъекции ГМ-Аг и 2-Н-ПВТ-Аг ($M \pm s$): различия с контролем значимы при * – $p < 0,05$, ** – $p < 0,03$.

по сравнению с контрольной группой. Следует отметить, что 2-Н-ПВТ-Аг оказывает наибольшее влияние на данный показатель, по сравнению с ГМ-Аг, на 14-е сутки ($p = 0,023$), тем не менее, к 21-м суткам значения процентного содержания В-лимфоцитов в селезенке мышей после инъекции наноконструктами достоверно не отличались.

Корреляционный анализ показал, что в группе контроля, а также у мышей, получивших экспериментальные препараты, содержание В-лимфоцитов находилось в обратной взаимосвязи от содержания Т-лимфоцитов ($r_s = -0,75$; $p = 0,001$). После инокулирования мышам 2-Н-ПВТ-Аг или ГМ-Аг отмечалось появление корреляций $CD3^+CD4^+$ и $CD3^+CD8^+$ с $CD3^+CD19^+$ -клетками ($r_s = -0,60$; $p = 0,001$ и $r_s = -0,73$; $p = 0,0001$ соответственно), а также с Т-лимфоцитами ($r_s = 0,70$ и $r_s = 0,68$; $p = 0,0001$ соответственно). Кроме того, при введении 2-Н-ПВТ-Аг или ГМ-Аг у мышей зарегистрированы корреляции $CD3^+CD4^+CD8^+$ -клеток с Т- ($r_s = 0,88$; $p = 0,0001$) и В-лимфоцитами ($r_s = -0,67$; $p = 0,001$).

Таким образом, экспериментальные препараты 2-Н-Аг-ПВТ и ГМ-Аг оказывают влияние на иммунную перестройку организма белых мышей. Подтверждением этому являются как ранее полученные данные о способности этих препаратов повышать резистентность организма (предохранять 30–50 % экспериментальных животных от заболевания чумой, сибирской язвой и летального исхода) [1], так и результаты настоящего исследования. Так, 2-Н-Аг-ПВТ и ГМ-Аг активируют в селезенке пролиферацию $CD3^+CD19^+$ -клеток, что выражалось в увеличении содержания популяции В-клеток на 14-е и 21-е сутки наблюдения. Это подтверждается повышением их содержания в маргинальной зоне [3]. Следует отметить, что увеличение числа Т-хелперов свидетельствует о кооперационных взаимодействиях между клетками иммунной системы, а также о формировании клеточного иммунитета. Достоверных различий между ГМ-Аг и 2-Н-ПВТ-Аг по их влиянию на субпопуляционный состав селезенки экспериментальных животных не выявлено. Тем не менее, 2-Н-ПВТ-Аг оказывал

наибольшее влияние на содержание В-лимфоцитов на 14-е сутки. Полученные в ходе экспериментов данные свидетельствуют о реализации иммунного ответа организма белых мышей на воздействие экспериментальных препаратов 2-Н-ПВТ-Аг или ГМ-Аг с участием селезенки.

Экспериментально показано, что препараты 2-Н-ПВТ-Аг, ГМ-Аг, могут быть рекомендованы для дальнейшего исследования с целью повышения защитных свойств организма.

ВЫВОДЫ

Установлено, что 2-Н-ПВТ-Аг, ГМ-Аг способствуют увеличению числа Т-хелперов на 7-е сутки наблюдения, что свидетельствует о кооперационных взаимодействиях между клетками иммунной системы, а также о формировании клеточного иммунитета.

Увеличение количества В-клеток в селезенке экспериментальных животных на 14–21-е сутки подтверждает развитие гуморального иммунитета в ответ на введение полимерных наноконструктов.

Изменение содержания незрелых популяций Т-лимфоцитов ($CD3^+CD4^+CD8^+$, $CD3^+CD4^+CD8^-$) указывает на их участие в реакциях иммунного ответа.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Витязева С.А., Старовойтова Т.П., Дубровина В.И. Сравнительная характеристика иммунного ответа макроорганизма при пероральном и парентеральном введении металлосодержащего нанобиоконструкта // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 2 (84). – С. 114–117.
2. Vityazeva S.A., Starovoytova T.P., Dubrovina V.I. Comparative analysis of immune response of macroorganism at oral and parenteral administration of metal-containing nanobiocomposite // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2012. – N 2 (84). – P. 114–117. (in Russian)
3. Войткова В.В., Дубровина В.И., Колесникова О.Б. и др. Методические рекомендации по выявлению фосфатидилсерина на лимфоцитах крови мышей с помощью проточного цитофлуориметра BD FACSCanto™ II. – Иркутск, 2010. – 16 с.

Voytkova V.V., Dubrovina V.I., Kolesnikova O.B. et al. Guideline on the detection of phosphatidyl serine on lymphocytes of mice with use of flow cytometer BD FACSCanto™ II. – Irkutsk, 2010. – 16 p. (in Russian)

3. Дубровина В.И., Витязева С.А., Коновалова Ж.А., Старовойтова Т.П. и др. Сравнительная характеристика действия наноструктурированных аргенто-1-винил-1,2,4-триазола, аргентогалактоманнана и кобальтарабиногалактана на иммунную реакцию организма экспериментальных животных // Нанотехнологии и охрана здоровья. – 2012. – № 3 (12). – С. 31–37.

Dubrovina V.I., Vityazeva S.A., Konovalova Zh.A., Starovoytova T.P. et al. Comparative analysis of effect of nanostructured argento-1-vinyl-1,2,4-triazole, argentogalactomannan and cobaltarabinogalactan on the immune reaction of on organism of experimental animals // Nanotekhnologii i ohrana zdorov'ya. – 2012. – N 3 (12). – P. 31–37. (in Russian)

4. Кондратьева И.А., Ярилин А.А., Егорова С.Г. и др. Практикум по иммунологии: Учебное пособие для студ. высш. учеб. заведений; 2-е изд-е / Под ред. И.А. Кондратьевой, А.А. Ярилина. – М.: Издательский центр «Академия», 2004. – 272 с.

Kondratjeva I.A., Yarilin A.A., Egorova S.G. et al. Practical course of immunology: Student training manual; 2nd ed. / Ed. by I.A. Kondratjeva, A.A. Yarilina. – Moscow: Akademiya, 2004. – 272 p. (in Russian)

5. Лесничая М.В., Александрова Г.П., Феоктистова Л.П., Сапожников А.Н. и др. Серебросодержащие наноконкомпозиты на основе галактоманнана и каррагинана: синтез, строение, антимикробные свойства // Известия Академии наук. Серия химическая. – 2010. – № 12. – С. 2323–2328.

Lesnichaya M.V., Aleksandrova G.P., Feoktistova L.P., Sapozhnikov A.N. et al. Silver-containing nanocomposite associated with galactomannan and carrageenan: synthesis, structure, antimicrobial properties // Izvestiya Akademii nauk. Seriya himicheskaja. – 2010. – N 12. – P. 2323–2328. (in Russian)

6. Поздняков А.С. Полифункциональные (co) полимеры 1-винил-1,2,4-триазола и наноконкомпозиты на их основе: автореф. дис. ... канд. хим. наук. – Иркутск, 2011. – 22 с.

Pozdnyakov A.S. Polyfunctional (co)polymers of 1-vinyl-1,2,4-triazole and nanocomposites associated with them: abstract of dissertation of Candidate of Chemical Sciences. – Irkutsk, 2011. – 22 p. (in Russian)

Сведения об авторах

Войткова Валентина Владимировна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока (664047, г. Иркутск, ул. Трилисера, 78; тел.: 8 (3952) 22-01-35; e-mail: vvoitkova@mail.ru)

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Корытов Константин Михайлович – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Витязева Светлана Александровна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела микробиологии чумы Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Старовойтова Татьяна Пантелеевна – научный сотрудник лаборатории патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Information about the authors

Voytkova Valentina Vladimirovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East (Trilisera str., 78, Irkutsk, 664047; tel.: +7 (3952) 22-01-35; e-mail: vvoitkova@mail.ru)

Dubrovina Valentina Ivanovna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Korytov Konstantin Mikhaylovich – Junior Research Officer of the Laboratory of pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Vityazeva Svetlana Aleksandrovna – Candidate of Medical Sciences, Research Officer of the Laboratory of Plague Microbiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Starovoytova Tatiana Panteleevna – Research Officer of the Laboratory of Pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Balakhonov Sergey Vladimirovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Л.В. Натяганова¹, О.А. Гаврилова², Л.Р. Колесникова¹**ОЦЕНКА СИСТЕМЫ ЛИПОПЕРОКСИДАЦИИ – АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ
У ДЕТЕЙ С ЭССЕНЦИАЛЬНОЙ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИЕЙ МЕТОДАМИ
СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ И ХЕМИЛЮМИНЕСЦЕНЦИИ**¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)² Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

В статье представлены результаты исследования некоторых показателей перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты (ПОЛ-АОЗ) у детей в возрасте 11–13 лет с эссенциальной артериальной гипертензией (ЭАГ), полученные методами спектрофотометрии и хемилюминесценции. Количество продуктов ПОЛ-АОЗ в сыворотке крови пациентов с ЭАГ значительно превышает аналогичные показатели группы контроля. Интенсивность процессов ПОЛ, выраженная показателями хемилюминесценции, у пациентов с ЭАГ также была выше контрольной.

Ключевые слова: дети, пероксидация липидов, антиоксидантная защита

**ASSESSMENT OF THE SYSTEM OF LIPID PEROXIDATION – ANTIOXIDANT DEFENSE
IN CHILDREN WITH ESSENTIAL ARTERIAL HYPERTENSION BY THE METHODS OF
SPECTROPHOTOMETRY AND CHEMILUMINESCENCE**L.V. Natyaganova¹, O.A. Gavrilova², L.R. Kolesnikova¹¹ Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk² Irkutsk State Medical University, Irkutsk

The article presents the results of the research of some indices of lipid peroxidation and antioxidant defense in children of 11–13 years with essential arterial hypertension that were obtained by the methods of spectrophotometry and chemiluminescence. Quantity of products of lipid peroxidation – antioxidant defense in blood serum of patients with essential arterial hypertension significantly exceeds this index in control group. Intensity of the lipid peroxidation processes expressed by the indices of chemiluminescence was higher in patients with essential arterial hypertension than in control group.

Key words: children, lipid peroxidation, antioxidant defense

Одна из ключевых задач лабораторного контроля – выявление начальных, обратимых, стадий патологического состояния для разработки патогенетически обоснованной тактики лечения. Свободнорадикальное окисление (СРО) является важной составляющей частью метаболизма. Его роль в развитии различных патологических процессов не вызывает сомнения [1, 4, 8, 9, 10, 13]. Во многих случаях изменения СРО регистрируются раньше проявления симптомов заболевания, и все активнее изучение его показателей используется для назначения и оценки результатов антиоксидантной коррекции в комплексной терапии [7]. В настоящее время окислительный стресс рассматривается как один из начальных механизмов в развитии ряда патологических состояний, в том числе и при эссенциальной артериальной гипертензии (ЭАГ) [1, 7, 8, 13].

Реакции ПОЛ отличаются большой сложностью и включают в себя целый ряд быстро протекающих стадий. Спектрофотометрические и флуориметрические методы позволяют оценить количественное содержание продуктов ПОЛ и компонентов АОЗ в изучаемой среде. Основные участники реакции, свободные радикалы, не могут быть определены обычными методами химического анализа из-за своей крайне высокой реакционной способности и неустойчивости в биологических системах. Поэтому регистрация интенсивности свечения в режиме реального времени представляет собой ценную информацию для анализа кинетики

реакций перекисного окисления липидов (ПОЛ) и антиоксидантной защиты (АОЗ). Индуцированная хемилюминесценция сыворотки крови, по мнению большинства исследователей, является наиболее объективным и информативным методом изучения процесса ПОЛ-АОЗ в биологических жидкостях [5, 11], хотя пока спектрометрические методы преобладают как в клинических лабораторных, так и в научных биохимических исследованиях ПОЛ-АОЗ.

Целью исследования было выявление наличия окислительного стресса у пациентов с ЭАГ методами спектрофотометрии и хемилюминесценции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе клиники Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск) проведено клинко-функциональное обследование 58 детей в возрасте 11–13 лет, из них 30 – с синдромом эссенциальной артериальной гипертензии. Забор крови проводили из локтевой вены, натощак, с 8 до 9 часов утра, в соответствии с общепринятыми требованиями. О состоянии процессов перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы судили по изменению содержания в плазме крови следующих показателей: субстратов с сопряженными ненасыщенными двойными связями (Дв. св.), диеновых конъюгатов (ДК), кетодиенов и сопряженных триенов (КД – СТ) [2], малонового диальдегида

(МДА) [3], активности супероксиддисмутазы (СОД) [14], общей антиокислительной активности (АОА) крови [6], α -токоферола и ретинола [12], а также по показателям, полученным методом индуцированной хемилюминесценции – амплитуде быстрой вспышки ($\max_{\text{сыв.}}$) и светосумме свечения ($S_{\text{сыв.}}$). Для изучения хемилюминесценции использовали сыворотку крови. Показатели хемилюминесценции регистрировали на биохемилюминометре SmartLum-5773. В измерительную кювету вносили 800 мкл буферного раствора ($\text{pH} = 7,4$), 200 мкл сыворотки, 800 мкл раствора железа в концентрации 0,14 %, 50 мкл 3%-й перекиси водорода, помещали в измерительную камеру прибора и регистрировали хемилюминесценцию в течение 3 минут. Регистрацию кинетики хемилюминесценции производили с помощью программного обеспечения PowerGraph 3.3 на персональном компьютере.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

У всех обследованных пациентов средние показатели содержания Дв. св. в крови ниже, чем в контроле, на 38,7 % ($p = 0,00$), что позволяет сделать вывод о высокой степени окисления субстратов на первых этапах процессов липопероксидации. Эти данные хорошо согласуются со статистически значимым снижением активности СОД. Уровень промежуточных продуктов (КД – СТ) в крови детей с гипертензией, напротив, на 42,5 % ($p = 0,00$) выше контрольных показателей. Содержание МДА у пациентов с ЭАГ также достоверно ($p = 0,01$) выше, чем в контрольной группе – на 35,4 % (табл. 1). Эти результаты убедительно подтверждают дальнейшую активацию процессов пероксидации липидов у детей с ЭАГ. В то же время у пациентов с артериальной гипертензией общая АОА крови выше на 34,6 % ($p = 0,01$). Этот показатель характеризует суммарную активность

ингибиторов радикального окисления и определяет ее буферную емкость, включая большое количество антиоксидантов различной природы. Обычно рассматривают основные звенья АОЗ – ферментативное – СОД и низкомолекулярные жирорастворимые витамины (α -токоферол, ретинол). Активность СОД у пациентов также выше, чем у здоровых детей, на 13,0 % ($p = 0,00$). Известно, что первой реакцией антиоксидантной защиты в условиях патологического процесса является повышение активности компонентов ферментативного звена, а при длительном воздействии повреждающих факторов происходит их перерасход. Снижение концентрации α -токоферола в крови пациентов, по сравнению с контролем, можно объяснить расходом его на дальнейших стадиях СРО и принять как доказательство нарастания напряжения в системе АОЗ. Исследование корреляционных связей в группе с эссенциальной артериальной гипертензией выявило статистически значимые сильные отрицательные взаимодействия между показателями ретинол – АОА ($r = 0,69$). Это может свидетельствовать о значительном вкладе ретинола в функционирование системы антиоксидантной защиты.

В исследовании методом хемилюминесценции были проанализированы два параметра кривой хемилюминесценции. Светосумма свечения ($S_{\text{сыв.}}$) – площадь под кривой от начала нарастания амплитуды медленной вспышки до достижения ею максимума – отражает способность системы подвергаться процессам окисления. Среднее значение площади под кривой хемилюминесценции сыворотки крови в группе с ЭАГ выше на 28,5 %, чем в контроле ($p = 0,02$). Амплитуда быстрой вспышки ($\max_{\text{сыв.}}$) пропорциональна исходному содержанию гидроперекисей в пробе. Среднее значение максимума хемилюминесценции сыворотке крови в группе с ЭАГ на 55,8 % выше ($p = 0,02$), чем в контроле (табл. 2).

Таблица 1
Некоторые показатели процессов липопероксидации в крови у детей контрольной группы и пациентов с ЭАГ

Показатели	Контроль ($n = 28$)	ЭАГ ($n = 30$)	p_t
	$M \pm s$	$M \pm s$	
Субстраты с Дв. св. (усл. ед.)	$1,78 \pm 0,61$	$1,09 \pm 0,34$	0,00
КД – СТ (усл. ед.)	$0,54 \pm 0,38$	$0,94 \pm 0,44$	0,00
МДА (мкмоль/л)	$0,98 \pm 0,23$	$1,11 \pm 0,42$	0,01
$S_{\text{сыв.}}$ (усл. ед.)	$145,68 \pm 42,38$	$187,21 \pm 60,33$	0,02

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к контрольным показателям.

Таблица 2
Некоторые показатели антиоксидантной системы у детей контрольной группы и пациентов с ЭАГ

Показатели	Контроль ($n = 28$)	ЭАГ ($n = 30$)	p_t
	$M \pm s$	$M \pm s$	
АОА (усл. ед.)	$11,71 \pm 3,93$	$15,76 \pm 5,91$	0,01
СОД (усл. ед.)	$1,61 \pm 0,19$	$1,82 \pm 0,07$	0,00
α -токоферол	$8,18 \pm 2,32$	$5,46 \pm 1,14$	0,03
$\max_{\text{сыв.}}$ (усл. ед.)	$2,28 \pm 0,38$	$3,21 \pm 0,88$	0,02

Примечание: * – $p < 0,05$ по отношению к контрольным показателям.

ВЫВОДЫ

Определение количественных показателей продуктов ПОЛ-АОЗ в сыворотке крови пациентов с ЭАГ методом спектрофотометрии достоверно доказало их превышение над аналогичными показателями группы контроля. Интенсивность процессов липопероксидации и их торможения, выраженная светосуммой свечения и максимумом хемилюминесценции, также выше у пациентов с ЭАГ, в сравнении с группой контроля. Оба метода позволяют регистрировать наличие окислительного стресса у пациентов в условиях патологии.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Владимирова Ю.А. Свободные радикалы в биологических системах // Соросов. Образов. журн. – 2000. – Т. 6, № 12. – С. 13–19.
2. Vladimirov Yu.A. Free radicals in biological systems // Sorosov. Obrazov. zhurn. – 2000. – Vol. 6, N 12. – P. 13–19. (in Russian)
3. Волчегорский И.А., Налимов А.Г., Яровинский Б.Г. Сопоставление различных подходов к определению продуктов перекисного окисления липидов в гептан-изопропанольных экстрактах крови // Вопр. мед. химии. – 1989. – № 1. – С. 127–131.
4. Volchegorskiy I.A., Nalimov A.G., Yarovinskiy B.G. Comparison of different approaches to the determination of lipid peroxidation products in heptane-isopropanol blood extracts // Vopr. med. himii. – 1989. – N 1. – P. 127–131. (in Russian)
5. Гаврилов В.Б., Гаврилова А.Р., Мажуль Л.М. Анализ методов определения продуктов перекисного окисления липидов в сыворотке крови по тесту с тиобарбитуровой кислотой // Вопр. мед. химии. – 1987. – № 1. – С. 118–122.
6. Gavrilo V.B., Gavrilova A.R., Mazhul L.M. Analysis of the methods of determination of lipid peroxidation products in blood serum by the test with thiobarbituric acid // Vopr. med. himii. – 1987. – N 1. – P. 118–122. (in Russian)
7. Гусева О.Е., Лебедево О.А., Козлов В.К. Возрастные особенности хемилюминесценции цельной крови у детей с хроническими воспалительными заболеваниями легких на фоне дефектов органогенеза респираторной системы // Дальневосточный медицинский журнал. – 2009. – № 4. – С. 74–77.
8. Guseva O.E., Lebedko O.A., Kozlov V.K. Age peculiarities of chemiluminescence of whole blood in children with chronic inflammatory lung diseases associated with defects of organogenesis of respiratory system // Dal'nevostochnyj medicinskij zhurnal. – 2009. – N 4. – P. 74–77. (in Russian)
9. Камилов Р.Ф. и др. Хемилюминесценция как метод оценки общей антиокислительной активности крови, слюны, слезной жидкости и мочи // Клиническая лабораторная диагностика. – 2009. – № 2. – С. 21–22.
10. Kamilov R.F. et al. Chemiluminescence as a method of assessment of total antioxidant activity of blood, saliva lachrymal fluid and urine // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. – 2009. – N 2. – P. 21–22. (in Russian)
11. Клебанов Г.И., Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О. Оценка АОА плазмы крови с применением желточных липопротеидов // Лаб. дело. – 1988. – № 5. – С. 59–60.
12. Klebanov G.I., Babenkova I.V., Teselkin Yu.O. Assessment of antioxidant activity of blood plasma using vitelline lipoproteins // Lab. delo. – 1988. – N 5. – P. 59–60. (in Russian)
13. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Леонтьева И.В., Бугун О.В. Эссенциальная артериальная гипертензия у детей и подростков: клинико-функциональные варианты. – Иркутск, 2008. – 180 с.
14. Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V., Leontjeva I.V., Bugun O.V. Essential arterial hypertension in children and adolescents: clinical-functional variants. – Irkutsk, 2008. – 180 p. (in Russian)
15. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Натяганова Л.В. и др. Окислительный стресс у детей подростков с лабильной артериальной гипертензией // Сиб. мед. журнал. – 2009. – Т. 24, № 3. – С. 25–27.
16. Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V., Ntyaganova L.V. et al. Oxidative stress in children and adolescents with labile arterial hypertension // Sib. med. zhurnal. – 2009. – Vol. 24, N 3. – P. 25–27. (in Russian)
17. Колесникова Л.И. и др. Особенности перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты у мальчиков-подростков Иркутска // Репродуктивное здоровье детей и подростков. – 2009. – Т. 28, № 5. – С. 63–67.
18. Kolesnikova L.I. et al. Peculiarities of lipid peroxidation – antioxidant defense in adolescent boys living in Irkutsk // Reproaktivnoe zdorov'e detej i podrostkov. – 2009. – Vol. 28, N 5. – P. 63–67. (in Russian)
19. Колесникова Л.И. и др. Особенности процессов перекисного окисления липидов – антиоксидантной защиты у подростков проживающих в городе Ангарске // Известия Самарского научного центра РАН. – 2009. – Т. 11, № 1-5. – С. 877–879.
20. Kolesnikova L.I. et al. Peculiarities of processes of lipid peroxidation – antioxidant defense in adolescents living in Angarsk // Izvestija Samarskogo nauchnogo centra RAN. – 2009. – Vol. 11, N 1-5. – P. 877–879. (in Russian)
21. Семенюк А.В., Колесникова Л.И., Куликов В.Ю., Неделькина С.В. и др. Метод оценки активности ферментов метаболизма лекарственных соединений // Клиническая лабораторная диагностика. – 1982. – № 10. – С. 607–609.
22. Semenyuk A.V., Kolesnikova L.I., Kulikov V.Yu., Nedelkina S.V. et al. Method of assessment of activity of drug metabolism enzymes // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. – 1982. – N 10. – P. 607–609. (in Russian)
23. Черняускене Р.Ч., Варшкявичене З.З., Грибаускас П.С. Одновременное определение концентраций витаминов Е и А в сыворотке крови // Лаб. дело. – 1984. – № 6. – С. 362–365.
24. Chernyuskene R.Ch., Varshkyavichene Z.Z., Gribauskas P.S. Simultaneous determination of vitamins E and A in blood serum // Lab. delo. – 1984. – N 6. – P. 362–365. (in Russian)

13. Kolesnikova L.I., Madaeva I.M., Semenova N.V., Vlasov B.Ya. et al. Antioxidant potential of the blood in men with obstructive sleep breathing disorders // Bull. of Experim. Biology and Medicine. – 2013. – Vol. 154, N 6. – P. 731–733.

14. Misra H.P., Fridovich I. The role of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase // J. Biol. Chem. – 1972. – Vol. 247. – P. 3170–3175.

Сведения об авторах

Натяганова Лариса Викторовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии и репродукции человека Научного центра проблем семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 20-73-67; e-mail: irklara@yandex.ru)

Гаврилова Оксана Александровна – интерн кафедры клинической лабораторной диагностики Иркутского государственного медицинского университета (e-mail: Oksana.gavrilova.91@mail.ru)

Колесникова Лариса Романовна – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник лаборатории проблем общественного здоровья Научного центра проблем семьи и репродукции человека (e-mail: l.kolesnikova2010@yandex.ru)

Information about the authors

Natyaganova Larisa Viktorovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Human Pathophysiology Reproduction of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003; tel.: +7 (3952) 20-73-67; e-mail: irklara@yandex.ru)

Gavrilova Oksana Aleksandrovna – Resident of the Department of Clinical Laboratory Diagnostics of Irkutsk State Medical University (e-mail: Oksana.gavrilova.91@mail.ru)

Kolesnikova Larisa Romanovna – Candidate of Medical Sciences, Junior Research Officer of the laboratory of Public Health Problems of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: l.kolesnikova2010@yandex.ru)

Р.С. Романова¹, Л.Н. Шантанова¹, А.Г. Мондодоев^{1, 2}ПРОТИВОСУДОРОЖНОЕ ДЕЙСТВИЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА КОРНЕЙ *PAEONIA ANOMALA* L.¹ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН (Улан-Удэ)² Бурятский государственный университет (Улан-Удэ)

Целью исследования стало определение противосудорожных свойств сухого экстракта пиона уклоняющегося и сравнение с его жидкой лекарственной формой. Судороги у мышей-самцов массой 18–20 г линии СВА вызывали однократным введением коразола, нитрата стрихнина и тиосемикарбазида в дозах DL_{100} . Животным опытной группы внутрижелудочно однократно вводили водный раствор экстракта пиона в дозе 150 мг/кг за 1 час до введения указанных средств. В результате было выявлено, что сухой экстракт пиона уклоняющегося обладает более выраженным противосудорожным действием.

Ключевые слова: пион уклоняющийся, сухой экстракт, противосудорожное действие, невроз

ANTICONVULSANT EFFECT OF DRY EXTRACT FROM THE ROOTS OF *PAEONIA ANOMALA* L.R.S. Romanova¹, L.N. Shantanova¹, A.G. Mondodoev^{1, 2}¹ Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude² Buryat State University, Ulan-Ude

The aim of the research was to define anticonvulsive effect of the dry extract from *Paeonia anomala* L. and comparison with its liquid dosage form. Convulsions in male SVA rats weighing 18–20 g were induced by single dosing of pentylenetetrazol, strychnine nitrate and thiosemicarbazide in a dose of DL_{100} . Animals of the trial group had single intragastric introduction of peony extract solution in a dose of 150 mg/kg 1 hour before the introduction of above mentioned medicines. As the result it was found that dry extract of *Paeonia anomala* L. had evident anticonvulsant effect.

Key words: *Paeonia anomala* L., dry extract, anticonvulsive effect, neurosis

В настоящее время отмечен существенный рост нервно-психических заболеваний, и в первую очередь неврозов и неврозоподобных состояний. Согласно статистике, тревожные состояния и неврозы составляют одну треть всех психических заболеваний [5], а в общемедицинской практике в случаях, не требующих внимания узких специалистов, они выявляются у 53–68 % пациентов лечебно-профилактических учреждений или у 25–30 % взрослого населения России [6]. Депрессивные расстройства занимают одно из лидирующих положений среди причин снижения качества жизни, а также в отношении влияния последствий болезни на дальнейшее социальное функционирование человека [8, 9]. Несомненно, что это связано с возросшим прессингом отрицательных психогенных факторов, связанных с ухудшением социальных, экономических условий проживания.

Вышесказанное определяет актуальность разработки и внедрения в практику новых лекарственных средств, направленных на фармакотерапию и фармакокоррекцию указанных состояний. Основным принципом психофармакокоррекции неврозов является назначение седативных, анксиолитических средств, из которых предпочтительнее применение препаратов растительного происхождения.

Нами получен сухой экстракт из сырья пиона уклоняющегося (*Paeonia anomala* L.) и разработана новая лекарственная форма в виде таблеток, содержащих в качестве действующей субстанции сухой экстракт пиона уклоняющегося. Известно, что пион уклоняющийся содержит широкий набор биологически активных веществ, относящихся к разным классам химических соединений: углеводы, терпеноиды, стероиды, фенолкарбоновые кислоты, фе-

нологликозиды, флавоноиды, дубильные вещества, витамины, ароматические соединения, иридоиды, микроэлементы [4]. Его официальная форма в виде спиртовой настойки (*Tinctura Paeoniae*) оказывает седативное действие, показана при неврастении, бессоннице, вегетативно-сосудистых нарушениях [7]. Препараты пиона уклоняющегося также применяют при истерии, неврастенических состояниях с явлениями повышенной возбудимости, церебральных вазопатиях, инволюционных неврозах, фобических и ипохондрических состояниях [3], а также настойка обладает противосудорожным действием [7].

Целью работы явилось определение противосудорожных свойств экстракта сухого пиона уклоняющегося и сравнение с его жидкой лекарственной формой.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на белых мышках-самцах линии СВА массой 18–20 г, полученных из питомника «Столбовая» МЗ и СР г. Москва. Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 708Н от 23.08.2010 г. Эксперименты проводили в соответствии с Приказом МЗ РФ № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики» от 19.06.2003 г. и правилами, принятыми Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов и иных научных целей – EST № 123 от 18.03.1986 г. (Страсбург, 1986). Протокол исследований согласован с этическим комитетом ИОЭБ СО РАН (протокол № 2 от 03.02.2014 г.). В качестве конвульсантов использовали коразол, нитрат стрихнина и тиосемикарбазид, выбор которых был основан на их преимущественном влиянии на разные отделы центральной нервной системы. Судороги у жи-

вотных вызывали однократным подкожным введением водных растворов коразола в дозе 100 мг/кг (DL_{100}) и нитрата стрихнина в дозе 2 мг/кг (DL_{100}) [2], однократным внутрибрюшинным введением водного раствора тиосемикарбазида в дозе DL_{100} , составляющей 30 мг/кг [1]. Животным опытной группы внутрижелудочно однократно вводили водный раствор экстракта пиона в дозе 150 мг/кг за 1 час до введения указанных веществ. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду в эквивалентном количестве по аналогичной схеме. В качестве препарата сравнения использовали официальный деалкоголизированный раствор настойки пиона в объеме 10 мл/кг, обладающий противосудорожной активностью [7]. Для оценки противосудорожного действия испытуемого средства регистрировали продолжительность латентного периода наступления судорог, продолжительность судорог, время жизни погибших животных и количество выживших животных после введения конвульсантов в летальных дозах. Фиксировали смерть животных по прекращению гаспинга. Полученные данные статистически обработаны с применением U-критерия Манна – Уитни. Различия считали значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что подкожное введение белым мышам коразола в указанной дозе сопровождалось развитием клонико-тонических судорог, приводящих к 100%-й гибели животных. Однократное профилактическое введение испытуемого средства в указанной дозе не предотвращало развития судорог и гибели животных. Вместе с этим, на фоне введения испытуемого препарата отмечалось пролонгирование латентного периода в среднем на 45 %, сокращение времени судорог на 32,5 % и увеличение продолжительности жизни на 23,4 %, по сравнению с аналогичными показателями у животных контрольной группы (табл. 1).

Препарат сравнения оказывал одностороннее менее выраженное действие, что отражалось на более коротких времени латентного периода и длительности жизни и более длительных судорогах, по сравнению с испытуемым средством.

При подкожном введении нитрата стрихнина в указанной дозе у животных контрольной и опытной групп развивались преимущественно тетанические судороги, которые завершались 100%-й гибелью животных. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Как следует из данных, представленных в таблице 2, введение сухого экстракта пиона крысам удлиняет латентный период судорожного приступа в среднем на 60 %, время жизни – на 28 %, не влияет на длительность судорог и увеличивает выживаемость на 33,8 %, по сравнению с аналогичными данными в контрольной группе животных. В целом противосудорожная активность испытуемого средства в указанной дозе превосходила таковую у препарата сравнения – настойки пиона.

В таблице 3 представлены данные о влиянии фитозектракта на течение судорожного периода при введении животным тиосемикарбазида.

Установлено, что введение тиосемикарбазида сопровождалось развитием клонико-тонических судорог, завершавшихся 100%-й гибелью животных контрольной группы, тогда как в группах, получавших экстракт пиона и препарат сравнения, выжили 30 % и 20 % мышей соответственно (табл. 3). Профилактическое введение водного раствора испытуемого средства в дозе 150 мг/кг оказывало выраженное противосудорожное действие, о чем свидетельствует увеличение латентного периода развития судорожного приступа в 2 раза. Отмечается тенденция к сокращению времени судорог. Кроме того, средняя продолжительности жизни мышей опытной группы увеличивалась почти в 1,5 раза, по сравнению с аналогичными данными в контроле. При этом установлено, что противосудорожная активность испытуемого средства в указанной

Таблица 1

Влияние экстракта пиона на длительность латентного периода, судорог, время жизни и выживаемость мышей при судорогах, вызванных введением коразола

Группы животных	Коразол			
	Латентный период (сек)	Длительность судорог (сек)	Длительность жизни (сек)	Выживаемость (%)
Контрольная (n = 10) (конвульсант + H ₂ O)	154,0 ± 10,9	45,3 ± 7,24	363,0 ± 28,65	0
Опытная 1 (n = 10) (конвульсант + экстракт пиона)	225,8 ± 16,2*	34,2 ± 3,81*	448,6 ± 24,47*	0
Опытная 2 (n = 10) (конвульсант + настойка пиона)	211,0 ± 15,6*	39,3 ± 4,87	426,5 ± 25,73	0

Примечание: * – различие значимо в контрольной и опытной группах при $p \leq 0,05$.

Таблица 2

Влияние экстракта пиона на длительность латентного периода, судорог, время жизни и выживаемость мышей при судорогах, вызванных введением нитрата стрихнина

Группы животных	Нитрат стрихнина			
	Латентный период (сек)	Длительность судорог (сек)	Длительность жизни (сек)	Выживаемость (%)
Контрольная (n = 10) (конвульсант + H ₂ O)	285,0 ± 30,0	56,5 ± 5,37	405,3 ± 32,47	0
Опытная 1 (n = 10) (конвульсант + экстракт пиона)	448,0 ± 56,0*	49,3 ± 5,31	542,3 ± 38,54*	0
Опытная 2 (n = 10) (конвульсант + настойка пиона)	376,5 ± 31,7*	51,2 ± 5,32	517,5 ± 35,84*	0

Влияние экстракта пиона на длительность латентного периода, судорог, время жизни и выживаемость мышей при судорогах, вызванных введением тиосемикарбазида

Группы животных	Тиосемикарбазид			
	Латентный период (сек)	Длительность судорог (сек)	Длительность жизни (сек)	Выживаемость (%)
Контрольная (n = 10) (конвульсант + H ₂ O)	28,0 ± 1,84	36,5 ± 4,51	146,2 ± 13,75	0
Опытная 1 (n = 10) (конвульсант + экстракт пиона)	56,5 ± 3,80*	31,8 ± 3,38	215,6 ± 17,63*	30
Опытная 2 (n = 10) (конвульсант + настойка пиона)	48,5 ± 2,80*	30,5 ± 3,66	196,6 ± 20,57	20

дозе на фоне введения тиосемикарбазида превосходила таковую у препарата сравнения.

Результаты исследований показывают, что под влиянием испытуемого средства наблюдали удлинение латентного периода наступления судорог при введении конвульсантов центрального и периферического действия, а также продолжительности жизни, тогда как судорожный период сокращался. Скорее всего, данный факт связан с более высокой концентрацией биологически активных веществ (БАВ) в сухом экстракте пиона уклоняющегося и/или их лучшей биодоступностью, по сравнению с БАВ, содержащимися в спиртовой настойке пиона. Таким образом, сухой экстракт пиона уклоняющегося обладает противосудорожным действием и является перспективным для его применения в клинической практике в новой лекарственной форме.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Воронина Т.А., Неробкова Л.Н. Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М., 2005. – С. 277–295.
2. Voronina T.A., Nerobkova L.N. Practical policies on the studying anticonvulsant activity of pharmaceutical substances // Manual on the experimental (pre-clinical) study of new pharmaceutical substances. – Moscow, 2005. – P. 277–295. (in Russian)
3. Гацур В.В. Методы первичного фармакологического скрининга биологически активных веществ. – М., 1974. – 144 с.
4. Gatsura V.V. Methods of primary pharmacological screening of biologically active substances. – Moscow, 1974. – 144 p. (in Russian)
5. Гиндикин В.Я. Травы, нервы, возраст (Применение лекарственных трав при невротических и неврозоподобных расстройствах). – М., 2002. – 220 с.
6. Gindikin V.Ya. Herbs, nerves, age (Using medicinal herbs at neurotic and neurosis-like disorders). – Moscow, 2002. – 220 p. (in Russian)
7. Головкин Б.Н., Руденская И.А., Трофимова И.А. и др. Биологически активные вещества растительного происхождения. – М.: Наука, 2001. – Т. 1. – 350 с.
8. Golovkin B.N., Rudenskaya I.A., Trofimova I.A. et al. Biologically active substances of vegetable origin. – Moscow: Nauka, 2001. – Vol. 1. – 350 p. (in Russian)
9. Дюмаев К.М., Воронина Т.А., Смирнов Л.Д. Антиоксиданты в профилактике и терапии патологий ЦНС. – М., 1995. – 272 с.
10. Dyumaev K.M., Voronina T.A., Smirnov L.D. Antioxidants in the prevention and therapy of central nervous system. – Moscow, 1995. – 272 p. (in Russian)
11. Карелина Д.Д., Кром И.Л., Барыльник Ю.Б. Оценка качества жизни, релевантного здоровью, больных депрессивными неврозами // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Т. 6, № 3. – С. 675–678.
12. Karelina D.D., Krom I.L., Barylnik Yu.B. Assessment of life quality, relevant to health of patients with depressive neurosis // Saratovskij nauchno-medicinskij zhurnal. – 2010. – Vol. 6, N 3. – P. 675–678. (in Russian)
13. Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М.: Наука, 2002. – Т. 1. – 540 с.
14. Mashkovskiy M.D. Medicines. – Moscow: Nauka, 2002. – Vol. 1. – 540 p. (in Russian)
15. George L.K., Blaser D.G., Hughes D.C. et al. Social support and the outcome of major depression // Br. J. Psychiatry. – 1989. Vol. 154. – P. 478–485.
16. Lecruber Y. Recognizing and effectively treating depression // CNS Spectr. – 2008. – Vol. 13 (7), Suppl. 11. – P. 5–9.

Сведения об авторах

Романова Рада Сергеевна – аспирант лаборатории экспериментальной фармакологии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (670047, г. Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6; тел.: 8 (3012) 43-37-13; e-mail: rs_romanova@mail.ru)
Шантанова Лариса Николаевна – доктор биологических наук, профессор, заведующая лабораторией безопасности биологически активных веществ Института общей и экспериментальной биологии СО РАН (e-mail: shantanova@mail.ru)
Мондодоев Александр Гаврилович – доктор медицинских наук, заведующий лабораторией экспериментальной фармакологии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН, и. о. профессора кафедры инфекционных болезней Медицинского института Бурятского государственного университета

Information about the authors

Romanova Rada Stanislavovna – Postgraduate of the Laboratory of Experimental Pharmacology of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (Sakhyanovoy str., 6, Ulan-Ude, 670047; tel.: +7 (3012) 43-37-13; e-mail: rs_romanova@mail.ru)
Shantanova Larisa Nikolaevna – Doctor of Biological Sciences, Professor, Head of the Laboratory of the Safety of Biologically Active Substances of Institute of General and Experimental Biology SB RAS (e-mail: shantanova@mail.ru)
Mondodoev Alexander Gavrilovich – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Experimental Pharmacology of Institute of General and Experimental Biology, Acting Professor of the Department of Infectious Diseases of the Medical Institute of Buryat State University

О.Ю. Рыбалкина, К.А. Лопатина, Е.А. Сафонова, Л.А. Ефимова

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ АЛЬГИНАТА НАТРИЯ С РАЗЛИЧНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ В КОМПЛЕКСНОЙ ТЕРАПИИ ЗЛОКАЧЕСТВЕННЫХ НОВООБРАЗОВАНИЙ

Научно-исследовательский институт фармакологии им. Е.Д. Гольдберга (Томск)

Представлены результаты скринингового исследования влияния альгината натрия с различной молекулярной массой на развитие перевиваемых опухолей мышей и эффективность цитостатической терапии. Установлено, что альгинаты натрия как с высокой ($M = 403$ kDa), так и с низкой ($M = 1-10$ kDa и $M = 1$ kDa) молекулярной массой тормозят рост аденокарциномы Эрлиха; использование альгината натрия ($M = 20-30$ kDa) в схеме химиотерапии повышает эффективность лечения. Угнетают развитие процесса метастазирования карциномы легких Льюис альгинаты с низкой молекулярной массой, а при совместном назначении с циклофосфаном альгинаты натрия ($M = 403$ kDa и $M = 20-30$ kDa) повышают его противометастатическое действие.

Ключевые слова: альгинат натрия, перевиваемые опухоли, циклофосфан

PERSPECTIVES OF USING SODIUM ALGINATE WITH DIFFERENT MOLECULAR WEIGHT IN THE COMPLEX CANCER THERAPY

O.Yu. Rybalkina, K.A. Lopatina, E.A. Safonova, L.A. Efimova

Goldberg Research Institute of Pharmacology, Tomsk

The article presents the results of screening research of influence of sodium alginate with different molecular weight on the development of transplantable tumor in mice and the effectiveness of cytostatic treatment. It was determined that sodium alginates with both high ($M = 403$ kDa) and low ($M = 1-10$ kDa and $M = 1$ kDa) molecular weight suppress growth of Ehrlich ascites carcinoma; using sodium alginate ($M = 20-30$ kDa) in the scheme of chemotherapy increases effectiveness of treatment. Alginates with low molecular weight arrest development of dissemination of Lewis lung carcinoma and sodium alginates ($M = 403$ kDa and $M = 20-30$ kDa) in combination with cyclophosphan increase its antimetastatic effect.

Key words: sodium alginate, transplantable tumours, cyclophosphan

Высокая заболеваемость и смертность от злокачественных новообразований диктуют необходимость разработки новых, более эффективных, подходов к их лечению. Несмотря на то, что в последние десятилетия значительные усилия и ресурсы направляются на разработку новых таргетных препаратов, цитостатики по-прежнему остаются незаменимыми средствами химиотерапии опухолей, особенно на поздних стадиях болезни. Однако токсичность в отношении здоровых клеток организма и быстрое развитие химиорезистентности опухоли в процессе лечения лимитируют использование цитостатиков [4]. Таким образом, одним из подходов, направленных на совершенствование схем традиционной химиотерапии, является не только повышение эффективности, но и снижение ее побочного действия на различные системы организма за счет использования препаратов-корректоров. При этом лекарственные средства, повышающие эффективность химиотерапии, отсутствуют. В качестве такого рода средств все больше получают предпочтение препараты природного происхождения, в частности, растительного, в реализации эффектов которых важная роль принадлежит флавоноидам, алкалоидам, гликозидам, витаминам, дубильным веществам [2]. Менее изученными в этом плане остаются полисахариды, ярким представителем которых является альгинат натрия. Между тем, они являются перспективными для создания на их основе препаратов дополнительной терапии злокачественных

опухолей благодаря низкой токсичности, высокой биологической доступности и богатой сырьевой базе. Кроме того, в настоящее время класс полисахаридов привлекает к себе большой интерес из-за широкого спектра фармакологических свойств, обладая гастропротекторной, пребиотической, иммуномодулирующей, радиопротекторной, гиполипидемической и другими видами активности [5, 8, 10].

Цель работы: изучить влияние альгината натрия с различной молекулярной массой на развитие перевиваемых опухолей животных в условиях цитостатической терапии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на 255 аутбредных мышах CD1 и 195 мышах линии C57BL/6 обоего пола. Животные 1-й категории (конвенциональные мыши) разведения ФГБУ «НИИ фармакологии имени Е.Д. Гольдберга» СО РАМН (сертификат качества № 188-05) содержались в соответствии с международными правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [9]. Дизайн исследования одобрен Этическим комитетом ФГБУ «НИИ фармакологии имени Е.Д. Гольдберга» СО РАМН.

Трансплантацию аденокарциномы Эрлиха (АКЭ) аутбредным мышам CD1 производили внутривенно по $7,5 \times 10^6$ клеток в 0,2 мл физиологического

раствора. Карциному легких Льюис (3LL) мышам линии C57BL/6 перевивали гомогенатом опухолевой ткани внутримышечно по $5-6 \times 10^6$ опухолевых клеток в объеме 0,1 мл физиологического раствора [6].

Циклофосфан (ЦФ) (ОАО «Биохимик», г. Саранск, Россия) вводили мышам однократно внутримышечно (АКЭ) в дозе 150 мг/кг через 72 часа после перевивки опухоли либо внутрибрюшинно (3LL) в дозе 125 мг/кг (на 10-е сутки).

Образцы альгинатов натрия, полученные из бурой водоросли по оригинальной методике химического гидролиза природных полисахаридов и стандартизованные по физико-химическим свойствам, были предоставлены для исследования лабораторией фармакологии Института биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН (г. Владивосток). Физико-химические параметры исследуемых образцов альгината натрия с различной молекулярной массой представлены в таблице 1.

Полисахариды растворяли в дистиллированной воде и начинали вводить мышам внутрибрюшинно в дозах 50 и 100 мг/кг через 24 часа после перевивки асцитной опухоли АКЭ и продолжали в течение 7 суток. Животных с 3LL начинали лечить полисахаридами через 7 суток после перевивки и продолжали в течение 11–13 суток.

По окончании экспериментов животных умерщвляли, соблюдая «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных», проводили вскрытие, ревизию внутренних органов, выделение опухоли и метастазов, производили забор асцитической жидкости. Определяли объем опухолевых клеток, массу опухоли, процент торможения ее роста, частоту метастазирования, количество и площадь метастазов в легких, индекс ингибирования метастазирования [1, 6]. Для определения значимости различий использовали непараметрический критерий Вилкоксона – Манна – Уитни, точный тест Фишера. Различия считали достоверными при $p < 0,05$ [3].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ФГБУ «НИИ фармакологии имени Е.Д. Гольдберга» СО РАМН в течение ряда лет ведется исследование биологически активных соединений из природных источников с целью создания на их основе препаратов, повышающих эффективность специфических методов лечения больных со злокачественными новообразованиями, выработана общая стратегия их изучения. На моделях аденокарциномы Эрлиха и кар-

циномы легких Льюис оценивается влияние веществ из растительного сырья на развитие опухолевого процесса и эффективность цитостатической терапии, изучается возможность коррекции изменений в системе крови после воздействия противоопухолевого агента.

Выбор на первом этапе скрининга модели аденокарциномы Эрлиха обусловлен возможностью получения результатов в короткие сроки, а также чувствительностью этой опухоли к веществам природного происхождения [7].

При изучении влияния альгинатов натрия с различной молекулярной массой на развитие АКЭ показано отсутствие связи между молекулярной массой и противоопухолевым эффектом. Так, при изолированном введении мышам CD1 как низкомолекулярных образцов альгината натрия ($M = 1$ kDa в дозе 50 мг/кг, $M = 1-10$ kDa в дозах 50 и 100 мг/кг), так и высокомолекулярного альгината натрия в дозе 100 мг/кг наблюдалось торможение роста опухоли (на 42 %, 36 %, 36 % и 45 % соответственно) (табл. 2). При изолированном введении альгината натрия ($M = 20-30$ kDa) в дозе 100 мг/кг не отмечено ингибирующего влияния на рост опухоли, а при совместном назначении с ЦФ выявлено повышение противоопухолевой активности последнего: торможение роста опухоли составило 39 % против 17 % в группе животных, получавших только цитостатик. В то же время введение в схему химиотерапии альгината натрия с молекулярной массой 403 kDa (50 мг/кг) способствовало стимуляции роста АКЭ у мышей (табл. 2).

По-видимому, в фармакологических эффектах этих веществ имеет значение не только их молекулярная масса, но и химическая структура. Подтверждают сказанное сведения о том, что противоопухолевая активность альгинатов зависит от соотношения маннуроновых и гулуруновых кислот. Так, альгинаты с большим количеством β -D-маннуроновой кислоты обладают иммуномодулирующим действием и более выраженным противоопухолевым эффектом, чем содержащие α -L-гулуруновую кислоту [8].

Второй этап исследования проведен на мышках с 3LL и посвящен оценке влияния исследуемых соединений на развитие первичной опухоли и метастазов. 3LL характеризуется высокой интенсивностью диссеминации опухоли и дает макроскопические метастазы, доступные для качественного и количественного анализа простыми способами. Считается, что карцинома легких Льюис по чувствительности к цитостатикам аналогична солидным опухолям человека [11].

Таблица 1
Физико-химические параметры исследуемых образцов альгината натрия с различной молекулярной массой

Параметры	Образец			
	Альгинат натрия ($M = 403$ kDa)	Альгинат натрия ($M = 20-30$ kDa)	Альгинат натрия ($M = 1-10$ kDa)	Альгинат натрия ($M = 1$ kDa)
Содержание натрия (%)	8,5	9,5–11,0	9,5–11,0	9,5–11,0
Содержание уоновых кислот (%)	77,3	85,2	85,2	85,2
Содержание золы (%)	28,0–31,0	28,0–31,0	0	0
Влажность (%)	< 8,0			

Таблица 2

Влияние альгинатанатрия с различной молекулярной массой на развитие АКЭ и эффективность терапии циклофосфаном аутбредных мышей CD1

Группа наблюдения, доза препарата	Объем опухолевых клеток ($X \pm m$), мл	Торможение роста опухоли, %
Серия 1. Альгинат натрия ($M = 403$ kDa) – образец 1		
1. Контроль	$1,83 \pm 0,17$	–
2. Образец 1, 50 мг/кг	$1,97 \pm 0,04$	–8
3. Образец 1, 100 мг/кг	$1,01 \pm 0,22^*$	45
4. ЦФ	$1,40 \pm 0,22$	23
5. ЦФ + образец 1, 50 мг/кг	$1,85 \pm 0,14^{##}$	–1
6. ЦФ + образец 1, 100 мг/кг	$1,64 \pm 0,11$	10
Серия 2. Альгинат натрия ($M = 20-30$ kDa) – образец 2		
1. Контроль	$1,78 \pm 0,18$	–
2. Образец 2, 50 мг/кг	$2,13 \pm 0,11$	–20
3. Образец 2, 100 мг/кг	$1,75 \pm 0,08$	2
4. ЦФ	$1,47 \pm 0,13$	17
5. ЦФ + образец 2, 50 мг/кг	$1,26 \pm 0,11^*$	29
6. ЦФ + образец 2, 100 мг/кг	$1,08 \pm 0,07^{**}$	39
Серия 3. Альгинат натрия ($M = 1-10$ kDa) – образец 3		
1. Контроль	$1,69 \pm 0,13$	–
2. Образец 3, 50 мг/кг	$1,08 \pm 0,11^*$	36
3. Образец 3, 100 мг/кг	$1,08 \pm 0,13^*$	36
4. ЦФ	$0,75 \pm 0,11^*$	56
5. ЦФ + образец 3, 50 мг/кг	$0,56 \pm 0,11$	67
6. ЦФ + образец 3, 100 мг/кг	$0,93 \pm 0,12$	45
Серия 4. Альгинат натрия ($M = 1$ kDa) – образец 4		
1. Контроль	$1,92 \pm 0,14$	–
2. Образец 4, 50 мг/кг	$1,12 \pm 0,13^*$	42
3. Образец 4, 100 мг/кг	$1,51 \pm 0,22$	21
4. ЦФ	$0,84 \pm 0,12^*$	56
5. ЦФ + образец 4, 50 мг/кг	$0,57 \pm 0,06$	70
6. ЦФ + образец 4, 100 мг/кг	$0,66 \pm 0,06$	66

Анализ результатов экспериментов позволил разделить исследуемые полисахариды по характеру влияния на опухолевый процесс изолированно и в схеме химиотерапии на три группы: 1) умеренно тормозящие развитие первичной опухоли; 2) оказывающие ингибирующее влияние на процесс метастазирования; 3) усиливающие антиметастатическое действие цитостатика (таблица 3).

В первую группу вошел альгинат натрия с высокой молекулярной массой. Применение этого полисахарида в изолированном режиме введения для лечения мышей с 3LL привело к статистически значимому торможению роста первичного опухолевого узла (таблица 3).

Во вторую группу вошли низкомолекулярные полисахариды, оказавшие ингибирующее влияние на процесс метастазирования карциномы лёгких Льюис при изолированном применении. Так, при лечении мышей альгинатом натрия с молекулярной массой

1 kDa, 1–10 kDa и 20–30 kDa снижалось количество гематогенных метастазов в легких (в 1,2; 1,1 и 1,3; 1,4 раза соответственно), по сравнению с аналогичным показателем у нелеченых животных. Кроме того, при использовании альгината натрия ($M = 1$ kDa) в дозе 100 мг/кг, альгината натрия ($M = 1-10$ kDa) в обеих дозах уменьшилось не только количество метастазов в легких, но и их площадь (табл. 3).

В третью группу полисахаридов, повышающих противометастатический эффект циклофосфана, вошли альгинатынатрия как с низкой, так и с высокой молекулярной массой. Так, при использовании альгината натрия с молекулярной массой 20–30 kDa и 403 kDa с циклофосфаном для лечения мышей с 3LL уменьшилось как количество метастазов в легких, так и их площадь, по сравнению с этими показателями у получавших цитостатик животных (табл. 3).

В механизме противоопухолевого действия полисахаридов одним из ключевых звеньев является их

Таблица 3

Влияние альгината натрия с различной молекулярной массой на развитие 3LL и эффективность терапии циклофосфаном у мышей-самок линии C57BL/6

Группа наблюдений, доза препарата	Масса опухоли (X ± m), г	ТРО, %	ЧМ, %	Количество метастазов на 1 мышь (X ± m)	Площадь метастазов на 1 мышь (X ± m), мм ²	ИИМ, %
Серия 1. Альгинат натрия (M = 403 kDa) – образец 1						
1. Контроль	7,09 ± 0,28	–	100	27,80 ± 2,01	60,84 ± 19,51	–
2. Образец 1, 50 мг/кг	6,23 ± 0,28*	12	100	27,80 ± 2,58	67,28 ± 21,64	0
3. Образец 1, 100 мг/кг	6,47 ± 0,35	9	100	23,90 ± 2,08	45,68 ± 7,56	14
4. ЦФ	4,97 ± 0,22*	30	80*	6,40 ± 1,85*	1,67 ± 0,68*	82
5. ЦФ + образец 1, 50 мг/кг	4,15 ± 0,29	41	60	1,60 ± 0,69**	0,67 ± 0,58**	97
6. ЦФ + образец 1, 100 мг/кг	4,65 ± 0,47	34	70	3,90 ± 2,28	1,19 ± 0,77	90
Серия 2. Альгинат натрия (M = 20–30 kDa) – образец 2						
1. Контроль	7,09 ± 0,28	–	100	27,80 ± 2,01	60,84 ± 19,51	–
2. Образец 2, 50 мг/кг	7,29 ± 0,22	–3	100	26,70 ± 2,64	49,85 ± 11,03	4
3. Образец 2, 100 мг/кг	7,15 ± 0,20	–0,8	100	19,80 ± 2,33*	26,60 ± 3,56	29
4. ЦФ	4,97 ± 0,22*	30	80*	6,40 ± 1,85*	1,67 ± 0,68*	82
5. ЦФ + образец 2, 50 мг/кг	4,75 ± 0,32	33	90	3,50 ± 0,97	1,32 ± 0,65	89
6. ЦФ + образец 2, 100 мг/кг	5,17 ± 0,29	27	70	1,60 ± 0,43**	0,11 ± 0,03**	96
Серия 3. Альгинат натрия (M = 1–10 kDa) – образец 3						
1. Контроль	6,59 ± 0,11	–	100	32,00 ± 1,60	77,44 ± 11,03	–
2. Образец 3, 50 мг/кг	6,09 ± 0,30	8	100	28,63 ± 1,20*	30,05 ± 3,92*	10
3. Образец 3, 100 мг/кг	6,61 ± 0,25	–0,3	100	24,60 ± 2,10*	37,07 ± 7,39*	23
4. ЦФ	5,20 ± 0,18*	21	50*	3,70 ± 1,57*	1,40 ± 0,73*	94
5. ЦФ + образец 3, 50 мг/кг	5,20 ± 0,15	21	70	2,40 ± 0,99	1,55 ± 0,98	95
6. ЦФ + образец 3, 100 мг/кг	5,53 ± 0,26	16	60	1,30 ± 0,50	0,45 ± 0,25	98
Серия 4. Альгинат натрия (M = 1 kDa) – образец 4						
1. Контроль	6,59 ± 0,11	–	100	32,00 ± 1,60	77,44 ± 11,03	–
2. Образец 4, 50 мг/кг	6,92 ± 0,19	–5	100	34,56 ± 4,41	50,76 ± 11,79	–8
3. Образец 4, 100 мг/кг	6,75 ± 0,27	–2	100	26,50 ± 3,39*	49,42 ± 7,99*	17
4. ЦФ	5,20 ± 0,18*	21	50*	3,70 ± 1,57*	1,40 ± 0,73*	94
5. ЦФ + образец 4, 50 мг/кг	5,19 ± 0,08	21	70	2,20 ± 0,80	0,72 ± 0,44	95
6. ЦФ + образец 4, 100 мг/кг	4,98 ± 0,21	24	80	4,00 ± 1,28	2,02 ± 0,85	90

способность оказывать влияние на апоптоз опухолевых клеток [13]. Другой возможный механизм, приводящий к торможению роста опухоли под влиянием растительных полисахаридов, может быть опосредован активацией системы естественной резистентности, способствующей элиминации из организма трансформированных клеток. Установлено, что альгинаты обладают иммуномодулирующей активностью, в частности, они активируют антиген-презентирующие клетки (макрофаги, дендритные клетки, В-лимфоциты), стимулируют Т-лимфоциты, индуцируют продукцию IFN-γ и ИЛ-2 [10]. Антиметастатическое действие полисахаридов, помимо активации иммунной системы организма, может быть связано с уменьшением процесса ангиогенеза в опухолевой ткани (неоангиогенеза), который способствует развитию метастазов на этапах инвазии и миграции опухолевых клеток. В литературе встречаются данные, свидетельствующие о наличии у полисахаридов антиангиогенных свойств [12].

Таким образом, анализ результатов скринингового исследования альгината натрия с различной молекулярной массой позволил определить наиболее перспективным для дальнейшего исследования альгинат натрия с молекулярной массой 20–30 kDa, который повышал эффективность химиотерапии мышей как с аденокарциномой Эрлиха, так и с карциномой легких Льюис. Необходимо отметить тот факт, что этот образец полисахаридов, помимо описанных эффектов, также обладает гемостимулирующей активностью, снижая токсическое действие химиотерапии на кроветворную ткань [5].

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Архипов С.А., Юнкер В.М., Грунтенко Е.В. Изменение интенсивности метастазирования в легкие перевиваемых опухолей мышей в зависимости от величины перевивочной дозы опухолевых клеток

// Исследование по индукции и метастазированию опухолей у экспериментальных животных. – Новосибирск, 1984. – С. 14–32.

Arkhipov S.A., Yunker V.M., Gruntenko E.V. Change of intensity of pulmonary metastasis of transplantable tumors in mice depending on the value of transferring dose of tumor cells // Issledovanie po indukcii i metastazirovaniju opuholej u jeksperimental'nyh zhivotnyh. – Novosibirsk, 1984. – P. 14–32. (in Russian)

2. Гольдберг Е.Д., Разина Т.Г., Зуева Е.П., Амосова Е.Н. и др. Растения в комплексной терапии опухолей. – М.: Изд-во РАМН, 2008. – 232 с.

Goldberg E.D., Razina T.G., Zueva E.P., Amosova E.N. et al. Plants in complex therapy of tumors. – Moscow: Izd-vo RAMN, 2008. – 232 p. (in Russian)

3. Лакин Г.Ф. Биометрия. – М.: Высшая школа, 1980. – 293 с.

Lakin G.F. Biometry. – Moscow: Vysshaja shkola, 1980. – 293 p. (in Russian)

4. Переводчикова Н.И. Руководство по химиотерапии опухолевых заболеваний. – М.: Практическая медицина, 2005. – 704 с.

Perevodchikova N.I. Guideline on the chemotherapy of tumors. – Moscow: Prakticheskaja medicina, 2005. – 704 p. (in Russian)

5. Рыбалкина О.Ю. Использование некрахмальных полисахаридов в комплексной терапии злокачественных новообразований (экспериментальное исследование): автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Томск, 2014. – 25 с.

Rybalkina O.Yu. Using non-starch polysaccharides in complex therapy of cancer (experimental research): abstract of dissertation of Candidate of Biological Sciences. – Tomsk, 2014. – 25 p. (in Russian)

6. Софьина З.П., Сыркин А.Б., Голдин А., Кляйн А. Экспериментальная оценка противоопухолевых

препаратов в СССР и США. – М.: Медицина, 1980. – 296 с.

Sofjina Z.P., Syrkin A.B., Goldin A., Klein A. Experimental assessment of antitumor drugs in USSR and USA. – Moscow: Medicina, 1980. – 296 p. (in Russian)

7. Трещалина Е.М., Седакова Л.А., Фирсова Г.А. Выбор для скрининга природных веществ на противоопухолевую активность // Антибиотики и химиотерапия. – 1990. – Т. 35, № 2. – С. 26–29.

Treshchalina E.M., Sedakova L.A., Firsova G.A. Choice of natural substances for screening on antitumor activity // Antibiotiki i himioterapija. – 1990. – Vol. 35, N 2. – P. 26–29. (in Russian)

8. Хотимченко М.Ю. Фармаконутрициология альгинатов. – Владивосток: Дальнаука, 2009. – 170 с. Khotimchenko M.Yu. Pharmacothrepsology of alginates. – Vladivostok: Dal'nauka, 2009. – 170 p. (in Russian)

9. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes. – Strasburg: Council of Europe, 1986.

10. Fujihara M., Nagumo T. An influence of the structure of alginate on the chemotactic activity of macrophages and antitumor activity // Carbohydr. Res. – 1993. – Vol. 243. – P. 211–216.

11. Hellmann K. Antimetastatic drugs: from Laboratory to clinic // Clin. Exp. Metastas. – 1984. – Vol. 2, N 1. – P. 1–4.

12. Lee H., Kim J.-S., Kim E. Fucoidan from seaweed *Fucus vesiculosus* inhibits migration and invasion of human lung cancer cell via PI3K-AKT-mTOR pathways // PLoSOne. – 2012. – Vol. 7. – P. 506–524.

13. Zhang Z., Teruya K., Eto H. et al. Induction of apoptosis by low-molecular-weight fucoidan through calcium- and caspase-dependent mitochondrial pathways in MDA-MB-231 breast cancer cell // Biosci. Biotechnol. Biochem. – 2013. – Vol. 77, N 2. – P. 235–242.

Сведения об авторах

Рыбалкина Ольга Юрьевна – младший научный сотрудник лаборатории онкофармакологии Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга (634028, г. Томск, пр. Ленина, 3; тел.: 8 (3822) 41-47-77; e-mail: olgatomsk87@gmail.com)

Лопатина Ксения Александровна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории онкофармакологии Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга

Сафонова Елена Андреевна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории онкофармакологии Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга

Ефимова Лариса Анатольевна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории онкофармакологии Научно-исследовательского института фармакологии им. Е.Д. Гольдберга

Information about the authors

Rybalkina Olga Yurievna – Junior Research Officer of the Laboratory of Oncopharmacology of Goldberg Research Institute of Pharmacology (Lenin av., 3, Tomsk, 634028; tel.: +7 (3822) 41-47-77; e-mail: olgatomsk87@gmail.com)

Lopatina Ksenia Aleksandrovna – Candidate of Medical Sciences, Research Officer of the Laboratory of Oncopharmacology of Goldberg Research Institute of Pharmacology

Safonova Elena Andreevna – Candidate of Medical Sciences, Research Officer of the Laboratory of Oncopharmacology of Goldberg Research Institute of Pharmacology

Efimova Larisa Anatoljevna – Candidate of Medical Sciences, Research Officer of the Laboratory of Oncopharmacology of Goldberg Research Institute of Pharmacology

Т.П. Старовойтова, Т.А. Иванова, Г.Б. Мухтургин, С.А. Витязева, В.И. Дубровина,
К.М. Корытов, С.В. Балахонов

ИЗМЕНЕНИЯ КЛЕТОЧНОГО СОСТАВА ПЕРИТОНЕАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ БЕЛЫХ МЫШЕЙ ПРИ ИНФЕКЦИОННОМ ПРОЦЕССЕ, ВЫЗВАННОМ *YERSINIA PESTIS* С РАЗЛИЧНЫМ ПЛАЗМИДНЫМ СОСТАВОМ

Иркутский научно-исследовательский противочумный институт Сибири и Дальнего Востока (Иркутск)

В статье представлены данные о влиянии плазмидного состава чумного микроба на субпопуляционный состав моноклеарных клеток перитонеальной жидкости белых мышей на ранних сроках инфекционного процесса. Показано, что изменение клеточного состава перитонеальной жидкости экспериментальных животных зависит от плазмидного профиля штаммов чумного микроба. В ходе эксперимента также выявлена фазность в изменении количественного состава тучных клеток перитонеальной жидкости белых мышей, инфицированных штаммами *Yersinia pestis* с разным плазмидным спектром.

Ключевые слова: *Yersinia pestis*, перитонеальная жидкость, вирулентность

CHANGES IN CELLULAR COMPONENTS OF PERITONEAL FLUID OF WHITE MICE WITH INFECTION CAUSED BY *YERSINIA PESTIS* WITH DIFFERENT PLASMID PROFILE

T.P. Starovoytova, T.A. Ivanova, G.B. Mukhturgin, S.A. Vityazeva, V.I. Dubrovina,
K.M. Korytov, S.V. Balakhonov

Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East, Irkutsk

The article presents the data on the influence of *Yersinia pestis* plasmid profile on subpopulation structure of mononuclear cells of peritoneal fluid of mice at the early stages of infectious process. It was showed that change of cellular composition of peritoneal fluid of the experimental animals depended on the plasmid profile of *Yersinia pestis* strains. The phase character in the changes of quantitative composition of the mast cells of peritoneal fluid of white mice infected with *Y. pestis* strains with different plasmid spectrum was determined.

Key words: *Yersinia pestis*, peritoneal fluid, virulence

Подавляющее большинство факторов вирулентности *Yersinia pestis* связаны с плазмидным составом. Генном возбудителя чумы основного подвида – *Yersinia pestis* subspecies *pestis* – имеет три плазмиды – pYV(45МДа), pYP(6МДа) и pYT(61МДа), их роль хорошо изучена в реализации патогенных свойств иерсиний. С наличием плазмиды pYV штаммы иерсиний проявляют многие фенотипические признаки: клеточную адгезию, аутоагглютинацию, поверхностную агглютинацию, а также синтез белков наружной мембраны, в том числе V- и W-антигенов и других белков, действие которых направлено на подавление фагоцитарной активности клеток иммунной системы. Плазмиды pYP и pYT видоспецифичны. Плазида pYP детерминирует синтез бактериоцина пестицина 1 и активатора плазминогена, а плазида pYT кодирует два наиболее хорошо изученных фактора вирулентности – мышинный токсин и F1 капсулы [5, 8, 9]. Отличительным признаком возбудителя, циркулирующего в Тувинском очаге, является наличие в его геноме дополнительной четвертой плазмиды pTP33 с пока невыясненными функциями. Предполагают, что данная плазида представляет собой генетически модифицированный вариант резидентной плазмиды 9,5 kD, несущей гены *pla* (активатор плазминогена) и *psl* (пестицин 1) [2]. Утрата плазмид приводит к изменению биохимических, культуральных свойств, а также к снижению или полной утрате вирулентности возбудителя [1, 5, 8].

Ведущим клиническим признаком чумной инфекции и интоксикации, определяющим тяжесть течения

и исход заболевания, является нарушение гомеостаза макроорганизма. Первичными мишенями для эндотоксина являются полиморфноядерные лейкоциты, макрофаги, моноциты, клетки эндотелия и другие клеточные элементы. Изменение клеточного состава перитонеальной жидкости можно расценивать как диагностический критерий тяжести болезни при многих заболеваниях, в том числе и при чуме. В связи с этим оценка количественного и качественного клеточного состава перитонеальной жидкости у белых мышей при инфекционном процессе, вызванном *Y. pestis* с различным плазмидным составом, представляет большой интерес.

Цель работы: исследовать динамику изменения субпопуляционного состава моноклеарных клеток перитонеальной жидкости белых мышей на ранних сроках экспериментальной чумной инфекции.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальной моделью в опытах служили 175 беспородных, но стандартных по условиям содержания и весу (18–20 г) белых мышей обоих полов. Животных выводили из эксперимента в соответствии с «Правилами лабораторной практики в Российской Федерации», утвержденными Приказом Минздрава РФ № 267 от 19.06.2003 г., и Национальным стандартом РФ ГОСТ Р 53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики».

В работе использовали 6 штаммов *Y. pestis* subsp. *pestis* и *Y. pestis* subsp. *altaica* из коллекции музея Ир-

Характеристика тестируемых штаммов чумного микроба

Штамм	Место выделения	Плазмидный состав	Вирулентность для белых мышей (LD ₅₀), м. к.
<i>Y. pestis</i> subsp. <i>pestis</i> И-2638	Тувинский природный очаг чумы	pYP ⁺ pYV ⁺ pTP33 ⁺ pYT ⁺	10 / высоковирулентный
<i>Y. pestis</i> subsp. <i>pestis</i> И-3479	Иркутский противочумный институт	pYP ⁺ pYV ⁺ pTP33 ⁺ pYT ⁺	авирулентен
<i>Y. pestis</i> subsp. <i>pestis</i> И-3480	Иркутский противочумный институт	pYP ⁺ pYV ⁺ pTP33 ⁺ pYT ⁺	авирулентен
<i>Y. pestis</i> subsp. <i>altaica</i> И-2359	Горно-алтайский природный очаг чумы	pYP ⁺ pYV ⁺ pYT ⁺	4 × 10 ⁴ / слабовирулентный
<i>Y. pestis</i> subsp. <i>altaica</i> И-2948	Горно-алтайский природный очаг чумы	pYP ⁺ pYV ⁺ pYT ⁺	3 × 10 ⁸ / остаточная вирулентность
<i>Y. pestis</i> subsp. <i>altaica</i> И-2948/3	Иркутский противочумный институт	pYP ⁺ pYV ⁺ pYT ⁺	авирулентен

кутского научно-исследовательского противочумного института Роспотребнадзора (табл. 1).

Интактные белые мыши были разделены на 6 опытных и 1 контрольную группы по 25 особей в каждой. Животных опытных групп заражали *Y. pestis* в концентрации 1 × 10⁶ м. к. в объеме 0,5 мл интраперитонеальным способом. I опытной группе животных вводили выращенную при температуре 28 °С двухсуточную культуру *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638, II группе – *Y. pestis* subsp. *pestis* И-3479, III группе – *Y. pestis* subsp. *pestis* И-3480, IV опытную группу животных заражали референтным Горно-Алтайским штаммом *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2359, V группу – *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948, VI группу – селекционным штаммом *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948/3.

Забор материала от экспериментальных животных (перитонеальная жидкость) производили через 30, 60, 90, 120 и 180 минут. Проводили подсчет общего числа ядерных клеток в 1 мл перитонеальной жидкости в фиксированных препаратах, окрашенных стандартными методами [6, 7]. Для бактериологического анализа кровь из сердца и перитонеальную жидкость (по 0,1 мл) засеивали на твердую питательную среду (агар Хоттингера, pH 7.2).

В работе использовали методы обзорной микроскопии. Количественную оценку общего числа лейкоцитов проводили с использованием унифицированного метода подсчета клеток в камере Горяева. Процентное соотношение различных видов лейкоцитов проводили методом морфологического исследования перитонеальной жидкости в мазках. При исследовании препаратов с использованием компьютерной программы «MoticImagesPlus» (версия 2) осуществляли дифференцированный подсчет тканевых базофилов (ТК), измеряли их диаметр и площадь. Степень активизации ТК оценивали по индексу дегрануляции клеток (ИДТК) – процентное соотношение дегранулированных тучных базофилов к их общему числу [3, 4].

Автоматический анализ изображения производили с помощью светового микроскопа «Zeiss» (Германия) с видеокамерой «Moticam 2000», разрешение 1392 × 1040 пикселей, ок. 10, об. 100.

Значимость результатов исследования получали математическими методами статистической обработки с применением сравнительного анализа по t-критерию Стьюдента и с применением компьютерной программы Statistica, версия 6.0 (StatSoft Inc. 19842001, ИПЧИ 31415926535897) и пакета программ

Microsoft Office Excel (2003). Результаты считали значимыми по отношению к контролю при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Общее количество клеток в перитонеальной жидкости у интактных животных составляет $4,3 \pm 0,9 \times 10^3$ в 1 см³, при этом макрофаги являются преобладающим клеточным типом и составляют $60,5 \pm 5,6$ % от общего числа клеток, а на долю лимфоцитов приходится $17,0 \pm 2,8$ %; $5,5 \pm 0,8$ % составляют клетки мезотелия и другие клеточные элементы.

У инфицированных белых мышей наблюдается фазность в изменении общего количества ядерных клеток. У животных, зараженных вирулентным штаммом *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638, через 30 мин общее число ядерных клеток резко возрастает до $1,5 \pm 0,4 \times 10^4$ в 1 см³, что превышает показатели у интактных животных в 3,4 раза. К 60 мин исследования показатели снижаются до интактных значений, продолжая уменьшаться в последующие сроки. Цитологическая картина перитонеальной жидкости имеет четкую взаимосвязь с заражающей культурой. У животных I группы через 30 мин после инфицирования отмечено увеличение количества лимфоцитов, превосходящее значение у интактных животных в 4 раза за счет резкого снижения числа моноцитов. Данные изменения выявлены во все сроки наблюдения. В перитонеальной жидкости белых мышей, инфицированных *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638, через 120 мин от начала эксперимента зарегистрировано увеличение количества сегментоядерных нейтрофилов в 2,5 раза, по сравнению с контролем ($p < 0,05$), и незначительное увеличение количества палочкоядерных нейтрофилов. На последнем сроке исследования в мазках перитонеальной жидкости выявляется большое количество фибробластов, агрегация лимфоцитов и большое количество делящихся клеток.

У белых мышей, зараженных *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2359, *Y. pestis* subsp. *pestis* И-3479 и *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948/3, через 30 мин после начала эксперимента статистически значимые изменения отсутствуют. К 180 мин количество ядерных клеток в перитонеальном экссудате превосходит показатели в контроле в 2,8 ($p < 0,01$), 1,9 ($p < 0,05$) и 1,5 раза соответственно. При введении животным *Y. pestis* subsp. *pestis* И-3480 и *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948 через 30 мин отмечается повышение общего числа ядерных клеток с последующим снижением (120 мин) до уровня контроля, и к 180 мин показатель вновь увеличивается.

При просмотре мазков перитонеальной жидкости у животных всех опытных групп регистрируется клеточная пролиферация лимфоцитов, гистиоцитов, увеличение эозинофилов, тканевых базофилов, плазмочитов, клеток мезотелия и фибробластов.

Оценка морфологических свойств базофилов, их количество и функциональная активность представляют интерес при исследовании клеточного состава перитонеальной жидкости инфицированных животных.

Установлено, что у опытных белых мышей отмечается фазность в изменении количественного состава тканевых базофилов перитонеальной жидкости. Увеличение их числа у животных, зараженных *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638, регистрируется в 60 мин после введения культуры, превышая значения у интактных животных в 2,6 раза ($p < 0,05$). Затем данные показатели снижаются (90–120 мин) до значений интактных животных, к 180 мин вновь возрастают, достигая значений 8,5 против 2,5 в контроле ($p < 0,05$). Часть ТК представлены интестинальными – незрелыми формами (рис. 1), появление которых можно расценивать как процесс компенсации.

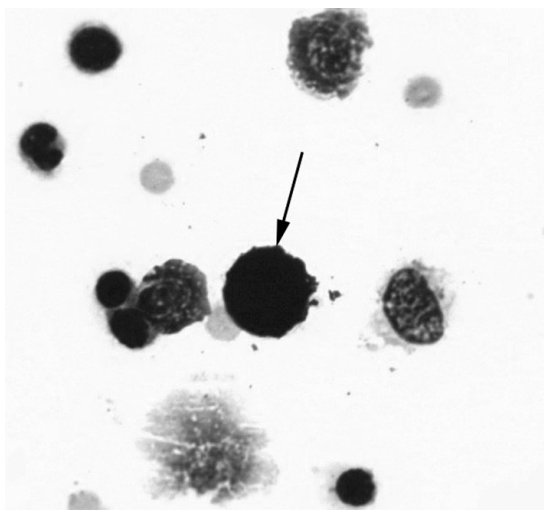


Рис. 1. Белая мышь, зараженная *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638. Перитонеальная жидкость. Интестинальные тучные клетки. Окраска по Романовскому – Гимзе, ув. $\times 100$.

В первые сроки исследования атипичные ТК составляют $21,0 \pm 1,8$ % от общего числа ТК, к последним срокам данные показатели возрастают до $25,2 \pm 2,1$ %. Атипичные ТК обладают минимальным функциональным потенциалом и имеют значительно меньшие размеры. Диаметр клеток составляет 6,8–8,6 мкм, что в среднем в 2,3 раза меньше ($p < 0,05$), по сравнению с диаметром типичных ТК. Таких клеток значительно меньше в перитонеальной жидкости белых мышей, зараженных *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2359, и только в период 120–180 мин после заражения отмечаются единичные интестинальные тканевые базофилы. У животных других опытных групп атипичные ТК не выявляются.

В целом активизация системы ТК отражает общую адаптивную перестройку организма в ответ на введение антигена. Дегрануляция тканевых базофилов проходит по пути цельногранулярного экзоцитоза (рис. 2). Функциональная активность тканевых базофилов перитонеальной жидкости опытных животных имеет фазный характер. Самый высокий ИДТК отмечается

у белых мышей через 60 мин после заражения *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638 – $3,9 \pm 0,6$, что в 18,5 раза ($p < 0,01$) выше значения у интактных животных, затем показатель резко снижается, но к 180 мин исследований он вновь повышается, превышая значение в контрольной группе в 4,4 раза ($p < 0,01$). У селекционных клонов *Y. pestis* subsp. *pestis* И-3479 и И-3480 максимальное значение индекса дегрануляции имеет место через 90 мин от начала опыта и составляет $2,0 \pm 0,3$ и $1,3 \pm 0,4$ соответственно, при этом у белых мышей II опытной группы показатели во все сроки исследования были выше, чем у животных III опытной группы.

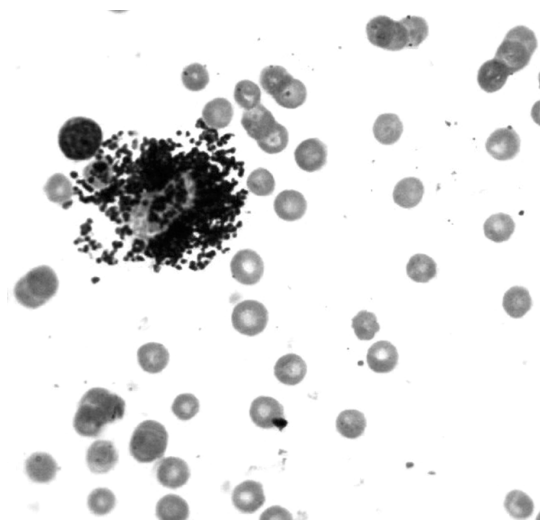


Рис. 2. Белая мышь, зараженная *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638. Перитонеальная жидкость. Тучные клетки. Дегрануляция. Окраска по Романовскому – Гимзе, ув. $\times 100$.

Наиболее выраженный фазный характер изменения тканевых базофилов отмечается у белых мышей IV опытной группы. Максимальное значение ИДТК приходится на второй и четвертый этапы исследования, превышая значения интактных животных в 5,8 и 7,4 раза ($p < 0,05$) соответственно. У особей, зараженных *Y. pestis* subsp. *altaica* И-2948/3, только на двух сроках исследования (60–90 мин) регистрируется увеличение дегрануляции тучных клеток в 3,6 и 2,6 раза соответственно ($p < 0,05$), в другие сроки данные статистически не значимы. У белых мышей V опытной группы максимальное значение ИДТК приходится на второй и последний срок исследования – 0,99 и 0,92 у. е., при в контроле отмечается 0,21 у. е.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, развитие инфекционного процесса в первые часы после инокуляции возбудителя чумы зависит от его плазмидного профиля, поскольку наиболее выраженные изменения количественного и качественного клеточного состава перитонеальной жидкости выявлены у экспериментальных животных при заражении штаммами с наличием $rYP^+rYV^+rYT^+$.

Выявленная в ходе эксперимента фазность в изменении количественного состава тучных клеток перитонеальной жидкости, особенно у особей, зараженных вирулентным штаммом *Y. pestis* subsp. *pestis* И-2638 ($rYP^+rYV^+rTP33^+rYT^+$), а также наличие незрелых и атипичных форм ТК свидетельствует о развитии процессов компенсации.

В целом активизация системы тучных клеток отражает общую адаптивную перестройку организма в ответ на введение антигена.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Анисимов А.Н. Факторы *Y. pestis*, обеспечивающие циркуляцию и сохранение возбудителя чумы в экосистемах природных очагов. Сообщение 1 // Молекулярная генетика, микробиол. и вирусол. – 2002. – № 3. – С. 3–23.
Anisimov A.N. Factors of *Y. pestis* providing circulation and preserving of plague infectious agent in the ecosystems of natural foci. Report I // Molekuljarnaja genetika, mikrobiol. i virusol. – 2002. – N 3. – P. 3–23. (in Russian)
2. Балахонов С.В. Обнаружение нуклеотидных последовательностей генов *pla*, *pstI* и *cafI* на криптической плазмиде 33 kD штаммов *Yersinia pestis* из тувинского очага чумы // 8th Int. Symp. on *Yersinia*. – Турку, Финляндия, 2002. – № 10. – С. 352–355.
Balakhonov S.V. Detection of *pla*, *pstI* and *cafI* gene nucleotide sequences in cryptic plasmid 33 kb *Yersinia pestis* strains from Tuva plague focus // 8th Int. Symp. on *Yersinia*. – Turku, Finland, 2002. – N 10. – P. 352–355. (in Russian)
3. Витязева С.А., Старовойтова Т.П., Бушкова А.В. Тканевые базофилы как представители многочисленной клеточной популяции АПУД-системы. – Деп. в ВИНТИ № 376-В2010 17.06.2010. – 18 с.
Vityazeva S.A., Starovoytova T.P., Bushkova A.V. Tissue basophiles as the representatives of numerous cell population of APUD-system. – Dep. in VINITI N 376-B2010 17.06.2010. – 18 p. (in Russian)
4. Красноженов Е.П., Федоров Ю.В. Влияние инфекционного процесса на морфофункциональную характеристику тканевых базофилов // Журн. микробиол., эпидемиол. и иммунол. – 1996. – № 1. – С. 107–108.
Krasnozhenov E.P., Fedorov Yu.V. Influence of infectious process on morphofunctional characteristics

of tissue basophiles // Zhurn. mikrobiol., jepidemiol. i immunol. – 1996. – N 1. – P. 107–108. (in Russian)

5. Лебедева С.А., Трухачев А.Л., Иванова В.С., Арutyunov Ю.И. и др. Вариабельность возбудителя чумы и проблемы его диагностики / Под ред. С.А. Лебедевой. – Ростов-на-Дону: Антей, 2009. – 533 с.

Lebedeva S.A., Trukhachev A.L., Ivanova V.S., Arutyunov Yu.I. et al. Diversity of plague infectious agent and problems of its diagnostics / Ed. by S.A. Lebedeva. – Rostov-on-Don: Antei, 2009. – 533 p. (in Russian)

6. Меньшиков В.В. и др. Лабораторные методы исследования в клинике. – М.: Медицина, 1987. – 365 с.

Menshikov V.V. et al. Laboratory methods of research in clinic. – Moscow: Medicina, 1987. – 365 p. (in Russian)

7. Методические указания МУ 3.4.2552-09 «Организация и проведение первичных противоэпидемических мероприятий в случаях выявления больного (трупа), подозрительного на заболевания инфекционными болезнями, вызывающими чрезвычайные ситуации в области санитарно-эпидемиологического благополучия населения» – Приложение 10.

Practical policies “Organization and conducting primary epidemiology on the chance of case (corpse) detection suspicious for infectious diseases causing emergency situations regarding sanitary and epidemiological welfare of the population”. – Suppl. 10. (in Russian)

8. Ценева Г.Я., Солодовникова Н.Ю., Воскресенская Е.А. Молекулярные аспекты вирулентности иерсиний // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2002. – Т. 4, № 3. – С. 248–266.

Tseneva G.Ya. Solodovnikova N.Yu., Voskresenskaya E.A. Molecular aspects of *Yersinia* virulence // Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija. – 2002. – Vol. 4, N 3. – P. 248–266. (in Russian)

9. Huang X.-Z., Nikolich M., Lindler L. Current trend in plague research: from genomics to violence // Clin. Med. Research. – 2006. – Vol. 4, N 3. – P. 189–199.

Сведения об авторах

Старовойтова Татьяна Пантелеевна – научный сотрудник лаборатории патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока (664047, г. Иркутск, ул. Триллсера, 78; тел.: 8 (3952) 22-01-35; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru)

Иванова Татьяна Александровна – заведующая лабораторией экспериментальных животных Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Мухтургин Геннадий Борисович – младший научный сотрудник лаборатории экспериментальных животных Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Витязева Светлана Александровна – кандидат медицинских наук, научный сотрудник отдела микробиологии чумы Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Дубровина Валентина Ивановна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Балахонов Сергей Владимирович – доктор медицинских наук, профессор, директор Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Корытов Константин Михайлович – младший научный сотрудник лаборатории патофизиологии Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока

Information about the authors

Starovoytova Tatiana Panteleevna – Research Officer of the Laboratory of Pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East (Trilissera str., 78, Irkutsk, 664047; tel.: +7 (3952) 22-01-35; e-mail: adm@chumin.irkutsk.ru)

Ivanova Tatyana Aleksandrovna – Head of the Laboratory of Experimental Animals of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Mukhturgin Gennadiy Borisovich – Junior Research Officer of the Laboratory of Experimental Animals of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Vityazeva Svetlana Aleksandrovna – Candidate of Medical Sciences, Research Officer of the Laboratory of Plague Microbiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Dubrovina Valentina Ivanovna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Balakhonov Sergey Vladimirovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Director of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Korytov Konstantin Mikhaylovich – Junior Research Officer of the Laboratory of pathophysiology of Irkutsk Antiplague Research Institute of Siberia and Far East

Н.М. Шабанова ¹, Ю.П. Джиноев ^{1, 2}, Е.В. Бухарова ¹, С.М. Попкова ¹, Е.В. Кочерыгина ³,
Е.Б. Ракова ^{1, 2}, О.В. Ерофеева ³, М.В. Лесничая ⁴, С.В. Кузнецов ⁴, Б.Г. Сухов ⁴

ВИДОВАЯ СУБСТРАТНАЯ СПЕЦИФИЧНОСТЬ РОСТА ЛАКТОБАЦИЛЛ ИЗ ВАГИНАЛЬНОГО БИОТОПА НА КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СРЕДАХ С ВКЛЮЧЕНИЯМИ РАЗНЫХ ТИПОВ ПРИРОДНЫХ НАНОПОЛИСАХАРИДОВ

¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

² Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

³ Иркутский государственный университет (Иркутск)

⁴ Иркутский институт химии им. А.Е. Фаворского СО РАН (Иркутск)

В данной работе представлено исследование по изучению субстратных и пребиотических свойств природных нанополисахаридов для ряда видов лактобактерий, выделенных из вагинального биотопа женщин, с оценкой их видовых комбинаций. Большинство типизируемых видов лактобактерий предпочитают расти на средах с полисахаридами, в основном в питательном бульоне с добавлением галактоманнана и каррагинана. Использование галактоманнана способствует увеличению показателя частоты выявляемости, по сравнению с выделением с первичного материала, приблизительно в 2 раза.

Ключевые слова: лактобациллы, нанополисахариды, пребиотик, ПЦР

SPECIES SUBSTRATE SPECIFICITY OF GROWTH OF LACTOBACILLI ISOLATED FROM VAGINAL BIOTOPE ON CULTURE MEDIUM WITH INCLUSIONS OF DIFFERENT TYPES OF NATURAL NANOPOLYSACCHARIDES

N.M. Shabanova ¹, Yu.P. Dzhioev ^{1, 2}, E.V. Bukharova ¹, S.M. Popkova ¹, E.V. Kocherygina ³,
E.B. Rakova ^{1, 2}, O.V. Erofeeva ³, M.V. Lesnichaya ⁴, S.V. Kuznetsov ⁴, B.G. Sukhov ⁴

¹ Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

² Irkutsk State Medical University, Irkutsk

³ Irkutsk State University, Irkutsk

⁴ A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS, Irkutsk

The article presents the research of substrate and prebiotic properties of natural nanopolysaccharides for several species of lactobacilli isolated from vaginal biotope of women, with assessment of their species combinations. Most of typeable lactobacilli species prefer to grow on media containing polysaccharides, mainly in nutrient broth supplemented with galactomannan and carageenan. Using galactomannan increases the frequency of detection, as compared with the isolation from the starting material, twice.

Key words: lactobacilli, nanopolysaccharides, prebiotic, PCR

Современные технологии в области создания продуктов функционального питания в своей основе используют разработки в смежных областях научных дисциплин. Так, для создания пребиотических продуктов используются результаты исследований в молекулярной микробиологии, медицине, нутригеномике, экологии продуктов питания. Здесь основой пребиотического продукта являются живые микроорганизмы индигенной микрофлоры человека. Та же самая междисциплинарная структура исследований характерна для разработки пребиотических продуктов, хотя здесь больший акцент делается на исследования в области создания ингредиентов на основе химических и биологических особенностей их структур, позволяющих им быть устойчивым к расщепляющим ферментам и стимулировать рост и жизнедеятельность полезной микрофлоры. Более сложным функциональным продуктом являются синбиотики. Синбиотик – это функциональный пищевой компонент растительного, животного или микробиологического происхождения, представляющий собой комбинацию пробиотиков и пребиотиков, оказывающих синергический эффект на физиологические функции и метаболизм человека в

целом [4]. За счет такого взаимодействия не только наиболее эффективно имплантируются вводимые микроорганизмы – пробиотики в кишечные и вагинальные биотопы хозяина, – но и стимулируется его собственная микрофлора. В результате этого нормализуются обменные процессы в организме человека [2]. Микрофлоры биотопов организма человека формируют местный и системный иммунитет, участвуют в процессах жирового и пигментного обмена, а также в выработке пищеварительных ферментов, эндогенном синтезе витаминов и субстанций, оказывающих бактерицидное действие на болезнетворные микроорганизмы [5, 8].

Наиболее эффективными пребиотиками являются олиго- и полисахариды, содержащие β-гликозидные связи, которые легко гидролизуются в биотопах ферментами микрофлоры с освобождением моносахаров и их последующей биоутилизацией этой микрофлорой [6, 7].

Исходя из этого, целью данной работы являлось проведение экспериментальных исследований по изучению субстратных и пребиотических свойств природных нанополисахаридов (арабиногалактана, галактоманнана, каррагинана) для ряда видов

лактобактерий, выделенных из вагинального биотопа женщин, с оценкой их видовых комбинаций при культивировании на средах с разными типами используемых полисахаридов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании было использовано 16 бактериальных образцов лактобацилл, полученных из вагинальных смывов от женщин репродуктивного возраста, проходивших обследование в Научном центре проблем здоровья семьи и репродукции человека. Бактериологическое исследование проводилось в соответствии с общепринятыми методиками [1]. В работе в качестве включений в культуральные среды использовались природные полисахариды, приготовленные и полученные в Иркутском институте химии им. А.Е. Фаворского: арабиногалактан в двух композитных формах – очищенный от примесей и неочищенный, каррагинан и галактоманнан. Биомасса бактерий была выращена на шести видах жидких сред: мясо-пептонном бульоне (МПБ), МПБ с глюкозой, МПБ с очищенным арабиногалактаном, МПБ с неочищенным арабиногалактаном, МПБ с добавлением каррагинана и на МПБ с добавлением галактоманнана. Концентрация полисахаридов в культуральных средах составляла 0,4 %.

Для выделения ДНК бактерий из культуральной среды использовали комплект реагентов «ДНК-сорб-В» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). В качестве мишеней для генотипирования был выбран информационный ген 16S рРНК лактобацилл. Типирование проводили с 5 парами праймеров, специфичными для соответствующих видов лактобацилл [3]. Для ПЦР-амплификации использовали коммерческий набор AmpliSens-200-1 (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Реакция амплификации для всех 5 пар праймеров была модифицирована, оптимизирована

и проходила по следующей схеме: первичная денатурация ДНК – при 95 °С в течение 2 мин, далее 35 циклов амплификации при условиях: 95 °С в течение 1 мин, 56 °С в течение 1 мин, 72 °С в течение 1 мин и заключительная элонгация – 72 °С в течение 3 мин. Электрофорез ПЦР-фрагментов ДНК лактобацилл проводили с использованием 1,0%-го агарозного геля в 1-кратном трис-ацетатном буфере. Размеры амплифицированных фрагментов идентифицировали в соответствии с протоколом стандартных маркеров молекулярной массы ДНК («Fermentas», Литва).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ результатов генетического типирования видов лактобацилл свидетельствует о том, что используемые видоспецифичные праймеры достаточно четко разделяют соответствующие виды лактобацилл в общей массе микроорганизмов вагинального биотопа (рис. 1), что свидетельствует как об их высокой видоспецифичности, так и о технической и информационной достоверности полученных результатов.

В различных образцах изначально присутствовали разные виды лактобацилл. В дальнейшем, после проведения ПЦР-анализа, определялись те или иные виды лактобацилл в шести различных средах: голодном мясопептонном бульоне (МПБ), МПБ с очищенным арабиногалактаном, МПБ с неочищенным арабиногалактаном, МПБ с каррагинаном и МПБ с галактоманнаном.

Первичное определение видов лактобацилл в материале из соскобов вагинального биотопа показало неполное наличие всех пяти видов, и степень разнообразия видовых сочетаний выявленных видов лактобацилл была большей. Ни в одном образце не был зафиксирован полный набор исследуемых видов. Максимальное количество видов (3 вида) было выявлено только в 18,7 % случаев, причем сочетания видов различались. По наличию отдельных видов

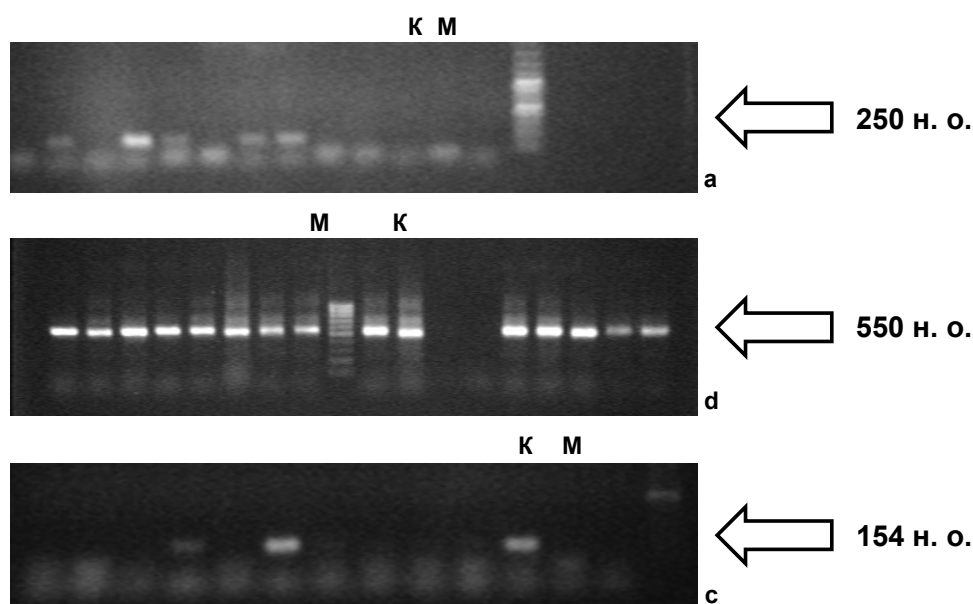


Рис. 1. Образцы электрофореграмм результатов ПЦР-анализа с видовыми праймерами на 16S rRNA: а – *L. jensoni* ~ 250 нуклеотидных оснований (н. о.); d – *L. plantarum* ~ 550 н. о.; c – *L. crispatus* ~ 154 н. о.; М – маркер длины ДНК фрагментов; К – отрицательный контроль.

доминировал *L. crispatus* (81,2 %), далее – *L. plantarum* (31,2 %) и *L. gasseri* (25 %). Другие виды фиксировались в единичных случаях.

Количественный анализ видов лактобацилл, выращенных на разных вариантах питательных сред, показал, что наиболее предпочтительным для лактобацилл в качестве субстрата является галактоманнан.

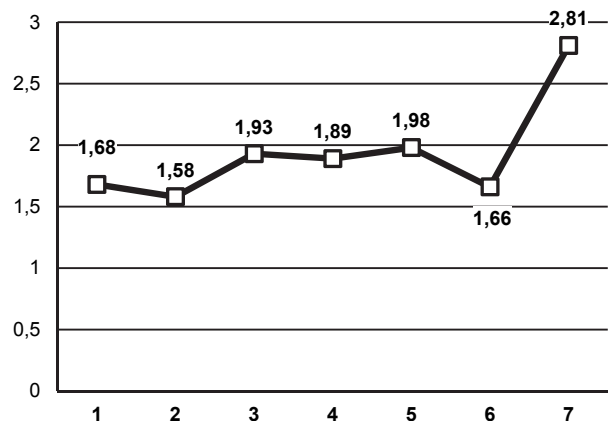


Рис. 2. Среднее количество видов лактобацилл, выращенных на различных вариантах питательных сред: 1 – первичный материал; 2 – МПБ (голодная среда); 3 – МПБ с глюкозой; 4 – МПБ с очищенным арабиногалактаном; 5 – МПБ с неочищенным арабиногалактаном; 6 – МПБ с каррагинаном; 7 – МПБ с галактоманнаном.

Среднее количество видов лактобацилл, культивируемых на питательной среде с добавлением галактоманнана, составляет 2,81 (рис. 2), в то время как на голодной среде (без сахаров) оно оказалось минимальным и составило 1,58. На питательных бульонах с добавлением очищенного и неочищенного арабиногалактана среднее количество видов составило 1,89 и 1,98 соответственно, тогда как среднее количество видов лактобацилл, выращенных на питательном бульоне с каррагинаном, оказалось ниже, чем на других полисахаридах, и ниже, чем количество видов, выделенных с первичного материала (1,66 и 1,68 соответственно).

Рассматривая видовую структуру лактобацилл (рис. 3) в отдельных образцах, можно заметить, что вид (виды), выявленный в первичном материале, не всегда выделялся на разных средах. В ряде случаев виды лактобацилл, не обнаруженные в первичном материале определялись в нескольких средах с полисахаридами и даже в голодной среде. Примечательно, что вид *L. plantarum*, обнаруженный в первичном материале только в 31 % случаев, на других вариантах сред стал определяться значительно чаще. Так, например, на питательном бульоне с добавлением галактоманнана частота встречаемости *L. plantarum* возросла в 2 (62 %) раза, по сравнению с первичным материалом. Вид *L. crispatus*, имея преимущественный рост в первичном материале, по сравнению с другими видами, по частоте выявляемости также варьировал на других вариантах сред. Частота выделения *L. crispatus* в первичном материале составила 81 % случаев, тогда как после культивирования на голодном бульоне (МПБ) этот показатель снизился до 37 %. Наиболее часто *L. crispatus* выявлялся после культивирования на бульоне с добавлением очищенного арабиногалактана и галактоманнана (94 % и 87 % соответственно). При сравнении показателей частоты встречаемости *L. gasseri*, *L. iners* и *L. jensoni* наблюдалась схожая картина. Использование галактоманнана способствует увеличению показателя частоты выявляемости, по сравнению с выделением с первичного материала, приблизительно в 2 раза, что свидетельствует о способности данного полисахарида стимулировать рост лактобацилл и о возможности его использования в составе синбиотических продуктов.

ВЫВОДЫ

Структура вагинальных микробиоценозов, типизируемых по пяти видам лактобактерий, имеет индивидуальные различия по количественным и качественным параметрам их сочетаний.

В микробиологическом аспекте большинство типизируемых видов лактобактерий предпочитают расти на средах с полисахаридами, в основном в МПБ с галактоманнаном и каррагинаном.

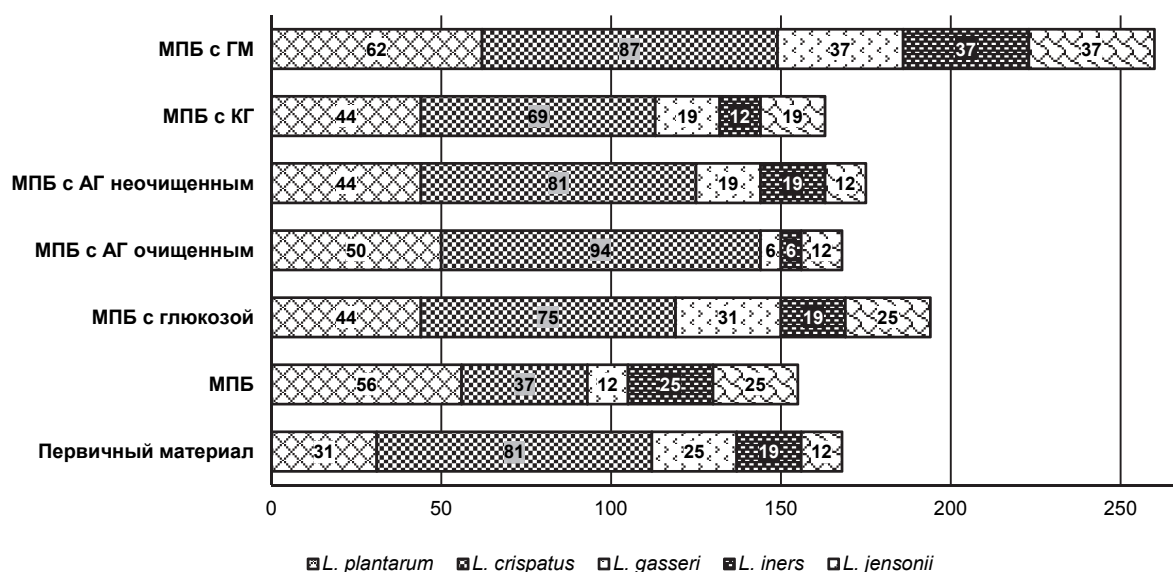


Рис. 3. Видовая структура лактобацилл, выделенных с различных вариантов питательных сред.

В исследуемой выборке представлены все 5 определяемых видов лактобацилл. В качестве доминирующих видов определены *L. crispatus* и *L. plantarum* как в первичном материале, так и на всех вариантах питательных сред, причём более чем в половине образцов (56 %) лактобациллы были представлены только одним видом, и только в 25 % образцов лактобациллы были обнаружены в виде трехвидовых ассоциаций.

Лактобактерии, не зафиксированные в первичном посеве, выявлялись в дальнейшем на других средах с полисахаридами (арабиногалактаном, каррагинаном, галактоманнаном) в той или иной степени количественного и качественного разнообразия.

Впервые выявлено, что используемые полисахариды (в основном галактоманнан с нанокмппозитными включениями) являются усилителями ростовых свойств для разных видов лактобацилл, что имеет важное значение для его использования в качестве пребиотика, а также в составе синбиотических продуктов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Айламазян Э.К. и др. Акушерство: Национальное руководство. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 1200 с. Aylamazyan E.K. et al. Obstetrics: National Guidelines. – Moscow: GEOTAR-Media, 2007. – 1200 p. (in Russian)
2. Джиоев Ю.П. и др. Исследование молекулярно-генетических методов для типирования бифидобактерий и анализ видов архитектуры кишечника у жителей промышленного города // Изв. Иркут. гос. ун-та. Сер. Биология. Экология. – 2009. – Т. 2, № 2. – С. 68–74. Dzhioev Yu.P. et al. Research of molecular-genetic methods for typing of bifid bacteria and analysis of types of

architectonics of intestinal microbiocenosis in the population of industrial town // Izv. Irkut. gos. un-ta. Ser. Biologiya. Jekologiya. – 2009. – Vol. 2, N 2. – P. 68–74. (in Russian)

3. Самойлов А.В. Разработка технологии спрэдов функционального назначения с симбиотическим комплексом: автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.18.06. – М., 2008. – 27 с.

Samoylov A.V. Development of the technology of spreads of functional purpose with symbiotic complex: abstract of dissertation of Candidate of Technical Sciences: 05.18.06. – Moscow, 2008. – 27 p. (in Russian)

4. Уварова Е.В., Султанова Ф.Ш. Влагище как микроэкосистема в норме и при воспалительных процессах гениталий различной этиологии // Гинекология: Журнал для практических врачей. – 2002. – № 4. – С. 89–95.

Uvarova E.V., Sultanova F.Sh. Vagina as a microecosystem in normal conditions and at inflammatory processes of genitals of different etiology // Ginekologiya: Zhurnal dlja prakticheskikh vrachej. – 2002. – N 4. – P. 89–95. (in Russian)

5. Gibson G.R., McCartney A.L., Rastall R.A. Prebiotics and resistance to gastrointestinal infections // Br. J. Nutr. – 2005. – Vol. 93, N 1. – P. 31–34.

6. Panesar P.S., Kumari S., Panesar R. Biotechnological approaches for the production of prebiotics and their potential applications // Crit. Rev. Biotech. – 2013. – Vol. 33 (4). – P. 345–364.

7. Swennen K., Courtin C.M., Delcour J.A. Non-digestible oligosaccharides with prebiotic properties // Crit. Rev. Food. Sci. Nutr. – 2006. – Vol. 46. – P. 459–471.

8. Wong J.M., de Souza R., Kendall C.W., Emam A. et al. Colonic health: fermentation and short chain fatty acids // J. Clin. Gastroenterol. – 2006. – Vol. 40. – P. 235–243.

Сведения об авторах

Шабанова Наталья Михайловна – младший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; тел.: 8 (3952) 33-34-41; e-mail: n.m.shabanova@mail.ru)

Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Бухарова Екатерина Владимировна – младший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Попкова София Марковна – доктор биологических наук, старший научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Кочерыгина Елена Владимировна – сотрудник Иркутского государственного университета

Ракова Елена Борисовна – научный сотрудник Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Ефремова Ольга Владимировна – сотрудник Иркутского государственного университета

Лесничая Марина Владимировна – кандидат химических наук, младший научный сотрудник лаборатории непредельных гетероатомных соединений Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН

Кузнецов Сергей Викторович – аспирант, лаборант лаборатории непредельных гетероатомных соединений Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН

Сухов Борис Геннадьевич – кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории непредельных гетероатомных соединений Иркутского института химии им. А.Е. Фаворского СО РАН

Information about the authors

Shabanova Natalya Mikhaylovna – Junior Research Officer of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003; tel.: +7 (3952) 33-34-41; e-mail: n.m.shabanova@mail.ru)

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Bukharova Ekaterina Vladimirovna – Junior Research Officer of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Popkova Sofia Markovna – Doctor of Biological Sciences, Senior Research Officer of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Kocherygina Elena Vladimirovna – officer of Irkutsk State University

Rakova Elena Borisovna – Research Officer of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems

Erofeeva Olga Vladimirovna – officer of Irkutsk State University

Lesnichaya Marina Vladimirovna – Candidate of Chemical Sciences, Junior Research Officer of the Laboratory of Unsaturated Heteroatomic Compounds of A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS

Kuznetsov Sergey Viktorovich – Postgraduate, Research Assistant of the Laboratory of Unsaturated Heteroatomic Compounds of A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS

Sukhov Boris Gennadjevich – Candidate of Chemical Sciences, Leading Research Officer of the Laboratory of Unsaturated Heteroatomic Compounds of A.E. Favorsky Irkutsk Institute of Chemistry SB RAS

КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ И ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА

УДК 615.074

Т.Г. Горностай¹, В.А. Чхенкели², Т.А. Пензина¹, М.С. Полякова¹, Г.Б. Боровский¹

ИЗУЧЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ И АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНО-СПИРТОВЫХ ЭКСТРАКТОВ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ И МИЦЕЛИЯ *INONOTUS RHEADES* (PERS.) BONDARTSEV & SINGER

¹ Сибирский институт физиологии и биохимии растений СО РАН (Иркутск)

² Иркутский филиал Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (Иркутск)

Проведен анализ антиоксидантной и антимикробной активности водно-спиртовых экстрактов плодовых тел и мицелия *Inonotus rheades*. Установлено, что наибольшую антиоксидантную активность проявляют 70%-е водно-спиртовые экстракты из мицелиальной массы *I. rheades*. 30%-е водно-спиртовые экстракты плодовых тел и мицелия обладают антимикробной активностью против ряда микроорганизмов (*Salmonella enteritidis* ИМВЛ, *Enterococcus faecalis* ATCC 29217, *Salmonella* Ngor ИМВЛ, *Streptococcus* spp. 44, *Staphylococcus aureus* ATCC 209p, *Escherichia coli* ATCC 5218, *Escherichia coli* ТИ). Выявлена фунгистатическая активность 30%-х водно-спиртовых экстрактов мицелия против *Saccharomyces cerevisiae*.

Ключевые слова: *Inonotus rheades*, антиоксидантная активность, антимикробная активность, фунгистатическая активность

RESEARCH OF ANTIOXIDANT AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF AQUEOUS ALCOHOLIC EXTRACTS FROM MYCOTHALLUS AND MYCELIUM OF *INONOTUS RHEADES* (PERS.) BONDARTSEV & SINGER

T.G. Gornostay¹, V.A. Chkhenskeli², T.A. Penzina¹, M.S. Polyakova¹, G.B. Borovskiy¹

¹ Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS, Irkutsk

² Irkutsk Branch of Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and Far East, Irkutsk

We analyzed antioxidant and antimicrobial activity of aqueous alcoholic extracts from mycethallus and mycelium of *Inonotus rheades*. It was found that 70% aqueous alcoholic extracts from mycelium of *I. rheades* had the biggest antioxidant activity. 30% aqueous alcoholic extracts from mycethallus and mycelium have antimicrobial activity against the variety of microorganisms (*Salmonella enteritidis* IMVL, *Enterococcus faecalis* ATSS 29217, *Salmonella* Ngor IMVL, *Streptococcus* spp. 44, *Staphylococcus aureus* ATSS 209p, *Escherichia coli* ATSS 5218, *Escherichia coli* TI). We determined fungistatic activity of 30% aqueous alcoholic extracts of mycelium against *Saccharomyces cerevisiae*.

Key words: *Inonotus rheades*, antioxidant activity, antimicrobial activity, fungistatic activity

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время постоянно ведется поиск новых природных соединений, способных нейтрализовать радикальную активность. Высшие базидиомицеты вызывают повышенный интерес многих ученых в качестве продуцентов с широким спектром соединений, обладающих разной биологической активностью [1, 5, 6, 9], в том числе антиоксидантной [10] и антибактериальной [3, 4].

Известно, что гриб *Inonotus obliquus* обладает высокими показателями антиоксидантной и антибактериальной активности [15]. Что касается других представителей рода *Inonotus*, которых только для средних широт Евразии и Северной Америки насчитывается около 20 видов [8, 13], то они все еще остаются малоизученными. Поэтому является актуальным дальнейшее исследование

биологической активности представителей рода *Inonotus*.

Целью данной работы явилось изучение антирадикальной и антимикробной активности водно-спиртовых экстрактов мицелия и плодового тела *I. rheades*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования стал гриб *I. rheades* (Pers.) Bondartsev & Singer. В работе использовали мицелий двух штаммов данного вида (штамм I-1218 из окрестностей г. Иркутска введен в культуру (2012 г.) и штамм № 0186, полученный в лаборатории LE-BIN) из национального парка «Беловерхская пуща» Белоруссии и плодовое тело, собранное в окрестностях г. Иркутска (2013 г.).

Чистую мицелиальную массу получали путем стерильного наращивания на березовых дисках (1 см)

при температуре $23 \pm 1^\circ\text{C}$. Затем мицелий высушивали при температуре 45°C и измельчали.

Водно-спиртовые экстракты 30%-й и 70%-й приготавливали из расчета 20 мг на 1 мл растворителя. Экстракцию проводили на ультразвуковой бане при температуре 40°C в течение 30 минут, оставляли на сутки в холодильнике, после этого фильтровали и центрифугировали в течение 20 минут при $G = 13500$.

Антирадикальную активность экстрактов определяли с применением DPPH-метода на основе 2,2'-дифенил-1-пикрилгидразил радикала [12] и ABTS+-метода, реакция с радикалом 2,2'-азино-бис(3-этил-бензо-тиазолин-6-сульфоновой кислоты) [11].

Антимикробную и фунгистатическую активность 30%-го водно-спиртового экстракта изучали методом диффузии в агар. В качестве тест-культур использовали референтные штаммы микроорганизмов, полученные из ГНИИ стандартизации и контроля медицинских препаратов им Л.А. Тарасевича (г. Москва) из музея ИФ ГНУ ИЭВСиДВ Россельхозакадемии, культуры микроорганизмов, выделенные из патологического материала в ФГБУ «Иркутская межобластная ветеринарная лаборатория», производственный штамм *Saccharomyces cerevisiae*. Микробная нагрузка составляла $1-2 \times 10^7$ КОЕ/мл.

Для изучения антимикробной активности экстрактов пропитывали стерильные стандартные диски фирмы BioMerieux образцами экстрактов, подсушивали их при 40°C в течение 30 мин и помещали на поверхность агара Мюллера – Хинтона, засеянную тест-культурой. Посевы инкубировали при 37°C в течение 24 ч. Посевы культуры *Sacch. Cerevisiae* проводили на среде Сабуро и инкубировали при 30°C в течение 24 ч. Далее определяли зону подавления роста микроорганизмов.

Эксперименты проводили в 3 повторностях. Статистическую обработку результатов экспериментов и оценку достоверности проводили по критерию Стьюдента для уровня вероятности не менее 95 %.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Объективным критерием оценки антирадикальной активности является показатель IC50, который соответствует концентрации антиоксиданта, способного восстановить 50 % радикала.

В нашем эксперименте рассматривалась способность водно-спиртовых экстрактов из плодовых тел и мицелия проявлять антирадикальную активность в отношении катион-радикала ABTS+ и радикала DPPH.

Анализ антирадикальной активности показал, что 30%-й и 70%-й водно-спиртовые экстракты из плодовых тел и мицелия обладают выраженной антирадикальной активностью.

Наибольшим показателем IC50 в реакции с ABTS+ обладает штамм 0186 при экстракции 70%-м и 30%-м водно-спиртовым раствором – $7,74 \pm 0,54$ и $16,4 \pm 0,53$ мкг/мл соответственно (рис. 1).

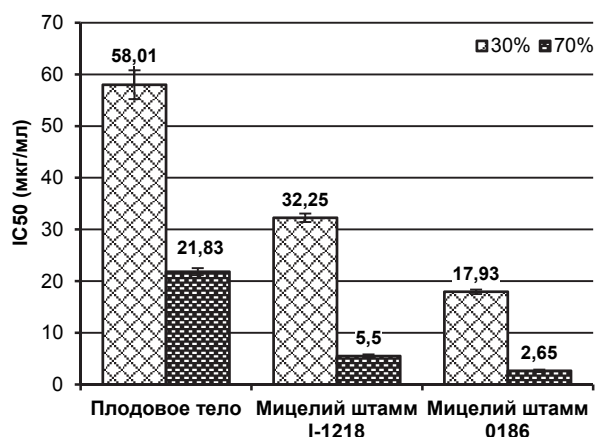


Рис. 1. Антиоксидантная активность водно-спиртовых экстрактов *I. reades* методом ABTS+.

В реакции с DPPH IC50 составляет $2,65 \pm 0,23$ и $17,93 \pm 0,44$ мкг/мл соответственно (рис. 2). Высокой антирадикальной активностью также обладают 70%-й и 30%-й водно-спиртовые экстракты штамма I-1218 в отношении DPPH, IC50 составляет $5,60 \pm 0,32$ и $32,25 \pm 0,81$ мкг/мл соответственно, реакция с ABTS+ проявляет меньшую активность.

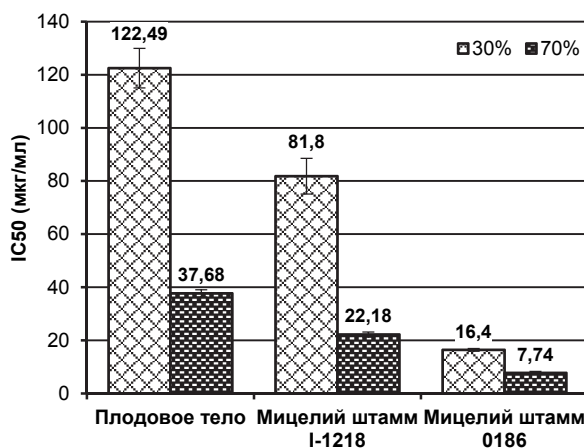


Рис. 2. Антиоксидантная активность водно-спиртовых экстрактов *I. reades* методом DPPH.

Экстракты плодового тела обладают менее выраженным антирадикальным свойством, чем экстракты мицелия, однако показатель IC50 преобладает у некоторых известных источников природных антиоксидантов грибного происхождения [2, 14].

Исследование антимикробной активности мицелия показало, что 30%-й водно-спиртовой экстракт мицелия *I. reades*, штамм 0186 проявляет высокую антимикробную активность в отношении всех рассмотренных тест-культур, в том числе и фунгистатическую активность (табл. 1).

Наибольшая величина зоны подавления роста ($14,3 \pm 0,5$ и $14,2 \pm 0,6$ мм) наблюдалась при действии на бактерии семейства *Enterobacteriaceae* *Salmonella enteritidis* ИМВЛ и *Enterococcus faecalis* ATCC 29217 соответственно. При тех же условиях экстракции пло-

Антимикробная активность 30%-х водно-спиртовых экстрактов *I. rheades*

Тест- культуры	Диаметр зон подавления роста тест-культуры (мм)	
	Мицелий (штамм 0186)	Плодовое тело
<i>Salmonella enteritidis</i> ИМВЛ	14,3 ± 0,5	–
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29217	14,2 ± 0,6	–
<i>Salmonella Ngor</i> ИМВЛ	13,9 ± 0,2	–
<i>Streptococcus spp.</i> 44	9,3 ± 0,4	12,3 ± 0,2
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 209 p	8,6 ± 0,3	12,6 ± 0,2
<i>Escherichia coli</i> ATCC3 5218	8,7 ± 0,2	11,7 ± 0,3
<i>Escherichia coli</i> ТИ	9,3 ± 0,2	12,4 ± 0,3
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12,4 ± 0,4	–
Контроль	–	–

Примечание: «–» – отсутствие зон подавления роста; контроль – диски, пропитанные 30%-й водно-спиртовой смесью.

довое тело показывает избирательную антимикробную активность, но с повышенными значениями, по сравнению с экстрактами мицелия.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, водно-спиртовые экстракты плодовых тел и мицелия *I. rheades* показывают высокую антирадикальную активность. Необходимо отметить, что экстракты мицелия показывают значительно более высокие значения антирадикальной активности, чем экстракты плодового тела, что является важным выводом для биотехнологии.

Также вызывает интерес способность исследуемых экстрактов подавлять патогенную микрофлору и проявлять антимикробную и фунгистатическую активность.

Полученные результаты позволяют обосновать важность и перспективность дальнейшего изучения химического состава экстрактов *I. rheades* и получения метаболитов для новых антимикробных препаратов и препаратов-антиоксидантов.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Гесслер Н.Н., Аверьянов А.А., Белозерская Т.А. Активные формы кислорода в регуляции развития грибов. Обзор // Биохимия. – 2007. – Т. 72, № 10. – С. 1342–1364.

Gessler N.N., Averjanov A.A., Belozerskaya T.A. Reactive oxygen intermediates in the regulation of fungus development. Review // Biohimija. – 2007. – Vol. 72, N 10. – P. 1342–1364. (in Russian)

2. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М., Агафонова С.В. Антиоксидантные компоненты плодовых тел *Laetiporus sulphureus* // Прикладная биохимия и микробиология. – 2011. – Т. 47, № 4. – С. 462–468.

Olennikov D.N., Tankhaeva L.M., Agafonova S.V. Antioxidant components of mycothallus of *Laetiporus sulphureus* // Prikladnaja biohimija i mikrobiologija. – 2011. – Vol. 47, N 4. – P. 462–468. (in Russian)

3. Сидоренко М.Л., Бузолева Л.С. Поиск новых видов сырья для получения антибактериальных

препаратов // Антибиотики и химиотерапия. – 2012. – Вып. 57. – С. 7–10.

Sidorenko M.L., Buzoleva L.S. Search of new species of raw material for antimicrobials // Antibiotiki i himioterapija. – 2012. – Vol. 57. – P. 7–10. (in Russian)

4. Чхенкели В.А. Препараты последнего поколения на основе грибов-ксилотрофов рода *Trametes*: обнаруженные эффекты, механизмы действия и применение. – М.: Перо, 2014. – 255 с.

Chkhenkeli V.A. Preparations of latest-generation based on *Trametes* xylophilic fungus: discovered effects, mechanisms of action and using. – Moscow: Pero, 2014. – 255 p. (in Russian)

5. Шариков А.М., Пашенова М.В., Манчук В.Т. Изучение антибиотической активности метаболитов гриба *Inonotus obliquus* Pilat в отношении штамма *Mycobacterium smegmatis* // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 1 (77). – С. 252–254.

Sharikov A.M., Pashenova M.V., Manchuk V.T. Studying antibiotic activity of metabolites of *Inonotus obliquus* Pilat towards *Mycobacterium smegmatis* strain // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2011. – N 1 (77). – P. 252–254. (in Russian)

6. Шиврина А.Н. Биологически активные вещества высших грибов. – М. – Л.: Наука, 1985. – 200 с.

Shivrina A.V. Biologically active substances of higher fungi. – Moscow – Leningrad: Nauka, 1985. – 200 p. (in Russian)

7. De Silva D. et al. Medicinal mushroom in supportive cancer therapies: an approach to anti-cancer effects and putative mechanisms of action // Mushroom Research Foundation. – 2012. – Vol. 55. – P. 1–35.

8. Gilbertson R.L., Ryvarden L. North American Polypores. Abortiporus – Lindtneria. – Oslo: Fungiflora, 1986. – Vol. 1. – 433 p. – Megasporeporia – Thelephora. – 1987. – Vol. 2. – P. 434–885.

9. Kahlous K. *Inonotus obliquus* (Chaga Fungus) in vitro culture and the production of inotodiol, sterols, and other secondary metabolites // Biotechnology in Agriculture and Forestry. – 1994. – Vol. 26. – P. 179–198.

10. Kamra A., Bhatt A.B. Evaluation of antimicrobial and antioxidant activity of *Ganoderma Lucidum* extracts

against human pathogenic bacteria // International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. – 2012. – Vol. 4, Iss. 2. – P. 359–362.

11. Kim D.O. et al. Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals // J. Agric. Food Chem. – 2002. – Vol. 50, Iss. 13. – P. 3713–3717.

12. Preto P., Pineda M., Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E // Analytical Biochemistry. – 1999. – Vol. 269. – P. 337–341.

13. Ryvarden L., Gilbertson R.L. European Polypores. Abortiporus – Lindtneria. – Oslo: Fungiflora, 1993. – Vol. 1. – 387 p. – Meripilus – Tyromyces. – 1994. – Vol. 2. – P. 388–743.

14. Vukosavljevic P. et al. Antioxidant activities of herbs, fruit and medicinal mushroom *Ganoderma lucidum* extracts produced by microfilm tration process // Journal of Agricultural Sciences. 2009. – V. 54. N. 1. – P. 44–61

15. Zheng W. et al. Production of antioxidant and antitumor metabolites by submerged cultures of *Inonotus obliquus* cocultured with *Phellinus punctatus* // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2011. – Vol. 89. – P. 157–167.

Сведения об авторах

Горноста́й Татьяна Геннадьевна – аспирант, ведущий инженер Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (664033, г. Иркутск, ул. Лермонтова, 132; e-mail: T.G.Gornostay@yandex.ru)

Чхенке́ли Вера Александровна – член-корр. РАН, заместитель директора Иркутского филиала Института экспериментальной ветеринарии Сибири и Дальнего Востока (664005, г. Иркутск, ул. Боткина, 4; e-mail: chkhkenkeli@rambler.ru)

Поляко́ва Марина Станиславовна – ведущий инженер Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (e-mail: poljakova.m@gmail.com)

Пензи́на Татьяна Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (e-mail: penzina@sifibr.irk.ru)

Боровский Геннадий Борисович – доктор биологических наук, профессор, главный научный сотрудник Сибирского института физиологии и биохимии растений СО РАН (e-mail: borovskii@sifibr.irk.ru)

Information about the authors

Gornostay Tatyana Gennadjevna – Postgraduate, Senior Engineer of Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (Lermontov str., 132, Irkutsk, 664033; e-mail: T.G.Gornostay@yandex.ru)

Chkhkenkeli Vera Aleksandrovna – Corresponding Member of RAS, Deputy Director of Irkutsk Branch of Institute of Experimental Veterinary Medicine of Siberia and Far East (Botkina str., 4, Irkutsk, 664005; e-mail: chkhkenkeli@rambler.ru)

Polyakova Marina Stanislavovna – Senior Engineer of Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (e-mail: poljakova.m@gmail.com)

Penzina Tatyana Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (e-mail: penzina@sifibr.irk.ru)

Borovskiy Gennadiy Borisovich – Doctor of Biological Sciences, Professor, Chief Research Officer of Siberian Institute of Plant Physiology and Biochemistry SB RAS (e-mail: borovskii@sifibr.irk.ru)

УДК 616.1/.4

Т.Е. Променашева, Л.С. Колесниченко, Н.М. Козлова

РОЛЬ ОКСИДАТИВНОГО СТРЕССА И СИСТЕМЫ ГЛУТАТИОНА В ПАТОГЕНЕЗЕ НЕАЛКОГОЛЬНОЙ ЖИРОВОЙ БОЛЕЗНИ ПЕЧЕНИ

Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

За последние годы неалкогольная жировая болезнь печени (НЖБП) трансформировалась из редко встречаемой нозологической формы в распространенное заболевание наряду с алкогольной болезнью печени и вирусными гепатитами. Во всем мире отмечается рост числа пациентов с подобным диагнозом. Несмотря на это, дискуссионным остается вопрос патогенеза неалкогольной жировой болезни печени. Оксидативному стрессу отводится главная роль в развитии гепатита на фоне жировой дистрофии печени. Система глутатиона является основным защитником клеток от оксидативного стресса, что может быть использовано в формировании новых подходов к лечению неалкогольной жировой болезни печени.

Ключевые слова: неалкогольная жировая болезнь печени, стеатоз печени, стеатогепатит, оксидативный стресс, глутатион

ROLE OF OXIDATIVE STRESS AND GLUTATHIONE SYSTEM IN THE PATHOGENESIS OF NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

T.E. Promenasheva, L.S. Kolesnichenko, N.M. Kozlova

Irkutsk State Medical University, Irkutsk

In recent years nonalcoholic fatty liver disease transformed from uncommon clinical entity into common ailment along with alcoholic liver disease and viral hepatitis. Increase in the number of patients with nonalcoholic fatty liver disease is registered all over the world. Nevertheless the problem of pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease is still discussable. Oxidative stress is of first importance in the development of hepatitis on the background of hepatic steatosis. Glutathione system is the main defender of cells from oxidative stress that can be used in the formation of new approaches to the treatment of nonalcoholic fatty liver disease.

Key words: nonalcoholic fatty liver disease, hepatic steatosis, steatohepatitis, oxidative stress, glutathione

ВВЕДЕНИЕ

В связи с эпидемией ожирения во всем мире отмечается рост числа пациентов с неалкогольной жировой болезнью печени (НЖБП). В европейских странах неалкогольный стеатогепатит (НАСГ) диагностируют почти у 11 % пациентов путем проведения биопсии печени в связи с повышением активности трансаминаз. Распространенность НАСГ составляет 19 % при повышении массы тела, при нормальной массе – 2,7 % [7, 20]. Чаще болеют женщины в возрасте 50 лет, соотношение мужчин и женщин составляет 1 : 3 [6]. Неалкогольный стеатогепатит в ближайшие десятилетия будет являться основной причиной заболеваний печени [25].

СИСТЕМА АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ В НОРМЕ И ПРИ НЖБП

В норме антиоксидантная система нашего организма представлена различными ферментами и низкомолекулярными антиоксидантами. Активные формы кислорода постоянно образуются в аэробных условиях при различных метаболических реакциях, но баланс в живых организмах обеспечивается за счет их дезактивации антиоксидантами [4]. В случае сбоя в работе этих систем происходит накопление окисленных форм и развивается окислительный стресс – одна из главных причин формирования многих патологических процессов в организме, в том числе НЖБП.

Выделяют несколько основных активных форм кислорода:

- супероксидный анион-радикал ($O_2^{\cdot-}$);
- перекись водорода (H_2O_2) и органические перекиси ($ROOH$);
- гидроксильные и пероксильные радикалы ($HO\cdot$, $HO_2\cdot$, $RO_2\cdot$);
- синглетные формы кислорода (1O_2) и ионы HO_2^- [5, 9].

Те активные формы кислорода, которые имеют неспаренный электрон на внешней орбитали, обладают повышенной реакционной способностью. Несмотря на то, что большинство свободных радикалов являются цитотоксическими, они играют важную роль в функционировании нейтрофилов и макрофагов, синтезе эйкозаноидов, редокс-регуляции экспрессии генов, процессах метаболизма, воспаления и иммунитета.

Одним из мощнейших поставщиков свободных радикалов являются гепатоциты, а также лейкоциты и тромбоциты [3]. Чрезмерная активация реакций перекисного окисления провоцирует развитие многих патологических процессов (НЖБП, сахарный диабет, нарушение мозгового кровообращения, заболевания опорно-двигательной системы, болезни Паркинсона и Альцгеймера и многие другие).

Основным провоцирующим фактором в развитии окислительного стресса является нарушение

баланса между антиоксидантной и прооксидантной системами. Первоначально активация активных форм кислорода при различных патологических состояниях уникальна в каждом отдельном случае, но в дальнейшем процессы окислительного стресса теряют свою специфичность и становятся унифицированными для всех состояний. Свободные радикалы играют большую роль в повреждении организма, начиная от молекул и заканчивая органами и тканями в целом. Во время свободнорадикального окисления появляются биологические молекулы – маркеры окислительного стресса.

Основным защитником организма от бесконтрольного увеличения свободных радикалов и подавления окисления липидов является система глутатиона, которая включает в себя глутатион и ферменты его метаболизма: каталазу, глутатионредуктазу (ГР), глутатионтрансферазу (ГТ), глутатионпероксидазу (ГПО). Данная система защищает в естественных условиях по следующим направлениям:

- супероксиддисмутаза восстанавливает супероксид;
- ГПО и каталаза восстанавливают H_2O_2 ;
- ГПО и ГТ восстанавливают органические гидропероксиды ($ROOH$) свободных жирных кислот, нуклеотидов, нуклеиновых кислот;
- ГТ, глиоксалаза и формальдегиддегидрогеназа обезвреживают вторичные продукты пероксидации и другие окисленные соединения.

Таким образом, система глутатиона является основной антиоксидантной системой организма в целом.

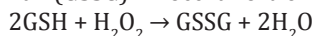
СИСТЕМА ГЛУТАТИОНА. ГЛУТАТИОН

Глутатион (GSH) (гамма-глутамил-цистеинил-глицин) – трипептид, состоящий из глутаминовой кислоты, цистеина, глицина. Глутатион является важным восстановителем клетки, так как не только защищает клетку от свободных радикалов, но и определяет редокс-статус внутриклеточной среды в целом [23].

В клетке основная масса GSH находится в цитозоле [2], в митохондриях – 9–15 % [18]. Глутатион выполняет ряд фундаментальных функций [17]:

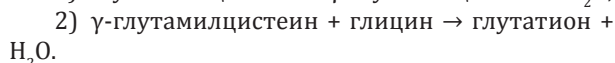
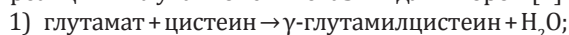
- 1) является антиоксидантом;
- 2) поддерживает в восстановленном состоянии SH ферментов других белков и мембран;
- 3) участвует в редокс-регуляции;
- 4) участвует в биосинтезе ДНК, пролиферации;
- 5) участвует в синтезе лейкотриенов;
- 6) участвует в обмене простагландинов;
- 7) участвует в метаболизме ксенобиотиков;
- 8) повышает резистентность клеток к негативным воздействиям;
- 9) связывает тяжелые металлы;
- 10) содержит резерв цистеина.

Глутатион присутствует в организме в двух формах: окисленная ($GSSG$) и восстановленная (GSH).



Именно в восстановленной форме глутатион оказывает свою основную защитную функцию за счет группы SH. Концентрация восстановленного глутатиона в норме в 20–100 раз выше, чем окисленного [11, 21].

Большая часть глутатиона (около 90 %) синтезируется в печени и далее транспортируется в другие органы и ткани [10]. При ингибировании синтеза глутатиона в печени и организме в целом уменьшается концентрация глутатиона в плазме крови. В печени обнаружено наличие двух пулов глутатиона – лабильного и стабильного. Синтезируется GSH в две стадии с участием гамма-глутамилцистеин синтетазы для первой реакции и глутатионсинтетазы – для второй [2].



Обе реакции осуществляются при участии АТФ и ионов Mg^{++} .

Доступность цистеина в печени зависит от присутствия его в пище, степени активности переноса трех аминокислот через мембраны и нормального функционирования цистатионинового пути [18]. В случае подавления транспорта цистеина в клетку происходит снижение концентрации глутатиона в клетке [14].

Вторым важным источником GSH является ГР, которая восстанавливает $GSSG$ с участием НАДФН + H^+ .



С помощью этой реакции поддерживается высокий внутриклеточный уровень $GSH/GSSG$. ГР является ключевым ферментом поддержания тиолового редокс-статуса клетки [2].

Изменения в организме на клеточном уровне, приводящие к нарушению синтеза глутатиона, вызывают ряд серьезных заболеваний и патологических состояний: атеросклероз, сахарный диабет, неалкогольная жировая болезнь печени, инфаркт миокарда, болезни нервной системы [15, 19].

Срыв физиологической антиоксидантной системы характеризуется нарушением в работе ферментов и накоплением продуктов перекисного окисления липидов в клетке и органах [1].

Патогенез стеатоза печени и неалкогольного стеатогепатита недостаточно изучен. Принято считать, что стеатоз печени является ступенью, предшествующей развитию стеатогепатита. Существующая модель патогенеза НАСГ – теория «двух ударов» – объединяет известные факторы риска стеатогепатита. При нарастании ожирения увеличивается поступление в печень свободных жирных кислот (СЖК) и развивается стеатоз печени – теория «первичного удара». Во время этого процесса происходят реакции окисления СЖК и образуются продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ) и реактивные формы кислорода (РФК) – оксидативный стресс – теория «второго удара» [8].

Роль оксидативного стресса в патогенезе неалкогольного стеатогепатита была рассмотрена А.Р. Rolo, J.S. Teodoro, С.М. Palmeira [22]. Накопление липидов в гепатоцитах уменьшает работу электронотранспортной цепи митохондрий и стимулирует пероксисомальный и микросомальный пути оксидации при ожирении.

Оксидативный стресс также является провокатором выделения воспалительных цитокинов и, как следствие, развития воспаления и процессов фиброза [22]. Результаты этого исследования позволяют подтвердить известное мнение о том, что неалкогольный

стеатогепатит может быть результатом финальной стадии болезни печени.

S. Uysal et al. [24] были изучены уровень воспалительных цитокинов, метаболизм железа и маркеры оксидативного стресса у пациентов с неалкогольным стеатогепатитом. Было показано, что железо, депонированное в печени, оксидативный стресс и воспалительные цитокины взаимосвязаны. Поэтому уровень ферритина сыворотки крови, малоновый диальдегид, интерлейкины 6 и 8, туморнекротизирующий фактор альфа могут являться индикаторами активности и прогрессирования неалкогольного стеатогепатита.

В настоящее время существуют убедительные доказательства о вовлечении системы глутатиона в реакции воспаления и иммунного ответа. Глутатион реализует свои защитные функции, в том числе защиту клеток от оксидативного стресса, через восстановленную форму. В последние 10–15 лет получено много новых данных, относящихся к системе глутатиона в эритроцитах и сыворотке крови. Была обнаружена серия новых ферментов, вовлеченных в метаболизм глутатиона. Система глутатиона исследуется в патогенезе различных заболеваний и в ближайшее время может быть потенциально использована в клинической практике [17].

R.N. Hardwick et al. [12] изучили многообразие реакций ферментов антиоксидантной системы (хинон-оксидоредуктаза (NQO1), глутатионтрансфераза (GST) и глутамат-цистеинлигаза) при прогрессировании НЖБП. Было предположено, что активация Nrf2 происходит в ответ на прогрессирование заболевания вследствие индукции специфических Nrf2-мишеней, в то время как функционирование различных специфических антиоксидантных ферментов ослабляется с прогрессированием НЖБП. Уровень мРНК глутатионтрансферазы (изоформы A1, A2, A4, M3, P1) увеличивается с прогрессированием НЖБП. Активность изоферментов A и P глутатионтрансферазы увеличивается с прогрессированием заболевания, тогда как активность глутатионтрансферазы M имеет тенденцию к снижению. Таким образом, разные изоферменты ГТ по-разному изменяются при прогрессировании НЖБП. Синтез глутатиона не связан с прогрессированием НЖБП, в то же время восстановленный глутатион, окислительно-восстановительный коэффициент связан с тяжестью заболевания, определяет наличие окислительного стресса и снижение глутатиона по мере прогрессирования НЖБП. Концентрация малонового диальдегида повышалась по мере прогрессирования заболевания [12].

Исследователями из Ирана M. Hashemi, E. Eskandari-Nasab и A. Fazaeli [13] изучена взаимосвязь генного полиморфизма глутатион-S-трансферазы (GSTM1, GSTT1, GSTRP1) и НЖБП. Было показано, что генный полиморфизм GSTM1 и GSTRP1 взаимосвязан с НЖБП и может быть использован для определения риска развития НЖБП. Взаимосвязи GSTT1 с НЖБП выявлено не было.

Изучался профиль плазмы при стеатозе и стеатогепатите с использованием крупного метаболического анализа, для того чтобы определить специфические маркеры заболевания и выявить потенциальные биомаркеры [16]. Метаболический анализ плазмы

обнаружил изменения солей желчи и биохимических показателей, связанных с глутатионом, у пациентов с НЖБП. А именно анализ показал заметное повышение уровня гликохолата (соль или эфир гликохолевой кислоты), таурохолат и гликогенодиоксидохолата у пациентов с НЖБП. Концентрация длинноцепочечных жирных кислот при неалкогольном стеатогепатите была ниже, концентрация свободного карнитина, бутирилкарнитина и метилбутирилкарнитина – выше. Некоторые глутамилдипептиды повышались, в то время как цистеин-глутатион снижался при НСГ и стеатозе. Другие изменения включали в себя повышение цепи АК, фосфохолина, углеводов (глюкоза, манноза), лактат, пируват и некоторые неизвестные метаболиты. Статистический анализ определил панель биомаркеров, значимых для людей с НЖБП. Эти биомаркеры потенциально могут использоваться для того, чтобы отследить ответ на терапевтическое вмешательство.

Несмотря на большое количество исследований, проведенных в этой области, вопрос о патогенезе неалкогольной жировой болезни печени остается недостаточно изученным. Учитывая высокую распространенность данного заболевания и возможные осложнения, необходимо углубленное изучение процессов патогенеза с целью совершенствования тактики лечения неалкогольной жировой болезни печени.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Балаболкин М.И., Креминская В.М., Клебанова Е.М. Роль дисфункции эндотелия и окислительного стресса в механизмах развития ангиопатий при сахарном диабете 2-го типа // Кардиология. – 2004. – № 7. – С. 90–97.
2. Balabolkin M.I., Kreminskaya V.M., Klebanova E.M. Role of endothelium dysfunction and oxidative stress in the mechanisms of development of angiopathy at diabetes mellitus II // Kardiologija. – 2004. – N 7. – P. 90–97. (in Russian)
3. Кулинский В.И., Колесниченко Л.С. Обмен глутатиона // Успехи биологической химии. – 1990. – Т. 31. – С. 157–179.
4. Kulinskiy V.I., Kolesnichenko L.S. Glutathione metabolism // Uspehi biologicheskoy himii. – 1990. – Vol. 31. – P. 157–179. (in Russian)
5. Ланкин В.З., Бондарь Т.Н., Тихазе А.К. Влияние свободных жирных кислот на липопероксидазную активность антиоксидантных ферментов – Se-содержащей глутатионпероксидазы и неселеновой глутатион-S-трансферазы // Докл. АН СССР. – 1997. – Т. 357, № 5. – С. 828–831.
6. Lankin V.Z., Bondar T.N., Tikhadze A.K. Influence of free fatty acids on lipid peroxidation activity of antioxidant enzymes – Se-containing glutathione peroxidase and non-selenic glutathione S-transferase // Dokl. AN SSSR. – 1997. – Vol. 357, N 5. – P. 828–831. (in Russian)
7. Меньшикова Е.Б., Зенков Н.К., Сафина А.Ф. Окислительный стресс при ишемическом и реперфузионном повреждении миокарда // Успехи современной биол. – 2006. – Т. 117, № 3. – С. 362–373.
8. Menshikova E.B., Zenkov N.K., Safina A.F. Oxidative stress at ischemic and reperfusion myocardial injury

// *Uspehi sovrem. biol.* – 2006. – Vol. 117, N 3. – P. 362–373. (in Russian)

5. Николаев С.М., Шантанова Л.Н., Мондодоев А.Г. Свободнорадикальное окисление и скрининг антиоксидантов, адаптогенов с использованием биотест-систем // *Бюл. ВСНЦ СО РАМН.* – 2010. – № 2. – С. 196–200.

Nikolaev S.M., Shantanova L.N., Mondodoev A.G. Lipid peroxidation and screening of antioxidants, adaptogens using biotest-systems // *Bjul. VSNC SO RAMN.* – 2010. – N 2. – P. 196–200. (in Russian)

6. Павлов Ч., Бакулин И. Неалкогольный стеатогепатит: клинические перспективы и принципы лечения // *Врач.* – 2007. – № 10. – С. 24–28.

Pavlov Ch., Bakulin I. Nonalcoholic steatohepatitis: clinical prospects and principles of treatment // *Vrach.* – 2007. – N 10. – P. 24–28. (in Russian)

7. Скрипник И.М., Мельник Т.В., Потяженко М.М. Клінічна гепатологія. – Полтава: Дивосвіт, 2007. – 425 с. Skripnik I.M., Melnik T.V., Potyazhenko M.M. Clinical hepatology. – Poltava: Divosvit, 2007. – 425 p. (in Russian)

8. Хазанов А.И. Возможности прогрессирования алкогольного и неалкогольного стеатогепатита в цирроз печени // *Рос. журн. гастроэнтерол., гепатол. и колопроктологии.* – 2005. – Т. 15, № 2. – С. 26–32.

Khazanov A.I. Opportunities of transformation of alcoholic and nonalcoholic steatohepatitis into hepatic cirrhosis // *Ros. zhurn. gastrojenterol., gepatol. i koloproktologii.* – 2005. – Vol. 15, N 2. – P. 26–32. (in Russian)

9. Cadenas E., Davies K.J. Mitochondrial free radical generation, oxidative stress, and aging // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – Vol. 29, N 3–4. – P. 222–230.

10. Chen Y., Yang Y., Miller M.L. Hepatocyte-specific Gclc deletion leads to rapid onset of steatosis with mitochondrial injury and liver failure // *Hepatology.* – 2007. – Vol. 45, N 5. – P. 1118–1128.

11. Comhair S.A., Erzurum S.C. The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase // *Antioxid. Redox. Signal.* – 2005. – Vol. 7, N 1–2. – P. 72–79.

12. Hardwick R.N., Fisher C.D., Canet M.J., Lake A.D. et al. Diversity in antioxidant response enzymes in progressive stages of human nonalcoholic fatty liver disease // *Drug Metab. Dispos.* – 2010. – Vol. 38, N 12. – P. 301–2293.

13. Hashemi M., Eskandari-Nasab E. Fazaeli A., Bahari A. et al. Association of genetic polymorphisms of glutathione-S-transferase genes (GSTT1, GSTM1 and GSTP1) and susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease in Zahedan, Southeast Iran // *DNA Cell Biol.* – 2012. – Vol. 31, N 5. – P. 7–672.

14. Higuchi Y. Chromosomal DNA fragmentation in apoptosis and necrosis induced by oxidative stress // *Biochem. Pharmacol.* – 2003. – Vol. 8, N 66. – P. 1527–1535.

15. Huang Z.Z. et al. Mechanism and significance of increased glutathione level in human hepatocellular carcinoma and liver regeneration // *FASEB J.* – 2001. – Vol. 15, N 1. – P. 19–21.

16. Kalhan S.C., Guo L., Edmison J., Dasarathy S. et al. Plasma metabolomic profile in non-alcoholic fatty liver disease // *Metabolism.* – 2011. – Vol. 60, N 3. – P. 404–413.

17. Kulinsky V.I., Kolesnichenko L.S. The glutathione system. II. Other enzymes, thiol-disulfide metabolism, inflammation and immunity, functions // *Biochemistry (Moscow) Supplement Series Biomedical Chemistry.* – 2009. – Vol. 3, N 3. – P. 211–220.

18. Lu S.C. Regulation of hepatic glutathione synthesis: currents and controversies // *Faseb. J.* – 1999. – Vol. 13. – P. 1169–1181.

19. Montironi R. et al. Expression of pi-class glutathione S-transferase: two populations of high grade prostatic intraepithelial neoplasia with different relations to carcinoma // *Mol. Pathol.* – 2000. – Vol. 53, N 3. – P. 122–128.

20. Pinto H.C., Baptista A., Camilo M.E. Nonalcoholic steatohepatitis: clinico-pathological comparison with alcoholic hepatitis in ambulatory and hospitalized patients // *Dig. Dis. Sci.* – 2006. – Vol. 41. – P. 172–179.

21. Rahman I., Adcock I.M. Oxidative stress and redox regulation of lung inflammation in COPD // *Eur. Respir. J.* – 2006. – Vol. 28, N 1. – P. 219–242.

22. Rolo A.P., Teodoro J.S., Palmeira C.M. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis // *Free Radic. Biol. Med.* – 2012. – Vol. 1, N 1. – P. 59–69.

23. Struznka L., Chalimoniuk M., Sulkowski G. The role of astroglia in Pb-exposed adult rat brain with respect to glutamate toxicity // *Toxicology.* – 2005. – Vol. 212, N 2–3. – P. 185–194.

24. Uysal S., Armutcu F., Aydogan T., Akin K. et al. Some inflammatory cytokine levels, iron metabolism and oxidant stress markers in subjects with nonalcoholic steatohepatitis // *Clin. Biochem.* – 2011. – Vol. 44, N 17–18. – P. 9–1375.

25. Vernon G., Baranova A., Younossi Z.M. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults // *Aliment. Pharmacol. Ther.* – 2011. – Vol. 34, N 3. – P. 85–274.

Сведения об авторах

Променашева Татьяна Евгеньевна – аспирант кафедры факультетской терапии Иркутского государственного медицинского университета (664003, г. Иркутск, ул. Красного Восстания, 1; e-mail: t.promenasheva@mail.ru)

Колесниченко Лариса Станиславовна – доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры химии и биохимии Иркутского государственного медицинского университета

Козлова Наталия Михайловна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой факультетской терапии Иркутского государственного медицинского университета 664003,

Information about the authors

Promenasheva Tatyana Evgenjevna – Postgraduate of the Department of Intermediate Level Therapy of Irkutsk State Medical University (Krasnogo Vosstaniya str., 1, Irkutsk, 664003; e-mail: t.promenasheva@mail.ru)

Kolesnichenko Larisa Stanislavovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Professor of the Department of Chemistry and Biochemistry of Irkutsk State Medical University

Kozlova Natalya Mikhaylovna – Doctor of Medical Sciences, Professor, Head of the Department of Intermediate Level Therapy of Irkutsk State Medical University

Н.В. Семёнова

ГОРМОНАЛЬНО-МЕТАБОЛИЧЕСКИЙ ПРОФИЛЬ У ЖЕНЩИН С ИНСОМНИЧЕСКИМИ РАССТРОЙСТВАМИ В МЕНОПАУЗЕ*Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)*

С наступлением менопаузы 25–54 % женщин отмечают те или иные проблемы, связанные со сном, что значительно снижает качество жизни. Целью обзора явился анализ данных литературы относительно гормонально-метаболического профиля женщин в климактерическом периоде с нарушениями сна. Показано, что у женщин с инсомническими расстройствами нарушена работа серотонинергических мозговых систем, изменена выработка мелатонина и активность свободно-радикального окисления липидов, что может приводить к формированию различных заболеваний.

Ключевые слова: инсомния, менопауза, мелатонин, окислительный стресс

HORMONAL-METABOLIC PROFILE IN MENOPAUSAL WOMEN WITH INSOMNIA

N.V. Semyonova

Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

25–54 % of menopausal women have sleep problems that significantly reduces the quality of life. The aim of the review was to analyze the literature about the hormonal-metabolic profile of menopausal women with sleep disorders. It was shown that brain serotonergic systems are disrupted, melatonin production and activity of free-radical oxidation of lipids are altered in women with insomnia. This may lead to the development of different diseases.

Key words: insomnia, menopause, melatonin, oxidative stress

Каждый человек около трети своей жизни проводит во сне, полноценность которого определяет общий уровень здоровья и качества жизни, измеряемые в показателях социального, психического, эмоционального и физического благополучия.

Одной из наиболее распространенных проблем, связанных со сном, являются инсомнические расстройства. Международная классификация расстройств сна дает определение инсомнии как повторяющихся нарушений инициации, продолжительности, консолидации и качества сна, случающихся, несмотря на наличие достаточного количества времени и условий для сна, и проявляющихся нарушениями дневной деятельности различного вида [19]. Отдельные симптомы инсомнии встречаются у 18–50 % людей, сочетание симптомов нарушений сна и проявлений дневных нарушений и дистресса – у 10–15 % в общей популяции. Суммарная распространенность специфических нозологических форм инсомнии оценивается в 5–10 %. При использовании наиболее строгого критерия диагностики, взятого из классификации психических расстройств DSM-IV, распространенность инсомнии составила 6 % [46]. Эпидемиологические исследования показали, что женщины чаще страдают инсомнией, чем мужчины [30, 50]. Данный факт отмечается с периода menarche, и в дальнейшем гендерные различия в частоте нарушений сна становятся все более значимыми [40].

Особенно часто расстройства сна встречаются у женщин в критические периоды их жизни, одним из которых является климактерий, в течение которого на фоне возрастных изменений в организме доминируют инволюционные процессы в репродуктивной системе, характеризующиеся постепенным снижением и «выключением» функции яичников:

сначала репродуктивной, а затем и гормональной, что проявляется прекращением фертильности и менструации. С наступлением менопаузы 25–54 % женщин отмечают те или иные проблемы, связанные со сном, по сравнению с 15 % женщин фертильного возраста [23]. Британскими учеными выявлено, что женщины, вступившие в период менопаузы, в 3,4 раза чаще предъявляют жалобы на нарушение сна, чем женщины в пременопаузе [31]. В проспективном крупномасштабном исследовании по инсомнии, проведенном учеными Медицинского университета г. Лейпцига (США) среди лиц в возрасте от 47 до 69 лет, было доказано, что основным симптомом инсомнии у женщин в постменопаузе (физиологической или хирургической) является затрудненное засыпание [42].

Причины инсомнии многообразны: стресс (психологические инсомнии), неврозы, психические заболевания (шизофрения, маниакально-депрессивный психоз и т. д.), соматические заболевания (например, бронхиальная астма, атопический дерматит, гастроэзофагеальнорефлюксная болезнь), прием психотропных (в т. ч. снотворных) препаратов, алкоголь, токсические факторы, эндокринно-обменные заболевания, органические заболевания головного мозга (инсульт, паркинсонизм, гиперкинетические синдромы, эпилепсия, опухоли мозга и др.), болевые феномены, синдромы, возникающие во сне (синдром обструктивного апноэ сна, двигательные нарушения во сне), внешние неблагоприятные условия (шум, влажность и т. п.), сменная работа, перемена часовых поясов, нарушение гигиены сна [12].

Особое место среди факторов, вызывающих инсомнию, принадлежит депрессии [39]. Ключевую роль в патогенезе депрессии играет нарушение в работе

серотонинергических мозговых систем. Депрессия может быть вызвана недостатком серотонина в мозге, его недостатком в рецепторных участках, невозможностью серотонина достигать рецепторных участков, а также пониженным уровнем триптофана, участвующего в синтезе серотонина. Депрессия является не только одной из наиболее частых причин инсомнии, но и одной из немногих, имеющих определенные полисомнографические корреляты. К ним относятся укорочение латентного периода первого эпизода ФБС (с 90 до ~ 44 мин), снижение длительности дельта-сна в I цикле сна и в «альфа-дельта» сне и раннее преждевременное пробуждение. В головном мозге женщин содержится меньше серотонина, чем в головном мозге мужчин. Показано уменьшение функциональной активности серотониновых рецепторов 5-HT₂ во фронтальной, париетальной, темпоральной и цингулярной коре у женщин. Эти факты заслуживают особого внимания, учитывая определяющую роль дисфункции серотонина при депрессии. В формировании у женщин депрессивных расстройств большую роль играют особенности их гормонального статуса. Половые гормоны играют определяющую роль в половом деморфизме головного мозга [24]. Известна нейропротективная роль женских половых гормонов, в частности их антиоксидантные и мембраностабилизирующие функции. Значительно влияние эстрогенов на синтез и метаболизм всех моноаминов, в наибольшей степени серотонина. Женские половые гормоны участвуют в созревании многих мозговых функций, включая настроение, моторный контроль, боль, когнитивные процессы. Эстрогены во многом определяют особенности женского характера и специфику эмоционально-аффективных реакций, реагирование на стрессорные события. Важнейшее значение половых гормонов в патогенезе депрессий у женщин ярко демонстрируют депрессии, связанные с репродуктивным циклом женщин [20].

Непосредственное влияние изменения гормонального баланса на сон женщины подтверждается результатами исследования P.J. Murphy и S.S. Campbell (2007), которые показали, что у женщин в менопаузе более низкое качество сна ассоциировано со снижением уровня эстрадиола и повышением лютеинизирующего гормона [38]. Роль нарушения вегетативной регуляции у женщин климактерического периода в генезе симптомов инсомнии подтверждается положительным эффектом заместительной гормональной терапии на процесс поддержания сна, его продолжительность и эффективность [49].

Известно, что периодическое чередование естественного сна и бодрствования относится к циркадным ритмам и во многом определяется суточным изменением освещенности. Одним из основных регуляторов циркадных биоритмов является мелатонин, и нарушение его секреции приводит к изменению метаболических процессов и формированию различных заболеваний [3, 22, 41, 47]. Многими исследователями показано, что уровень эндогенного мелатонина снижается с возрастом, при этом не только падает секреция данного гормона, но и меняется и кривая выработки, в самом эпифизе отмечаются грубые

морфологические изменения с гибелью и перерождением клеточных элементов [1, 2, 4, 8]. Очевидно, что возрастная динамика мелатонина носит в основном адаптивный характер: ведь по мере ослабления выброса гормонов гипофизом и угасания деятельности периферических эндокринных желез потребность в их периодическом ночном торможении снижается и может вовсе исчезнуть. Показано наличие в эпифизе рецепторов половых стероидов. Значит, эпифиз действительно получает обратную информацию о циркулирующих в крови гормонах. Десинхронизация циркадной деятельности эпифиза и возрастное снижение мелатонина у женщин сигнализируют о расстройстве пинеального и гипофизарного контроля над яичниковой цикличностью и прогрессивном угасании фертильной функции женщины [46]. По данным американских ученых, мелатонин и эстрогены действуют по принципу обратной связи [23]. Установлено, что мелатонин оказывает подавляющее действие непосредственно на гипофиз, уменьшая освобождение ЛГ и ФСГ [5].

Результаты исследования, проведенного Л.И. Мальцевой с соавт. (2011), показали снижение уровня мелатонина у подавляющего большинства женщин в менопаузе, степень которого зависела от тяжести климактерического синдрома. Однако исследователями установлено, что изменения секреции мелатонина в перименопаузальный период носят неоднозначный характер. У 13 % обследуемых женщин имел место высокий уровень мелатонина [14].

Взаимосвязь измененной секреции мелатонина и нарушений сна показана во многих исследованиях [2, 6, 36, 41, 28]. Так, показано, что у женщин климактерического периода инсомния сопровождается снижением уровня мелатонина в сыворотке крови [28]. По данным других авторов, сочетание климактерического синдрома с нарушениями сна сопровождается повышением экскреции 6-сульфатоксимелатонина с мочой у пациенток среднего возраста. У пациенток пожилого возраста повышение уровня его экскреции связано с нарушениями сна и не зависит от наличия климактерического синдрома [2]. В исследовании О.П. Заводнова с соавт. (2012) выявлены особенности мелатонинового обмена в зависимости от хронофизиологического типа женщин в перименопаузе. При этом у женщин с хронотипом «жаворонки» зарегистрированы наиболее высокие показатели мелатонина сульфата в суточной моче; наиболее низкие показатели – у «сов» [3]. Исследованиями НЦ ПЗСРЧ СО РАМН показано изменение циркадной ритмики секреции мелатонина у женщин с нарушениями сна в перименопаузе, характеризующееся сдвигом пика секреции с ночного времени суток на ранние утренние часы. Кроме того, отмечено значительное снижение его содержания в слюнной жидкости у женщин с нарушениями сна как в перименопаузе, так и в постменопаузе [6].

По данным некоторых исследований, неполноценный сон может оказывать влияние на показатели свободнорадикального окисления и приводить к развитию окислительного стресса [10, 13, 16, 21, 25, 26, 29], что в свою очередь представляет опасность

для окружающих тканей и может играть важную роль в развитии и поддержании воспалительных и деструктивных процессов, усиливая тяжесть проявления климактерического синдрома [15]. В настоящее время менопауза рассматривается как фактор риска развития окислительного стресса, что связывают с гипоэстрогенемией, являющейся одним из характерных эндокринных нарушений при развитии менопаузы и приводящей к атерогенным нарушениям в сыворотке крови и, как следствие этого, к интенсификации процессов перекисного окисления липидов [37, 48]. Проведенными к настоящему времени исследованиями показано, что окислительный стресс обладает патогенетической значимостью в развитии нарушений и угасания репродуктивной функции женщины и более выражен у женщин в постменопаузе, чем в перименопаузальном периоде [17]. Активность свободно-радикального окисления липидов организма у женщин при дефиците половых стероидов в значительной степени зависит от варианта его развития. При физиологическом течении климакса активность свободно-радикального окисления липидов находится в пределах возрастной нормы, благодаря тому что процессы ПОЛ и антиоксидантная обеспеченность организма уравновешены между собой. При патологическом течении климактерия наблюдается значительная активация процессов липопероксидации, являющаяся результатом, с одной стороны, повышения истинного уровня продуктов ПОЛ, а с другой – снижения общей антиоксидантной активности.

Согласно теории Е. Reimund (1994), свободные радикалы, аккумулирующиеся в организме во время бодрствования, удаляются во время сна. В связи с этим инсомния, являющаяся одним из наиболее распространенных нарушений, сопровождающих климактерий у женщин, приводит к накоплению свободных радикалов в организме [44]. Однако результаты экспериментальных работ, касающиеся изучения данных аспектов, являются спорными [18, 43]. Результаты исследований М. Gulec et al. (2012) показали, что у пациентов с инсомнией снижена активность глутатионпероксидазы и повышены уровни конечных продуктов ПОЛ [26]. Увеличение уровня ТБК-активных продуктов показано и у пациенток с инсомнией в постменопаузе [27].

В настоящее время, помимо определения отдельных показателей процессов ПОЛ-АОЗ, используются интегральные показатели окислительного стресса, которые являются более чувствительными при оценке сбалансированности данных процессов, чем сравнение отдельных показателей [7, 29]. Так, в исследовании В. Liang et al. (2013) показано снижение общего антиоксидантного статуса и повышение оксидантного звена и коэффициента окислительного стресса у пациентов с инсомнией, что может быть результатом снижения активности антиоксидантного фермента – параоксаназы [33].

Последствия инсомнии многообразны. Они могут быть как социальными (увеличение риска дорожно-транспортных происшествий, снижение производительности труда), так и медицинскими. Наличие

инсомнии увеличивает риск развития в дальнейшем психических нарушений, алкоголизма и лекарственной зависимости [9, 11]. В настоящее время, помимо психических нарушений, инсомния взаимосвязана с нарушениями углеводного обмена [32], ожирением [34], сердечно-сосудистыми заболеваниями [35] и пр. Все это представляет интерес к изучению инсомний и поиска эффективных методов лечения данных расстройств сна с целью повышения качества жизни женщин. Методы коррекции должны устранять факторы, вызывающие инсомнию, и нормализовать сон, т. к. лечение только одного из имеющихся состояний не является перспективным для нормализации качества жизни.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Анисимов В.Н., Виноградова И.А. Старение женской репродуктивной системы и мелатонин. – СПб.: Система, 2008. – 44 с.

Anisimov V.N., Vinogradova I.A. Ageing of female reproductive system and melatonin. – S.-Petersburg: Sistema, 2008. – 44 p. (in Russian)

2. Антропова О.Е. Возрастные особенности секреции мелатонина у женщин с климактерическим синдромом: автореф. ... канд. мед. наук. – СПб., 2008. – 24 с.

Antropova O.E. Age peculiarities of melatonin secretion in women with climacteric syndrome: abstract of dissertation of Candidate of Medical Sciences. – S.-Petersburg, 2008. – 24 p. (in Russian)

3. Заводнов О.П., Закружная М.А., Боташева Т.Л., Авруцкая В.В. Особенности мелатонинового обмена у женщин с различной хронофизиологической и стереофункциональной организацией репродуктивной системы и световая депривация в профилактике климактерического синдрома [Электронный ресурс] // Современные проблемы науки и образования: электронный научный журнал. – 2012. – № 2. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/102-5487>.

Zavodnov O.P., Zakruzhnaya M.A., Botasheva T.L., Avrutskaya V.V. Peculiarities of melatonin metabolism in women with different chronophysiologic and stereofunctional organization of reproductive system and light deprivation in the preventive treatment of climacteric syndrome [Digital Source] // Sovremennye problemy nauki i obrazovanija: jelektronnyj nauchnyj zhurnal. – 2012. – N 2. – Access on-line: <http://www.science-education.ru/102-5487>. (in Russian)

4. Иванов С.В. Менопауза – ключевой аспект старения: роль эпифиза // Успехи геронтологии. – 2007. – Т. 20, № 4. – С. 19–24.

Ivanov S.V. Menopause – a key aspects of ageing: role of epythisis // Uspehi gerontologii. – 2007. – Vol. 20, N 4. – P. 19–24. (in Russian)

5. Кветная Т.В., Князькин И.В. Мелатонин: роль и значение в возрастной патологии. – СПб.: ВмедА, 2003. – 93 с.

Kvetnaya T.V., Knyazkin I.V. Melatonin: role and significance in age pathology. – S.-Petersburg: VmedA, 2003. – 93 p. (in Russian)

6. Колесникова Л.И., Мадаева И.М., Семёнова Н.В. и др. Патогенетическая роль мелатонина при нару-

шениях сна у женщин климактерического периода // Бюл. экспер. биол. и мед. – 2013. – № 6. – С. 117–119.

Kolesnikova L.I., Madaeva I.M., Semyonova N.V. et al. Pathogenetic role of melatonin in sleep disorders in menopause women // Bjul. jeksper. biol. i med. – 2013. – N 6. – P. 117–119. (in Russian)

7. Колесникова Л.И., Семёнова Н.В., Гребенкина Л.А. и др. Интегральный показатель оценки окислительного стресса в крови человека // Бюл. экспер. биол. и мед. – 2014. – Т. 157, № 6. – С. 680–683.

Kolesnikova L.I., Semyonova N.V., Grebyonkina L.A. et al. Integral index of assessment of oxidative stress in humal blood // Bjul. jeksper. biol. i med. – 2014. – Vol. 157, N 6. – P. 680–683. (in Russian)

8. Коркушко О.В., Лапин Б.А., Гончарова Н.Д. и др. Нормализующее влияние пептидов эпифиза на суточный ритм мелатонина у старых обезьян и людей пожилого возраста // Успехи геронтологии. – 2007. – Т. 20, № 1. – С. 74–85.

Korkushko O.V., Lapin B.A., Goncharova N.D. et al. Normalizing effect of peptides of epythisis on circadian rhythm of melatonin in old apes and older persons // Uspehi gerontologii. – 2007. – Vol. 20, N 1. – P. 74–85. (in Russian)

9. Левин Я.И., Ковров Г.В., Полуэктов М.Г. и др. Инсомния, современные диагностические и лечебные подходы. – М.: Медпрактика-М, 2005.

Levin Ya.I., Kovrov G.V., Poluektov M.G. et al. Insomnia, modern diagnostic and treatment approaches. – Moscow: Medpraktika-M, 2005. (in Russian)

10. Мадаева И.М. Формирование адаптивных и дизадаптивных реакций метаболической системы при обструктивных нарушениях дыхания во время сна: автореф. ... докт. мед. наук. – Иркутск, 2009. – 42 с.

Madaeva I.M. Formation of adaptive and disadaptive reactions of metabolic system at obstructive sleep-disordered breathing: abstract of dissertation of Doctor of Medical Sciences. – Irkutsk, 2009. – 42 p. (in Russian)

11. Мадаева И.М., Колесникова Л.И. Нарушения сна в клинике внутренних болезней // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2003. – № 2. – С. 14–17.

Madaeva I.M., Kolesnikova L.I. Sleep disorders in the clinic of internal diseases // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2003. – N 2. – P. 14–17. (in Russian)

12. Мадаева И.М., Колесникова Л.И., Солодова Е.И., Семенова Н.В. Климактерический синдром и нарушения сна // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2012. – № 2 (84). – С. 166–170.

Madaeva I.M., Kolesnikova L.I., Solodova E.I., Semyonova N.V. Climacteric syndrome and sleep disorders // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2012. – N 2 (84). – P. 166–170. (in Russian)

13. Мадаева И.М., Петрова В.А., Колесникова Л.И. и др. Синдром обструктивного апноэ/гипопноэ сна и перекисное окисление липидов // Пульмонология. – 2009. – № 2. – С. 65–69.

Madaeva I.M., Petrova V.A., Kolesnikova L.I. et al. Obstructive sleep apnea hypopnea syndrome and lipid peroxidation // Pulmonologija. – 2009. – N 2. – P. 65–69. (in Russian)

14. Мальцева Л.И., Гафарова Е.А. Клиническое значение мелатонина в развитии климактерического синдрома // Климактерий. – 2011. – № 2. – С. 69–70.

Maltseva L.I., Gafarova E.A. Clinical relevance of melatonin in the development of climacteric syndrome // Klimakterij. – 2011. – N 2. – P. 69–70. (in Russian)

15. Подгорнова Н.А., Гречканев Г.О. Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы защиты как прогностический критерий тяжести течения климактерического синдрома // Российский вестник акушера-гинеколога. – 2010. – № 2. – С. 13–15.

Podgornova N.A., Grechkanyov G.O. Indices of lipid peroxidation and antioxidant defense system as prognostic criterium of severity of climacteric syndrome course // Rossijskij vestnik akushera-ginekologa. – 2010. – N 2. – P. 13–15. (in Russian)

16. Смолянинова Ю.В., Колесникова Л.И., Мадаева И.М. и др. Закономерности свободнорадикального окисления липидов в развитии адаптационной и дизадаптационной реакций у пациентов с синдромом обструктивного апноэ сна // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2007. – № 1. – С. 239–240.

Smolyaninova Yu.V., Kolesnikova L.I., Madaeva I.M. et al. Regularities of lipid peroxidation in the development of adaptation and dysadaptation reactions in patients with obstructive sleep apnea syndrome // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2007. – N 1. – P. 239–240. (in Russian)

17. Altindag O., Erel O., Soran N. et al. Total oxidative/anti-oxidative status and relation to bone mineral density in osteoporosis // Rheumatol. Int. – 2008. – Vol. 28. – P. 317–321.

18. Alzoubi K.H., Khabour O.F., Salah H.A., Abu Rashid B.E. The combined effect of sleep deprivation and Western diet on spatial learning and memory: role of BDNF and oxidative stress // J. Mol. Neurosci. – 2013. – Vol. 50. – P. 124–133.

19. American Academy of Sleep Medicine. The international classification of sleep disorders. – 2005. – P. 297.

20. Baldwin M.E., Halford M.M., Roufail S. et al. Vascular endothelial growth factor D is dispensable for development of the lymphatic system // Mol. Cell. Biol. – 2005. – Vol. 25. – P. 2441–2449.

21. Brandao L., Hachul H., Bittencourt L. et al. Effects of isoflavone on oxidative stress parameters and homocysteine in postmenopausal women complaining of insomnia // Biol. Res. – 2009. – Vol. 42. – P. 281–287.

22. Brzezinski A., Vangel M., Wurtman R. et al. Effect of exogenous melatonin on sleep: a meta-analysis // Sleep Medicine Reviews. – 2005. – Vol. 9. – P. 41–50.

23. Eichling P.S., Sahni J. Menopause related sleep disorders // J. Clin. Sleep Medicine. – 2005. – Vol. 1, N 3. – P. 291–300.

24. Freeman E., Sammel M.D., Liu L. et al. Hormones and menopausal status as predictors of depression in women in transition to menopause // Arch. Gen. Psychiatry. – 2004. – Vol. 61. – P. 62–70.

25. Gopalakrishnan A., Ji L., Cirelli C. Sleep deprivation and cellular responses to oxidative stress // Sleep. – 2004. – Vol. 27 (1). – P. 27–35.

26. Gulec M., Ozkol H., Selvi Y. et al. Oxidative stress in patients with primary insomnia // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry*. – 2012. – Vol. 37 (2). – P. 247–251.
27. Hachul D.E., Campos H., Brandao L.C. et al. Sleep disturbances, oxidative stress and cardiovascular risk parameters in postmenopausal women complaining of insomnia // *Climacteric*. – 2006. – Vol. 9. – P. 312–319.
28. Haimov N., Lavie P., Laudon M. et al. Melatonin replacement therapy of elderly insomniacs // *Sleep*. – 1995. – Vol. 18 (7). – P. 598–603.
29. Kolesnikova L., Madaeva I., Semenova N. et al. Antioxidant potential of the blood in men with obstructive sleep breathing disorders // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2013. – Vol. 154 (6). – P. 731–733.
30. Kravitz H.M., Ganz P.A., Bromberger J. Sleep difficulty in women at midlife: a community survey of sleep and the menopausal transition // *Menopause*. – 2003. – Vol. 10. – P. 19–28.
31. Kuh D.L., Wadsworth M., Hardy R. Women's health in midlife: the influence of the menopause, social factors and health in earlier life // *Br. J. Obstet Gynaecol.* – 1997. – Vol. 104. – P. 923–933.
32. Leibenluft E., Schmidt P.J., Turner E.H. et al. Effects of leuprolide-induced hypogonadism and testosterone replacement on sleep, melatonin, and prolactin secretion in men // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 1997. – Vol. 82. – P. 3203–3207.
33. Liang B., Li Y.-H., Kong H. Serum paraoxonase, arylesterase activities and oxidative status in patients with insomnia // *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2013. – Vol. 17. – P. 2517–2522.
34. Janson C., Lindberg E., Gislason T. et al. Insomnia in men – a 10-year prospective population based study // *Sleep*. – 2001. – Vol. 24 (4). – P. 425–430.
35. Mallon L., Broman J.E., Hetta J. Sleep complaints predict coronary artery disease mortality in males: a 12-year follow-up study of a middle-aged Swedish population // *J. Intern. Med.* – 2002. – Vol. 21. – P. 207–216.
36. Meliska C.J., Martinez L.F., Lopez A.M. et al. Relationship of morningness-eveningness questionnaire score to melatonin and sleep timing, body mass index and atypical depressive symptoms in peri- and post-menopausal women // *Psychiatry Res.* – 2011. – Vol. 188 (1). – P. 88–95.
37. Mendoza C.C., Zamarripa C.A.J. Menopause induces oxidative stress [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://dx.doi.org/10.5772/52082>.
38. Murphy P.J., Campbell S.S. Sex hormones, sleep, and core body temperature in older postmenopausal women // *Sleep*. – 2007. – Vol. 30 (12). – P. 1788–1794.
39. Neckelmann D., Mykletun A., Dahl A.V. Chronic insomnia as a risk factor for developing anxiety and depression // *Sleep*. – 2007. – Vol. 30 (7). – P. 873–880.
40. Owens J.F., Matthews K.A. Sleep disturbance in healthy middle-aged women // *Maturitas*. – 1998. – Vol. 30. – P. 41–50.
41. Parry B.L., Meliska C.J., Sorenson D.L. et al. Increased melatonin and delayed offset in menopausal depression: role of years past menopause, follicle-stimulating hormone, sleep and time, and body mass index // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* – 2008. – Vol. 93 (1). – P. 54–60.
42. Phillips B.A., Mannino D. Correlates of sleep complaints in adults: The ARIC Study // *J. Clin. Sleep Med.* – 2005. – Vol. 1. – P. 277–283.
43. Ramanathan L., Hu S., Frautschi S.A., Siegel J.M. Short-term total sleep deprivation in the rat increases antioxidant responses in multiple brain regions without impairing spontaneous alternation behavior // *Behav. Brain Res.* – 2010. – Vol. 207 (2). – P. 305–309.
44. Reimund E. The free radical flux theory of sleep // *Med. Hypotheses*. – 1994. – Vol. 43. – P. 231–233.
45. Roth T. Insomnia: definition, prevalence, etiology, and consequences // *J. Clin. Sleep Med.* – 2007. – Vol. 3 (5). – P. S7–S10.
46. Rohr U. Melatonin deficiencies in women // *Maturitas*. – 2002. – Suppl. 1, Vol. 15 (41). – P. 85–104.
47. Sack R., Auckley D., Auger R. et al. Circadian rhythm sleep disorders: part II, advanced sleep phase disorder, delayed sleep phase disorder, free-running disorder, and irregular sleep-wake rhythm // *Sleep*. – 2007. – Vol. 30 (11). – P. 1484–1501.
48. Sanchez-Rodriguez M.A., Zacarias-Flores M., Arronte-Rosales A. et al. Menopause as risk factor for oxidative stress // *Menopause*. – 2012. – Vol. 19 (3). – P. 361–367.
49. Thomson J., Oswald I. Effect of oestrogen on the sleep, mood, and anxiety of menopausal women // *BMJ*. – 1977. – Vol. 2. – P. 1317–1319.
50. Zhang B., Wing Y.K. Sex differences in insomnia: a meta-analysis 2 // *Sleep*. – 2006. – Vol. 29. – P. 85–93.

Сведения об авторах

Семёнова Наталья Викторовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории патофизиологии репродукции Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: natkor_84@mail.ru)

Information about the authors

Semyonova Natalya Viktorovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Reproduction Pathophysiology of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003; e-mail: natkor_84@mail.ru)

ГЕНОМИКА И ПРОТЕОМИКА

УДК 579.842.11, 616.093

Е.И. Иванова ¹, С.М. Попкова ¹, Ю.П. Джигоев ^{1, 2}, В.В. Долгих ¹, Е.Б. Ракова ^{1, 2}, Е.В. Бухарова ¹ДЕТЕКЦИЯ НЕКОТОРЫХ ГЕНОВ, КОДИРУЮЩИХ ФАКТОРЫ ПАТОГЕННОСТИ
У ТИПИЧНЫХ ИЗОЛЯТОВ *ESCHERICHIA COLI*¹ Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)² Иркутский государственный медицинский университет (Иркутск)

С помощью ПЦР исследовали 316 штаммов разных типов *E. coli* (с нормальной ферментативной активностью, со слабой ферментативной активностью, гемолитической активностью), выделенных у здоровых детей и детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта, на наличие генов патогенности. Проведенные исследования показали, что штаммы *Escherichia coli* обладают патогенным потенциалом, о чем свидетельствует наличие у них генетических маркеров патогенности.

Ключевые слова: кишечный микробиоценоз, *Escherichia coli*, функциональные нарушения пищеварения, «острова» патогенности, гены патогенности, ПЦР, праймеры

DETECTION OF SOME GENES ENCODING PATHOGENICITY FACTORS IN THE TYPICAL
ISOLATES OF *ESCHERICHIA COLI*E.I. Ivanova ¹, S.M. Popkova ¹, Yu.P. Dzhigoev ^{1, 2}, V.V. Dolgikh ¹, E.B. Rakova ^{1, 2}, E.V. Bukharova ¹¹ Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk² Irkutsk State Medical University, Irkutsk

Using polymerase chain reaction 316 strains of *E. coli* (strains with normal enzymatic activity, strains with weak enzymatic activity and strains with hemolytic activity) were examined for the presence of pathogenicity genes. They were isolated from healthy children and children with functional disorders of the gastro-intestinal tract. The studies have shown that strains of *Escherichia coli* have pathogenic potential, as evidenced by the presence of genetic pathogenicity markers in them.

Key words: intestinal microbiocenosis, *Escherichia coli*, functional digestive disorders, pathogenicity islands, pathogenicity genes, PCR, primers

Микробиоценозы различных полостей макроорганизма остаются одной из недостаточно изученных экологических систем. Наиболее сложным микробиомом является кишечная кооперация, представленная различными популяциями микроорганизмов, выполняющая и регулирующая многочисленные функции по поддержанию гомеостаза [2, 6].

В настоящее время одним из актуальных направлений экологических исследований является изучение видовой структуры сообществ симбиотических микроорганизмов и закономерностей ее организации [4]. *Escherichia coli* – синантропные микроорганизмы желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) человека. Они находятся в эпителиальной слизи, выстилающей кишечник, и, как правило, состоят в симбиотических отношениях с хозяином. Однако высокая пластичность генома этого вида бактерий дает огромный потенциал для развития и появления штаммов патогенных микроорганизмов из комменсальных штаммов [17]. К появлению новых вариантов *E. coli* ведет обмен разных типов бактерий между собой и с другими представителями семейства *Enterobacteriaceae* мобильными генетическими элементами [9]. Большое разнообразие факторов

вирулентности привело к определению различных патогенных групп, которые обладают различным физиопатологическим поведением. Патогенные изоляты *E. coli* являются основной причиной бактериальных диарей во всем мире [17], они обладают генами, кодирующими различные факторы вирулентности, которые часто иммобилизуются на мобильных генетических элементах, такие как бактериофаги, плазмиды, и «острова» («островки») патогенности [15, 18, 20, 22].

В связи с этим, целью исследования являлось определение некоторых детерминант патогенности в геноме *Escherichia coli* с разной фенотипической активностью.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На дисбиоз кишечника было обследовано 225 детей в возрасте от рождения до 15 лет с функциональными нарушениями (ФН) ЖКТ (абдоминальный синдром, расстройства дефекации, расстройства билиарного тракта, функциональные запоры, колики в течение не менее 12 недель за последние 12 месяцев). В группу сравнения входили здоровые дети аналогичного возраста (100 чел.). Факторами исключения

из исследования были хронические заболевания, в том числе желудочно-кишечного тракта, прием антибактериальных и пробиотических препаратов за 3 месяца до обследования. Исследование одобрено комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «НЦ ПЗСРЧ» СО РАМН и выполнено с информированного согласия пациентов.

Определение количественного и качественного состава кишечной микрофлоры проводили по стандартам диагностики, рекомендованным для бактериологических лабораторий [5, 12, 13, 14]. Для исследования были выделены разные типы *E. coli* как от здоровых детей, так и от детей с ФН ЖКТ, с нормальной ферментативной активностью (соответственно 20 и 202 аутоштаммов), со слабой ферментативной активностью (10 и 60 аутоштаммов) и с гемолитической активностью (24 аутоштамма – от детей с ФН ЖКТ). По культурально-ферментативным свойствам и антигенным характеристикам исследуемые штаммы *E. coli* являлись типичными представителями индигенной микрофлоры рода *Escherichia*.

Выделение бактериальной ДНК, амплификацию, электрофоретическое разделение ПЦР-продуктов осуществляли по ранее описанным методикам [7, 8, 10]. Для исследования одного образца использовали 15 мкл реакционной смеси: 5-х PCR-буфер – 3 мкл; $MgSO_4$ – 1,5 мкл; dNTP – 0,3 мкл; олигонуклеотидные праймеры – по 1 мкл; Tag-полимераза – 0,05 мкл; деионизированная вода – 7,2 мкл; 2 мкл тотальной ДНК исследуемого микроорганизма. В работе использовали праймеры к ряду генов, обнаруженных в составе «островов» патогенности *E. coli*, контролирующей способность к адгезии (*bfp* – (F1) 5'-AATGGTGCCTTGC-GCTTGTGC-3'; (R1) – 5'-GCCGCTTTATCCAACCTGGTA-3'; *eae* – (F2) 5'-GGAACGGCAGAGGTTAATCTGCAG-3'; (R2) – 5'-GGCGTCATCATAGTCTTTC-3') [16, 19]; способность к инвазии (*ipaH* – (F3) 5'-GCTGGAAAACTCAGTGCCT-3'; (R3) – 5'-CCAGTCCGTAAATTCATTCT-3') [23]; синтез энтеротоксинов (*eltA* – (F4) 5'-GGCGACAGATTATAC-CGTGC-3'; (R4) – 5'-CCGAATTCTGTATATATGTC-3') [21]. Праймеры синтезированы в НПФ «Литех» (г. Москва). Электрофореграмма тестирования изолятов *E. coli* на наличие исследуемых генов патогенности представлена на рисунке 1.

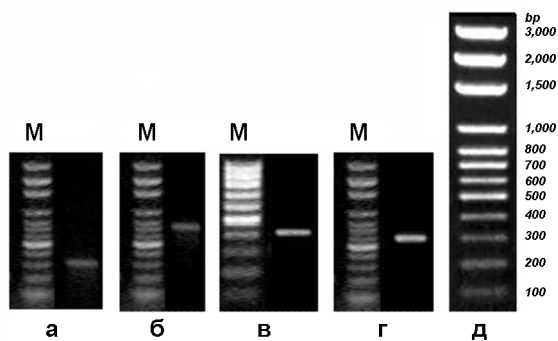


Рис. 1. Электрофореграмма сравнительной интерпретации размерностей ДНК-фрагментов генов патогенности *E. coli* со специфическими праймерами, полученными в результате ПЦР-анализа: **а** – *bfp* (326 п. н. о.); **б** – *eae* (775 п. н. о.); **в** – *ipaH* (424 п. н. о.); **г** – *eltA* (696 п. н. о.); **д** – маркера (М) молекулярного веса 100 п. н. о. (100–3000 п. н. о.)

Статистическая обработка данных произведена при помощи прикладных программ «MS Excel for Windows» методом вариационной статистики с использованием t-критерия Стьюдента при критическом значении уровня значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования позволили выявить у индигенных изолятов *E. coli* наличие фрагментов ДНК, специфичных генам патогенности, характерных для диареогенных форм *E. coli* (табл. 1). В первую очередь, было проведено исследование наличия маркеров патогенности, обеспечивающих адгезию микроорганизмов на эпителии кишечника (ген *bfp* – контролирующая способность к формированию связывания пилей, ген *eae* – синтез бактериального адгезина интимина).

Выявлено, что у исследуемых микроорганизмов, выделенных от здоровых детей и детей с ФН ЖКТ, чаще отмечались маркеры гена, отвечающего за способность к формированию связывания пилей (*bfp*). Наличие данного ампликона у кишечных палочек с нормальной ферментативной активностью (от детей с ФН) составляла 92,1 %. Частота встречаемости генетических детерминант гена *eae* оказалась значительно ниже и составляла 1,0 % ($p < 0,05$). Редко встречаемым геном являлся и ген *eltA* – 0,5 %. Ампликоны, специфичные *ipaH* гену отсутствовали. В группе сравнения ген *bfp* выявлялся в 100,0 % случаев, гены *eae*, *ipaH* и *eltA* в геноме данных микроорганизмов не выявлялись. Как правило, изучаемые гены патогенности чаще определялись на фоне высокой популяционной плотности эшерихий (10^7 – 10^8 КОЕ/г), на 2–3 порядка превышающих зарегистрированную нами их низкую концентрацию (ОСТ, 2003).

В группе слабоферментативных *E. coli* доля генетических детерминант *bfp* была несколько ниже по сравнению с типичными эшерихиями и составляла 86,6 %. В данной фенотипической группе микроорганизмов впервые из всех вариантов выявлялись генетические детерминанты *ipaH* гена в 5,0 % случаев. При использовании праймеров, амплифицирующих фрагменты *eae* и *eltA* генов, положительные результаты не были получены. В группе сравнения в геноме *E. coli* со слабой ферментативной активностью присутствовал лишь ген *bfp* во всех выделенных изолятах (100,0 %), другие изучаемые генетические детерминанты патогенности не выявлялись.

В группе гемолитических *E. coli*, вегетирующих только в кишечном биотопе детей с ФН, преобладали изоляты с наличием *bfp* гена (91,6 %). Гены *eae*, *eltA* выявлялись в геноме микроорганизмов данной фенотипической группы бактерий с равной частотой – по 4,2 %. Ампликоны, специфичные *ipaH* гену отсутствовали, как и у типичных вариантов *E. coli* [11].

Из всех изученных генов, детерминирующих патогенность, одиночные гены выявлялись в геноме *E. coli* в 89,2 % случаев, при этом в преобладающем большинстве изолятов обнаружен ген *bfp* (88,8 %), реже встречаемым геном являлся ген *eae* (0,4 %). Двухкомпонентные ассоциации (сочетания) генов

Таблица 1

Частота выявления генетических детерминант патогенности у индигенных аутоштаммов *E. coli*

Исследуемые изоляты	Наличие генетических детерминант (%)			
	<i>bfp</i>	<i>eae</i>	<i>ipaH</i>	<i>eltA</i>
<i>E. coli</i> с нормальной ферментативной активностью	92,1	1,0	0	0,5
<i>E. coli</i> со слабой ферментативной активностью	86,6	0	5,0	0
<i>E. coli</i> с гемолитической активностью	91,6	4,2	0	4,2

регистрировались в 2,5 % случаев. Главным ассоциантом которых являлся ген *bfp*, он регистрировался в сочетании как с геном *ipaH* (1,1 %), так и с генами *eae* (0,7 %) и *eltA* (0,7 %).

Среди изолятов *E. coli* с нормальной ферментативной активностью и гемолитической активностью выявлялись следующие варианты ассоциаций генов патогенности: *bfp* + *eae* (0,5 % и 4,2 % соответственно), *bfp* + *eltA* (0,5 % и 4,2 % соответственно) (рис. 2, 4). Микроэкологический статус при этом характеризовался дефицитом бифидобактерий (в 25,0 % случаев), наличием *Enterococcus spp.* (75,0 %) и вегетацией условно-патогенных микроорганизмов – *Klebsiella spp.* (100,0 %), *Clostridium spp.* (75,0 %) и *Staphylococcus aureus* (25,0 %).

Среди слабоферментативных форм *E. coli* в ДНК этого микроорганизма выявлялось лишь одно сочетание гена *bfp* с *ipaH* (5,0 %) (рис. 3). При этом у каждого третьего ребенка был выявлен дефицит бифидобактерий, наличие *Clostridium spp.* и *Candida spp.* Спектр микроорганизмов в кишечнике данных детей также характеризовался значительной частотой вегетации представителей рода *Enterococcus* (66,6 %). У каждого ребенка (100,0 %) регистрировались представители родов *Klebsiella* и *Staphylococcus* (*S. aureus*). В группе сравнения гены патогенности в ассоциациях не регистрировались.

В связи с нечеткой определенностью различий по выявляемости генов патогенности в сравниваемых группах было решено провести сравнительную оценку данных в зависимости от микроэкологической характеристики кишечного биотопа.

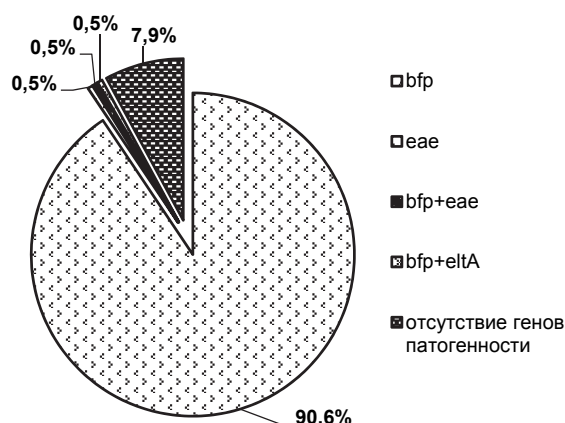


Рис. 2. Распределение генов патогенности и их ассоциаций у изолятов *E. coli* с нормальной ферментативной активностью.

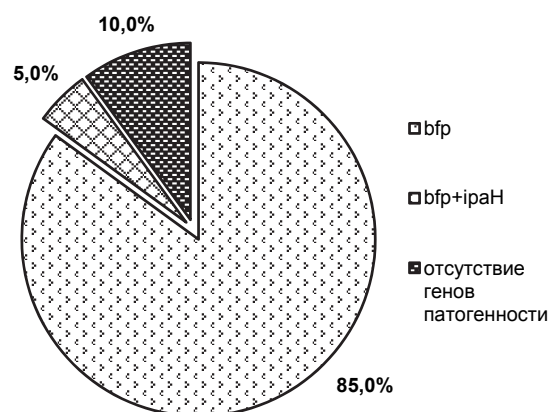


Рис. 3. Распределение генов патогенности и их ассоциаций у изолятов *E. coli* со слабой ферментативной активностью.

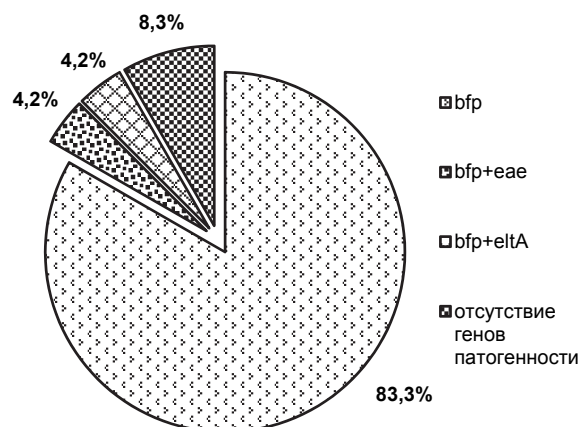


Рис. 4. Распределение генов патогенности и их ассоциаций у изолятов *E. coli* с гемолитической активностью.

В результате данного анализа было отмечено, что при зубиозе и в условиях нарушения микроэкологического равновесия в кишечном биоценозе (дефицит лакто- и бифидобактерий, вегетация условно-патогенной биоты) гены патогенности выявлялись в геноме *E. coli* по-разному (см. рис. 5). Так, при микроэкологической норме выявляемость *bfp* была в 2 раза ниже, чем при дефиците индигенной биоты и почти в 6 раз ниже, чем при вегетации условно-патогенной микробиоты ($p < 0,05$). Регистрация гена патогенности *eae* определялась только на фоне микроэкологического дисбаланса. Положительный сигнал при детекции генов патогенности, кодирующих способность к токсинообразованию (*eltA*) и

к инвазии (*ipaH*), был получен только в условиях дефицита индигенной микрофлоры с одновременным присутствием в биотопе условно-патогенной (рис. 5).

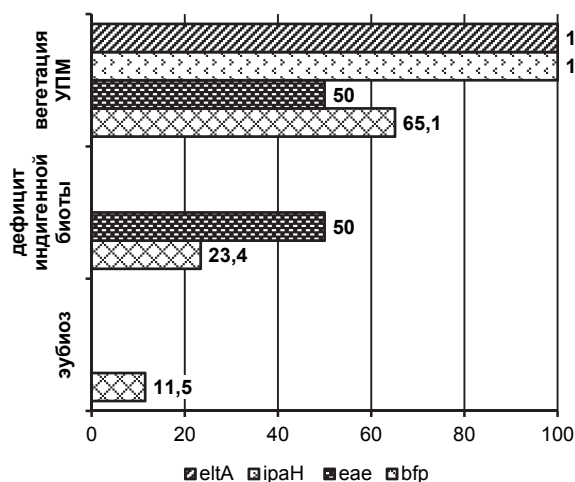


Рис. 5. Частота детекции генов патогенности в зависимости от микроэкологического состояния кишечной биоты, %.

Частота встречаемости генов патогенности также анализировалась в зависимости от возраста детей. Так, наличие гена, отвечающего за формирование связывания пилей, у детей с ФН ЖКТ как первого года жизни, так и в старшей возрастной группе регистрировалось с высокой частотой – 90,6 и 94,3 % соответственно. Ген *eae*, контролирующий синтез интимина, встречался редко (2,4 %), и при этом только у детей до года. Частота встречаемости искомым ампликонов в геноме кишечных палочек, выделенных от детей младшей и старшей возрастных групп, при использовании праймеров к *ipaH* и *eltA* была низкой и составляла: 2,4 % и 0,7 %, 1,2 % и 0,7 % соответственно по группам (табл. 2).

Таблица 2
Частота детекции генов патогенности у детей различных возрастных групп (%)

Группы детей	Гены патогенности, %			
	<i>bfp</i>	<i>eae</i>	<i>ipaH</i>	<i>eltA</i>
Дети до года (85 чел.)	90,6	2,4	2,4	1,2
Дети старше года (140 чел.)	94,3	0	0,7	0,7

Таким образом, результаты продемонстрировали высокую частоту присутствия гена *bfp* в популяциях различных биохимических вариантов, в том числе *E. coli* с нормальной ферментативной активностью, что свидетельствует об эффективных процессах адгезии *E. coli* к эпителию кишечника. Что, с одной стороны, дает ей огромные преимущества в конкурентной борьбе с условно-патогенной микробиотой за сайты адгезии и занятием экологической ниши, а, с другой стороны, дает возможность типичной *E. coli* сохранять в кишечнике физиологически высокую популяционную плотность, осуществляя выполнение

полезных для хозяина функций (синтез витаминов и аминокислот, поддержание колонизационной резистентности кишечника, обеспечение антигенной стимуляции местного иммунитета и др.). Это подтверждают данные о высоком уровне детекции гена *bfp* в геноме кишечных палочек в группе здоровых детей. Эти данные свидетельствуют о становлении микроэкологического гомеостаза кишечного биоценоза у детей, приближающихся к 4-летнему возрасту, когда один из главных компонентов индигенной микробиоты (нормальная кишечная палочка) получил селективное преимущество за счет экспрессии генов, способствующих колонизации слизистой кишечника. Высокая частота присутствия гена *bfp* в геномах атипичных *E. coli* является фактом нежелательным, т.к. наличие данных микроорганизмов наряду с дефицитом бифидо- и лактобактерий свидетельствует о начинающихся дисбиотических нарушениях, и при наличии данного гена возможно усугубление процесса.

Сочетания генов *bfp* и *eltA* в геноме типичных и гемолитических кишечных палочек, свидетельствует об усилении вирулентности бактерий, обеспечивающих как прикрепление к клеткам кишечного эпителия, так и последующее эффективное воздействие выделяемого ими токсина. Ассоциации гена *bfp* и *ipaH* в ДНК слабоферментативных фенотипов *E. coli* дает возможность данным микроорганизмам прикрепляться к эпителиоцитам, проникать в них и размножаться, данные способности характерны только вирулентным изолятам, которые контролируются инвазивной активностью этих бактерий.

По нашим данным, при микроэкологических нарушениях в кишечном микробиоценозе частота встречаемости генов патогенности выше, нежели при зубиозе. Данные штаммы имели селективное преимущество в условиях дефицита бифидобактерий, т.е. в условиях сниженной популяционной антагонистической активности бифидобактерий. Вероятно, это связано с особенностями изучаемого биотопа детей с ФН ЖКТ.

Возрастной группой риска по наличию детерминант патогенности в геноме *E. coli* была возрастная группа детей до года. Дети первого года жизни наиболее уязвимы в связи с незрелостью иммунной системы и процессами формирования относительно стабильного микробиоценоза, в результате чего происходит последовательная смена на определенном участке среды обитания одних сообществ организмов другими (сукцессия) [1, 3]. При этом в определенный период жизни кишечник ребенка могут колонизировать условно-патогенные микроорганизмы, которые могут стать причиной развития дисбактериозов и различных осложнений, связанных с ним [1].

Таким образом, накопленные данные свидетельствуют о необходимости углубленного изучения внутривидового разнообразия *E. coli*, определения факторов патогенности или их генетических детерминант наряду с серологическим типированием для окончательной идентификации эшерихий как возбудителей различных заболеваний.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аветисян Л.Р. Эпидемиологические и микробиологические аспекты колонизации кишечника детей первого года жизни условно-патогенными микроорганизмами: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2008. – 143 с.

Avetisyan L.R. Epidemiological and microbiological aspects of intestinal colonization in infants with opportunistic pathogens: dissertation of Candidate of Medical Sciences. – Moscow, 2008. – 143 p. (in Russian).

2. Бережной В.В., Крамарев С.А., Шунько Е.Е., Янковский Д.С. и др. Микрофлора человека и роль современных пробиотиков в ее регуляции // Здоровье женщины. – 2004. – № 1 (17). – С. 134–139.

Berezhnoy V.V., Kramarev S.A., Shunko E.E., Yankovskiy D.S. et al. Human microflora and the role of modern probiotics in its regulation // Zdorovje zhenshiny. – 2004. – N 1 (17). – P. 134–139. (in Russian)

3. Бухарова Е.В., Попкова С.М., Ракова Е.Б., Джиоев Ю.П. и др. Детекция некоторых генетических маркеров факторов патогенности в аутоштаммах *Klebsiella spp.* у детей первого года жизни // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 2 (96). – С. 58–62.

Bukharova E.V., Popkova S.M., Rakova E.B., Dzhioev Yu.P. et al. Detection of some genetic markers of pathogenetic factors in *Klebsiella spp.* autostrains in infants // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2014. – N 2 (96). – P. 58–62. (in Russian)

4. Варичев А.Н., Соловьёва И.В., Гелашвили Д.Б. Ранговые распределения численности сообществ симбиотических микроорганизмов толстой кишки здоровых и больных людей разных возрастных групп // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2012. – № 2 (3). – С. 34–40.

Varichev A.N., Solovjova I.V., Gelashvili D.B. Rank-abundance distribution of symbiotic microorganisms biocenosis in the large intestine of healthy and sick people of various age groups // Vestnik Nizhegorodskogo universiteta im. N.I. Lobachevskogo. – 2012. – N 2 (3). – P. 34–40. (in Russian)

5. Диагностика, профилактика и лечение дисбактериозов кишечника: Метод. рек. – М., 1991. – 15 с.

Diagnostics, prevention and treatment of intestinal dysbiosis: guidelines. – Moscow, 1991. – 15 p. (in Russian)

6. Дука Е.Д. Диагностика и коррекция дисбиозов кишечника у детей // Здоровье ребенка. – 2010. – № 2 (23). – С. 47–51.

Duka E.D. Diagnosis and correction of intestinal dysbiosis in children // Zdorovje rebenka. – 2010. – N 2 (23). – P. 47–51. (in Russian)

7. Иванова Е.И. Формирование патогенного потенциала у аутоштаммов *Escherichia coli* в ассоциативном симбиозе толстой кишки у детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Иркутск, 2014. – 22 с.

Ivanova E.I. Formation of pathogenic potential in *Escherichia coli* autostrains in associative symbiosis of the colon in children with functional disorders of gastrointestinal tract: abstract of dissertation of Candidate of Biological Sciences. – Irkutsk, 2014. – 22 p. (in Russian)

8. Иванова Е.И. Формирование патогенного потенциала у аутоштаммов *Escherichia coli* в ассоциативном симбиозе толстой кишки у детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта: дис. ... канд. биол. наук. – Иркутск, 2014. – 125 с.

Ivanova E.I. Formation of pathogenic potential in *Escherichia coli* autostrains in associative symbiosis of the colon in children with functional disorders of gastrointestinal tract: dissertation of Candidate of Biological Sciences. – Irkutsk, 2014. – 125 p. (in Russian)

9. Иванова Е.И., Джиоев Ю.П., Попкова С.М. Детекция генетических детерминант токсинообразования (*stx1*, *stx2*) у штаммов *Escherichia coli* // Глобализация науки: проблемы и перспективы: матер. междунар. научно-практич. конф. – Уфа: РИЦ БашГУ, 2014. – Ч. 1. – С. 136–138.

Ivanova E.I., Dzhioev Yu.P., Popkova S.M. Detection of genetic determinants of toxin production (*stx1*, *stx2*) in *Escherichia coli* strains // Globalizacija nauki: problemy i perspektivy: mater. mezhdunar. nauchno-praktich. konf. – Ufa: Publishing Center of Bashkortostan State University, 2014. – Part 1. – P. 136–138. (in Russian)

10. Иванова Е.И., Попкова С.М., Джиоев Ю.П., Ракова Е.Б. Выявление генов патогенности, кодирующих способность к токсинообразованию, у штаммов *Escherichia coli*, выделенных из кишечного биотопа детей // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2013. – № 2 (90), Ч. 2. – С. 111–114.

Ivanova E.I., Popkova S.M., Dzhioev Yu.P., Rakova E.B. Identification of pathogenicity genes, coding toxin production, in *Escherichia coli* strains, isolated from intestinal habitat of children // Bjul. VSNC SO RAMN. – 2013. – N 2 (90). – P. 111–114. (in Russian)

11. Иванова Е.И., Попкова С.М., Джиоев Ю.П., Ракова Е.Б. Определение генетических детерминант патогенности у гемолизирующих *Escherichia coli* // Инфекция и иммунитет. – 2014. – С. 68–69.

Ivanova E.I., Popkova S.M., Dzhioev Yu.P., Rakova E.B. Determination of genetic determinants of pathogenicity in *Escherichia coli* // Infekcija i immunitet. – 2014. – P. 68–69. (in Russian)

12. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие. клиническая микробиология. Бактериологические исследования. Микологические исследования. Паразитологические исследования. Инфекционная иммунодиагностика. Молекулярные исследования в диагностике инфекционных заболеваний / под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2009. – Т. 3. – С. 71–141.

Methods of clinical laboratory tests: A Reference Guide. Clinical microbiology. Bacteriological tests. Mycological research. Parasitological research. Infectious immunodiagnosis. Molecular studies in the diagnosis of infectious diseases / Ed. by V.V. Menshikov. – Moscow: Labora, 2009. – Vol. 3. – P. 71–141. (in Russian)

13. Немченко У.М., Попкова С.М., Горбунова Е.Л., Петрова И.В. и др. Микроэкологический пейзаж кишечного биоценоза у детей с функциональными нарушениями желудочно-кишечного тракта // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 5 (81). – С. 89–93.

Nemchenko U.M., Popkova S.M., Gorbunova E.L., Petrova I.V. et al. Micro-ecological landscape of intestinal

biocenosis in children with functional disorders of gastrointestinal tract // *Bjul. VSNC SO RAMN.* – 2011. – N 5 (81). – P. 89–93. (in Russian)

14. Отраслевой стандарт «Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника» // ОСТ 1500.11.0004-2003. Приказ МЗ РФ No 231 от 09.06.2003.

Industry Standard "Treatment Protocol. Intestinal dysbiosis" // OST 1500.11.0004-2003. Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 231 as of 09.06.2003. (in Russian)

15. Alfredo G.T., Vazquez-Juarez R.C., Christopher B.T., Garcia-Gallegos J.G. Pathoadaptive mutation that mediates adherence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* O111 // *Infection and immunity.* – 2005. – Vol. 73, N 8. – P. 4766–4776.

16. Blanco M., Blanco J.E., Mora A., Rey J. et al. Serotypes, virulence genes, and intimin types of shiga toxin (verotoxin)-producing *Escherichia coli* isolates from healthy sheep in Spain // *J. Clin. Microbiol.* – 2003. – Vol. 41, N 4. – P. 1351–1356.

17. Bouguénec C.L., Servin A.L. Diffusely adherent *Escherichia coli* strains expressing Afa/Dr adhesins (Afa/Dr DAEC): hitherto unrecognized pathogens // *FEMS Microbiology Letters.* – 2006. – Vol. 256, Issue 2. – P. 185–194.

18. Croxen M.A., Finlay B.B. Molecular mechanisms of *Escherichia coli* pathogenicity // *Nature Reviews Microbiology.* – 2010. – Vol. 8. – P. 26–38.

19. Gunzburg S.T., Tornieporth N.G., Riley L.W. Identification of Enteropathogenic *Escherichia coli* by PCR-based detection of the bundle-forming pilus gene // *J. Clin. Microbiol.* – 1995. – Vol. 33, N 5. – P. 1375–1377.

20. Ochman H., Lawrence J.G., Groisman E.A. Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation // *Nature.* – 2000. – Vol. 405. – P. 299–304.

21. Schultsz C., Pool G.J., Ketel R., Wever B. et al. Detection of Enterotoxigenic *Escherichia coli* in stool samples by using nonradioactively labeled oligonucleotide DNA probes and PCR // *J. Clin. Microbiol.* – 1994. – Vol. 32, N 10. – P. 2393–2397.

22. Sokurenko E.V., Hasty D.L., Dykhuizen D.E. Pathoadaptive mutations: gene loss and variation in bacterial pathogens // *Trends Microbiol.* – 1999. – Vol. 7. – P. 191–195.

23. Tornieporth N.G., John J., Salgado K., Jesus P. et al. Differentiation of pathogenic *Escherichia coli* strains in Brazilian children by PCR // *J. Clin. Microbiol.* – 1995. – Vol. 33, N 5. – P. 1371–1374.

Сведения об авторах

Иванова Елена Иннокентьевна – младший научный сотрудник лаборатории микрoэкологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: ivanova.iem@gmail.com)

Попкова София Марковна – доктор биологических наук, заведующая лабораторией микрoэкологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Джиоев Юрий Павлович – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории молекулярной эпидемиологии и генодиагностики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Долгих Владимир Валентинович – доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, главный врач клиники Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Ракова Елена Борисовна – кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории микрoэкологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Бухарова Екатерина Владимировна – младший научный сотрудник лаборатории микрoэкологии Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Information about the authors

Ivanova Elena Innokentievna – Junior Research Officer of the Laboratory of Microecology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003; e-mail: ivanova.iem@gmail.com)

Popkova Sofia Markovna – Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Microecology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Dzhioev Yuri Pavlovich – Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Molecular Epidemiology and Gene Diagnostics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Dolgikh Vladimir Valentinovich – Doctor of Medical Sciences, Professor, Honored Doctor of Russian Federation, Chief Doctor of the Clinic of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Rakova Elena Borisovna – Candidate of Biological Sciences, Research Officer of the Laboratory of Microecology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

Bukharova Ekaterina Vladimirovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Microecology of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

О.В. Калюжная, Т.А. Баирова, В.В. Долгих, С.И. Колесников

ИЗУЧЕНИЕ ПОЛИМОРФИЗМА S1/S2 (C3238G, RS5128) АПОЛИПОПРОТЕИНА C3 В ЕВРОПЕЙСКОЙ ПОПУЛЯЦИИ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ*Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)*

Изучена распространенность генотипов и аллелей полиморфного маркера S1/S2 гена аполипопротеина C3 (C3238G, rs5128) в группе здоровых подростков европеоидной расы (русских) проживающих на территории Восточной Сибири. Материалом для исследования являлась ДНК выделенная из венозной крови, генотип для каждого образца определяли методом ПЦР-ПДРФ. В исследованной выборке в 88,9 % случаев встречался генотип S1/S1, генотип S1/S2 – в 8,6 %, S2/S2 – в 2,5 %. Доля аллеля S2 составила 6,8 %, что достоверно не отличается от ранее исследованных европеоидных популяций.

Ключевые слова: аполипопротеин C3, S1/S2, аллель, генотип

STUDY OF APOLIPOPROTEIN C3 S1/S2 (C3238G, RS5128) POLYMORPHISM IN CAUCASIAN POPULATION OF EASTERN SIBERIA

O.V. Kalyuzhnaya, T.A. Bairova, V.V. Dolgikh, S.I. Kolesnikov

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

The prevalence of genotypes and alleles of polymorphic marker S1/S2 Apolipoprotein C3 in healthy adolescent Caucasians (Russians) living in Eastern Siberia was studied. Material for research was the DNA extracted from the venous blood; genotype was determined by PCR-RFLP for each sample. In the studied sample in 88.9 % of cases genotype S1/S1 was detected, genotype S1/S2 was found in 8.6 %, S2/S2 – in 2.5 %. The share of S2 allele was 6.8 %, which is not significantly different from the previously studied Caucasian populations.

Key words: apolipoprotein C3, S1/S2, allele, genotype

ВВЕДЕНИЕ

Аполипопротеин C3 (АпоС3) – белок, состоящий из 79 аминокислотных остатков, относится к одному из основных компонентов липидтранспортной системы крови человека. АпоС3 составляет более 50 % белковых компонентов липопротеинов низкой плотности ЛПНП, синтезируется в гепатоцитах печени и в небольшом количестве в кишечнике. Одна из основных функций АпоС3 ингибирование липаз, ферментов расщепляющих триглицериды (ТГ) хиломикронов и липопротеинов очень низкой плотности ЛОПНП, регулируя, таким образом, уровень триглицеридов и ЛПОНП в плазме крови [1, 2].

Ген аполипопротеина C3 – *APOC3* локализован в 11-й хромосоме человека (11q23.3) в одном кластере с основными генами белков липидтранспортной системы – *APOA1*, *APOC4* и *APOA5*. [7, 12]. Замена нуклеотида цитозина на гуанин в некодирующей области гена, известного, как полиморфный маркер C-3238G или S1/S2 (rs5128), приводит к повышению экспрессии белка АпоС3, ингибированию ЛПЛ и, как следствие, увеличению содержания ТГ и ЛПНП в плазме крови. Это определяет сдвиг липидного спектра в сторону проатерогенности и увеличивает риск, возникновения сердечно-сосудистых заболеваний и ожирения. Таким образом, носительство аллеля S2 в гетерозиготном (S1/S1) или гомозиготном (S2/S2) состоянии является рисковым относительно частоты возникновения заболеваний [3, 6, 11].

Частота встречаемости в различных популяциях и этнических группах мира рискового аллеля S2 варьирует от 8 до 31 % [3–6, 8–11, 13]. В европейских популяциях она составляет 8–9 % [8,

11, 13]. Изучение распространенности генотипов и аллелей полиморфного маркера S1/S2 гена *APOC3* в популяции необходимо для предсказания частоты возникновения заболеваний сердечно-сосудистой системы, атеросклероза и ожирения в исследуемой популяции.

Целью данной работы являлось изучение распространенности аллелей и генотипов полиморфного маркера S1/S2 гена *APOC3* в европейской популяции Восточной Сибири на примере русских, а также сравнение распространенности рискового аллеля S2 в изучаемой выборке с распространенностью данного аллеля в ранее изученных популяциях мира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлись подростки русской национальности, проживающие на территории Восточной Сибири. Набор материала производился в ходе экспедиционных работ в период с 2009 по 2013 гг. в поселках Баяндай и Мишелевка Иркутской области. Участники исследования (подростки, их родители и опекуны) проходили анкетирование для определения этнической принадлежности до третьего поколения, все участники были информированы о научной направленности работы и дали свое согласие на исследование. В исследуемую группу включали подростков, относящихся к I–II группе здоровья. Всего обследован 81 подросток. В работе соблюдались этические принципы, установленные Хельсинкской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki 1964, ред. 2000).

Для генетического исследования в вакуумные пробирки с 3% ЭДТА отбирали цельную венозную

кровь из локтевой вены. Суммарную ДНК из лейкоцитарной фракции крови выделяли сорбентным методом при помощи коммерческих наборов «АмплиПрайм ДНК-сорб-В», ООО «ИнтерЛабСервис» (Россия, Москва) согласно методике, прилагаемой к наборам. Генотипирование образцов по полиморфному маркеру *S1/S2* гена *АРОС3* проводили методом полимеразной цепной реакции с дальнейшим анализом длин рестрикционных фрагментов (ПЦР-ПДРФ), используя коммерческие наборы производства (ООО «ГенЭксперт», Россия, Москва).

Праймеры используемые для постановки ПЦР имели следующие последовательности: прямой праймер: 5'-ААТААТААААТСАТААААСТСАТАГСАГСТТСТТГТ-3', обратный праймер: 5'-ААТААТААААТСАТАААСТГССАТССАТСССТТ-3'. ПЦР проводили по программе, приведенной в инструкции к наборам, в автоматическом термоциклере «Терцик» (ДНК-технология, Россия, Москва). Рестриктирование продуктов амплификации по специфическому сайту проводили с помощью рестриктазы TaqI (НПО «СибЭнзим», Россия, Новосибирск), при температуре 65 °С. После проведения рестрикции фрагменты ДНК анализировали электрофорезом в 7% полиакриламидном геле (при соотношении акриламид : бис-акриламид – 29 : 1) с дальнейшей окраской бромистым этидием. Электрофореграммы фотографировали при помощи геле-документирующей системы Gel Imager (Хеликон, Россия).

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Biostatistics» V4.03. Для сравнения частоты встречаемости генотипов и аллелей изучаемого гена использовали критерия χ^2 (хи квадрат) с поправкой Йейтса. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$ (5 %).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате генотипирования в исследуемой выборке были обнаружены все три генотипа (*S1/S1*, *S1/S2* и *S2/S2*) гена *АРОС3*. Наиболее распространенным является гомозиготный генотип *S1/S1*, встречающийся в 88,9 % случаев ($n = 72$). Носительство гетерозиготного генотипа *S1/S2* обнаружено в 8,6 % ($n = 7$), гомозиготного *S2/S2* – в 2,5 % случаев ($n = 2$). Доля аллеля *S1* в изучаемой выборке составила 93,2 %, аллеля *S2* – 6,8 % (табл. 1). Распространенность генотипов и аллелей полиморфного локуса *S1/S2* гена *АРОС3* (rs5128) соответствовала равновесию Харди – Вайнберга ($\chi^2 = 0,61$; $p < 0,05$).

Таблица 1
Частота встречаемости генотипов и аллелей полиморфного маркера *S1/S2* гена *АРОС3* в исследуемой группе ($n = 81$)

Генотипы	n (%)
<i>S1/S1</i>	72 (88,9 %)
<i>S1/S2</i>	7 (8,6 %)
<i>S2/S2</i>	2 (2,5 %)
Аллели	%
<i>S1</i>	93,2
<i>S2</i>	6,8

Примечание: n – количество человек, носителей генотипа.

При сравнении распространенности аллеля *S2* в изучаемой группе русских подростков с распространенностью в популяциях мира, оказалось, что аллель *S2* (6,8 %) в русской популяции встречался реже, чем в ранее изученных европейских популяциях (Италия, Англия – 8,6 %, Голландия – 9 %). Однако эти различия не достигали статистической значимости (табл. 2).

Таблица 2
Распространенность аллеля *S2* полиморфного маркера *S1/S2* гена *АРОС3* в популяциях мира

Популяция (численность выборки)	Доля аллеля <i>S2</i> (%)	p	Источник
Русские* (82)	6,8	–	–
Европейцы, Италия (251)	8,6	0,588	[6]
Европейцы, Англия (2485)	8,6	0,501	[8]
Европейцы, Голландия (110)	9	0,532	[9]
Корея (92)	24,5	0,0001	[10]
Западный Китай (491)	28,6	0,0001	[11]
Иран (75)	28,3	0,0001	[5]
Северная Индия (139)	31,3	0,0001	[13]

Примечание: * – настоящее исследование; p – уровень статистической значимости.

Статистически значимые отличия ($p < 0,0001$) в изучаемой нами выборке русских, обнаружены с ранее изученными популяциями Кореи, Китая, Ирана и Индии, в азиатских, арабских и индийских популяциях аллель *S2* составляет от 24 до 31 % (табл. 2) [3, 4, 5, 9, 10]. Авторы этих работ предполагают, что высокая частота встречаемости аллеля *S2* гена *АРОС3* может быть связана с высокой чувствительностью к повышению уровня ТГ в крови, и с высокой генетической предрасположенностью популяции к гипертриглицеридемии и атеросклерозу [4, 5, 10].

По данным S. Chhabra et al. (2002), аллель *S2* изучаемого полиморфизма является маркером риска возникновения гипертриглицеридемии в индийской популяции, так как у носителей данного аллеля склонность к гипертриглицеридемии выше в 3,2 раза, чем у носителей *S1/S1* генотипа, а высокая распространенность данного рискового аллеля в популяциях может стать причиной резкого увеличения числа сердечно-сосудистых патологий в будущем [5].

Таким образом, изучение распространенности аллеля *S2* изучаемого полиморфного локуса в различных популяции и этнических группах представляет практический интерес для предиктивной медицины, как один из маркеров риска заболевании сердечно-сосудистой системы и ожирения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате исследования показана распространенность генотипов и аллелей полиморфного маркера *S1/S2* ген Аполипопротеин С3 (*АРОС3*) в европейской популяционной (на примере русских подростков) проживающих на территории Восточной Сибири. Показано, что частота встречаемости аллеля *S2* в исследуемой популяции составила 6,8 %.

Работа выполнена при поддержке гранта Президента РФ НШ-5646.2014.7

ЛИТЕРАТУРА

1. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения; 3-е изд. – СПб.: Питер Ком, 1999. – 512 с.
Klimov A.N., Nikulcheva N.G. Exchange of lipids and lipoproteins and its disorders; 3rd ed. – St. Petersburg: Piter Kom, 1999. – 512 p. (in Russian)
2. Творогова М.Г. Аполипопротеины – свойства, методы определения, клиническая значимость // Лабораторная медицина. – 2005. – № 7. – С. 29–37.
Tvorogova M.G. Apolipoproteins – properties, methods of determining the clinical significance // Laboratornaya meditsina. – 2005. – N 7. – P. 29–37. (in Russian)
3. Bandegi A.R., Firoozrai M., Akbari E.M.R., Kokhaei P. SstI Polymorphism of the Apolipoprotein CIII Gene in Iranian Hyperlipidemic Patients: A Study in Semnan Province // Iranian J. Basic Med. Sciences. – 2011. – Vol. 14, N 6. – P. 506–513.
4. Chhabra S., Agarwal D.P., Vasisht S., Luthra K. et al. Study of Apolipoprotein C3 SstI polymorphism in healthy volunteers from Northern India // Ind. J. Clin. Biochem. – 2003. – Vol. 18, N 2. – P. 34–38.
5. Chhabra S., Narang R., Krishnan L.R., Vasisht S. et al. Apolipoprotein C3 SstI polymorphism and triglyceride levels in Asian Indians // BMC Genetics. – 2002. – Vol. 3, N 9.
6. Ghattas M., Badawy H., Mesbah N., Abo-Elmatty D. Apolipoprotein CIII 3238C/G Gene polymorphism influences oxidized low-density lipoprotein with a risk of essential hypertension // J. Biochem. Pharmacol. Res. – 2013. – Vol. 1, N 3. – P. 143–147.
7. Groenendijk M., Cantor R.M., de Bruin T.W., Dallinga-Thie G.M. The apoA1-CIII-AIV gene cluster // Atherosclerosis. – 2001. – N 157. – P. 1–11.
8. Hoffer M.J.V., Sijbrands E.J.G., de Man F.H.A.F., Havekes L.M. et al. Increased risk for endogenous hypertriglyceridaemia is associated with an apolipoprotein C3 haplotype specified by the SstI polymorphism // Eur. J. Clin. Invest. – 1998. – N 28. – P. 807–812.
9. Hong S.H., Park W.H., Lee C.C., Hong J.H. et al. Association between genetic variations of apo A1-CIII-AIV cluster gene and hypertriglyceridemic subjects // Clin. Chem. – 1997. – N 43. – P. 13–17.
10. Liu H.K., Li X.F., Zhang S.Z., Ren Y. et al. Association of Sst I polymorphism in apolipoprotein C3 gene with hypertriglyceridaemia in coronary atherosclerotic heart disease and type II diabetes mellitus in Chinese population // Acta Genetica Sinica. – 2005. – Vol. 32, N 1. – P. 11–18.
11. Olivieri O., Stranieri C., Bassi A., Zaia B. [et al.]. ApoC-III gene polymorphisms and risk of coronary artery disease // J. Lipid Res. 2002. № 43. P. 1450–1457.
12. Pennacchio L.A., Olivier M., Hubacek J.A., Cohen J.C. et al. An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing // Science. – 2001. – N 294. – P. 169–173.
13. Russo G.T., Meigs J.B., Cupples L.A., Demissie S. Association of the Sst-I polymorphism at the APOC3 gene locus with variations in lipid levels, lipoprotein subclass profiles and coronary heart disease risk: the Framingham offspring study // Atherosclerosis. – 2001. – N 158. – P. 173–181.

Сведения об авторах

Калужная Ольга Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: kaluzhnayaO@yandex.ru)
Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, заведующая лабораторией клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека
Долгих Владимир Валентинович – доктор медицинских наук, заместитель директора по научной работе Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека
Колесников Сергей Иванович – Академик РАН, советник РАН

Information about the authors

Kalyuzhnaya Olga Viktorovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003; e-mail: kaluzhnayaO@yandex.ru)
Bairova Tatiana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems
Dolgich Vladimir Valentinovich – Doctor of Medical Sciences, Deputy Director of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems
Kolesnikov Sergei Ivanovich – Academician of RAS, counsellor of RAS

А.Ю. Сенькина, Т.А. Байрова, С.И. Колесников, О.В. Калюжная

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА РАСПРОСТРАНЕННОСТИ ПОЛИМОРФИЗМА (-455)G>A ГЕНА ФИБРИНОГЕНА У ПОДРОСТКОВ РАЗНЫХ ПОПУЛЯЦИЙ ВОСТОЧНОЙ СИБИРИ

Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека (Иркутск)

Цель: исследовать частоты генотипов и аллелей полиморфизма (-455)G>A гена β-цепи фибриногена (FGB) в русской и бурятской популяциях Восточной Сибири.

Материалы и методы: исследована база ДНК крови детей и подростков русской и бурятской национальности. Генотипирование проводилось стандартным ПЦР-методом.

Результаты: Частота А-аллели в русской популяции – 28,0 %, в бурятской – 23,7 %. Между исследованными этническими выборками статистически значимых различий не выявлено.

Ключевые слова: β-цепь фибриногена, полиморфизм (-455)G>A, тромбозы, гемостаз

COMPARATIVE ASSESSMENT OF PREVALENCE OF FIBRINOGEN (-455)G>A GENE POLYMORPHISM IN TEENAGERS FROM VARIOUS POPULATIONS OF EASTERN SIBERIA

A.Yu. Senkina, T.A. Bairova, S.I. Kolesnikov, O.V. Kalyuzhnaya

Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems, Irkutsk

This study was performed to establish prevalence of alleles of polymorphism (-455)G>A of β-chain of fibrinogen gene in Russian and Buryat populations of Eastern Siberia. We used blood database of children and teenagers of Russian and Buryat nationality. Genotyping was carried out by a standard PCR method. Frequency of allele A in Russian population was 28,0 %, in Buryat population – 23,7 %. There were no statistically significant ethnic differences between these samples.

Key words: β-chain of fibrinogen, polymorphism (-455)G>A, thrombosis, hemostasis

В настоящее время в Восточной Сибири, как и в целом в Российской Федерации, сохраняется высокий уровень смертности от заболеваний сердечно-сосудистой системы. Патогенетически значимым звеном данной патологии является нарушение системы гемостаза.

Система гемостаза представляет собой сложный каскад ферментативных реакций. Важным звеном в данном каскаде является фибриноген – белок, служащий субстратом для тромбина. Синтез фибриногена детерминирован геном *FGB*, для которого описано 329 полиморфизмов [4]. Одним из наиболее изученных и клинически значимых является полиморфизм -455G>A (rs1800790). Данный полиморфизм представляет собой замену гуанина на аденин в положении -455 в промоторной области гена. Данная замена ассоциирована с повышенным уровнем транскрипции гена *FGB*, а значит и с увеличением концентрации фибриногена в плазме крови [1].

Распространенность полиморфизмов генов – кандидатов патологических состояний варьирует в разных популяциях мира, в том числе в популяциях Сибири [2]. Данные о распространенности изучаемого полиморфизма в подростковых популяциях Восточной Сибири отсутствуют. Вместе с тем знания о частотах минорной А-аллели в подростковых популяциях позволит прогнозировать риск ранней реализации тромботических осложнений в изучаемых популяциях.

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Изучить распространенность генотипов и аллелей полиморфного локуса (-455)G>A гена β-цепи

фибриногена (*FGB*) в русской и бурятской популяциях Восточной Сибири, а также провести сравнительный анализ частотных характеристик представленного полиморфного локуса в изучаемых этнических выборках с аналогичными данными в других популяциях мира.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В работе использована база крови и ДНК, включающая детей и подростков I и II групп здоровья, проживающих на территории Восточной Сибири русской (77 человек) и бурятской (78 человек) национальности. Средний возраст исследуемых составил $16,4 \pm 3,1$ года. Материалом для исследования служили образцы выделенной ДНК, венозной крови и сухие капли крови. При формировании выборки учитывалась этничность и проживание пробанда в конкретном географическом регионе не менее трех поколений. Все подростки и их родители родились и проживали на территории Иркутской области. В работе с группами подростков соблюдались этические принципы, предъявляемые Хельсинской Декларацией Всемирной медицинской ассоциации (World Medical Association Declaration of Helsinki (1964, 2000 ред.)).

Генотипирование проводилось с помощью ПЦР-амплификации с детекцией в режиме реального времени. Статистическая обработка результатов исследования была проведена с помощью онлайн-программы «Hardy – Weinberg equilibrium calculator» (OEGE). Сравнительный анализ проведен с использованием z-критерия Фишера. Различия считали значимыми при $p < 0,05$. Все статистические

расчеты сравнительного анализа производились с использованием программы «STATISTICA 8.0».

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Генотипирование выборки русской популяции по полиморфному локусу $(-455)G>A$ гена фибриногена выявило три генотипа: GG, GA и AA. Частота гомозиготы GG составила 55,8 %; гетерозиготы GA – 32,5 %; частота минорной гомозиготы – 11,7 %. Распределение аллелей в популяции было следующим: G-аллель – 72,0 % и 28,0 % для минорной A-аллели.

В результате генотипирования выборки бурятской популяции по полиморфному локусу $(-455)G>A$ также выявлено три генотипа: GG, GA и AA. Частота гомозиготы GG составила 61,5 %; гетерозиготы GA – 29,5 %; частота минорной гомозиготы – 9,0 %. Распределение аллелей в популяции было следующим: G-аллель – 76,3 % и 23,7 % для минорной A-аллели (табл. 1).

Распределение генотипов по полиморфному локусу $(-455)G>A$ гена FGB в группе русских и бурят

соответствовало равновесию Харди – Вайнберга (русские: $\chi^2 = 2,88$; $p < 0,05$. буряты: $\chi^2 = 2,67$; $p < 0,05$). Сопоставление частот генотипов и аллелей между изучаемыми выборками не выявило статистически значимых различий: $p = 0,740$ и $p = 0,541$, соответственно.

На следующем этапе работы проведен сравнительный анализ полученных результатов с аналогичными данными мировых исследователей (табл. 2).

Как видно из представленной таблицы, статистически значимые различия распространенности минорной аллели полиморфного локуса $(-455)G>A$ выявлены с популяцией индейцев Кечуа [8], как для подростков русской этногруппы, так и для популяции подростков бурятской этногруппы.

Таким образом, в нашей работе впервые изучена относительная распространенность минорной аллели A полиморфного локуса $(-455)G>A$ гена фибриногена среди подростков русской и бурятской национальности, проживающих на территории Восточной Сибири. В выборке подростков русской популяции распространенность составила 28,0 %,

Таблица 1

Распределение частот генотипов и аллелей полиморфного локуса $(-455)G>A$ гена FGB

Генотипы и аллели	Русские (n = 77)		Буряты (n = 78)	
	Абсолютное число	Частота (%)	Абсолютное число	Частота (%)
GG	43	55,8	48	61,5
GA	25	32,5	23	29,5
AA	9	11,7	7	9,0
G	111	72,0	119	76,3
A	59	28,0	37	23,7
Соответствие равновесию закона Харди – Вайнберга (χ^2)	2,88 ($p < 0,05$)		2,67 ($p < 0,05$)	

Примечание: n – численность выборки; p – значимость различий.

Таблица 2

Распространенность минорной A-аллели полиморфного локуса $(-455)G>A$ гена FGB в различных этнических группах мира и их сравнительный анализ с распространенностью данной аллели в исследуемых выборках

Популяция	Численность выборки	Частоты аллелей (%)		p	
		Аллель A	Аллель G	русские	буряты
Европейцы [Rupert, 1999]	62	16,0	84,0	0,0952	0,2624
Испанцы [Ng, 2004]	790	19,5	80,5	0,0768	0,3755
Китайцы [Ng, 2004]	414	28,0	72	1,0	0,4347
Индейцы Na-Dene [Rupert, 1999]	100	16,0	84,0	0,0545	0,1989
Индейцы Quechua [Rupert, 1999]	120	2,0	98,0	<0,0001	<0,0001
Русские (Новосибирск) [Щепотина, 2013]	104	28,8	71,2	0,9063	0,4421
Поляки [Oszejka, 2012]	136	26,8	73,2	0,8503	0,6178
Словенцы [Madjunkova, 2012]	264	26,9	73,1	0,8487	0,5725
Македонцы [Madjunkova, 2012]	71	29,5	70,5	0,8406	0,4241
Албанцы [Madjunkova, 2012]	106	25,0	75,0	0,6495	0,8395
Настоящее исследование					
Русские	77	28,0	72,0	–	0,5418
Буряты	78	23,7	76,3	0,5418	–

Примечание: p – значимость различий.

среди подростков бурятской популяции – 23,7 % ($p < 0,05$). Сравнительный анализ распространенности мутантной аллели А полиморфизма (-455)G>A гена *FGB* исследованных выборок с аналогичными данными в других популяциях мира указывает на наличие значимых различий встречаемости минорной аллели в сравнении с популяцией индейцев Кечуа [8].

Работа выполнена при поддержке Гранта Президента РФ «Ведущая научная школа» НШ – 5646. 2014.7.

ЛИТЕРАТУРА

1. Агапкина Ю.В. Полиморфные маркеры генов-кандидатов и генетическая предрасположенность к неблагоприятному исходу у больных, перенесших острый коронарный синдром: автореф. дис. ... канд. биол. наук. – М., 2010. – С. 13–15.

Agapkina Yu.V. Polymorphic markers of candidate genes and genetic predisposition to adverse outcome in patients with acute coronary syndrome: abstract of dissertation of Candidate of Biological Sciences. – Moscow, 2010. – P. 13–15. (in Russian)

2. Колесникова Л.И., Долгих В.В., Баирова Т.А., Бимбаев А.Б. Ген эндотелиальной синтазы окиси азота и эссенциальная артериальная гипертензия у подростков разных этнических групп, проживающих на территории Республики Бурятия // Бюл. СО РАМН. – 2009. – № 6. – С. 109–115.

Kolesnikova L.I., Dolgikh V.V., Bairova T.A., Bimbayev A.B. The endothelial nitric oxide synthase gene and essential arterial hypertension of teenagers in different ethnic gradation living in the republic of Buryatia // Bjul. SO RAMN. – 2009. – N 6. – P. 109–115. (in Russian)

3. Щепотина Е.Г., Прасолова М.А., Иванов М.К. Новые наборы реагентов для выявления однонуклеотидных полиморфизмов генов фолатного цикла и системы свертывания крови // Новости «Вектор-Бест», информационный бюллетень. – 2013. – № 2. – С. 7.

Shchepotina E.G., Prasolova M.A., Ivanov M.K. New sets of reagents for the detection of single nucleotide polymorphisms of the folate cycle and the blood coagulation system // Novosti "Vektor-Best". – 2013. – N 2 (68). – P. 7. (in Russian)

4. Fibrinogen Beta Chain/Gene Cards [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.genecards.org/cgi-bin/carddisp.pl?gene=FGB&search=d436adeaeb56e877a12226260dede661>

5. Madjunkova S., Volk M., Peterlin B., Plaseska-Karanfilska D. Detection of thrombophilic mutations related to spontaneous abortions by a multiplex SNaPshot method // Genet. Test Mol. Biomarkers. – 2012. – N 16 (4). – P. 259–264.

6. Ng M.C., Wang Y., So W.Y., Cheng S. et al. Ethnic differences in the linkage disequilibrium and distribution of single-nucleotide polymorphisms in 35 candidate genes for cardiovascular diseases // Genomics. – 2004. – N 83. – P. 559–565.

7. Oszejka K., Wroński K., Janiszewska G., Bieńkiewicz M. et al. Association analysis of genetic polymorphisms of factor V, factor VII and fibrinogen β chain genes with human abdominal aortic aneurysm // Experimental and Therapeutic Medicine. – 2012. – N 4 (3). – P. 514–518.

8. Rupert J.L., Devine D.V., Monsalve M.V., Hochachka P.W. Beta-fibrinogen allele frequencies in Peruvian Quechua, a high-altitude native population // Am. J. Phys. Anthropol. – 1999. – N 109. – P. 181–186.

Сведения об авторах

Сенькина Александра Юрьевна – врач-интерн Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека
Баирова Татьяна Ананьевна – доктор медицинских наук, руководитель лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека
Колесников Сергей Иванович – академик РАН, советник РАН (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16)
Калужная Ольга Викторовна – младший научный сотрудник лаборатории клинической генетики Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека

Information about the authors

Senkina Aleksandra Yuryevna – Internship Doctor of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems
Bairova Tatyana Ananyevna – Doctor of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems
Kolesnikov Sergei Ivanovich – Academician of RAS, counsellor of RAS (Timiryazeva str., 16, Irkutsk, 664003)
Kaluzhnaya Olga Victorovna – Junior Research Officer of the Laboratory of Clinical Genetics of Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems

РАЗНОЕ

УДК 159.946.4

О.В. Кузева ^{1, 2}, А.А. Романова ¹, А.А. Корнеев ³, Т.В. Ахутина ³НЕЙРОПСИХОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ОСОБЕННОСТЕЙ СТАНОВЛЕНИЯ
ГРАФОМОТОРНЫХ НАВЫКОВ У МЛАДШИХ ШКОЛЬНИКОВ¹ Центр психолого-педагогической помощи «Юго-Запад» (Москва)² Московский городской психолого-педагогический университет (Москва)³ Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова (Москва)

Функции серийной организации движений и действий и их роль в формировании и развитии графомоторных навыков (в частности, письма) у младших школьников (193 ученика 1-х и 3-х классов) исследовались с помощью традиционных нейропсихологических и новых компьютерных проб. Это позволило проследить процессы автоматизации графомоторного навыка в норме и описать специфические сложности осуществления графомоторной деятельности у детей с трудностями обучения.

Ключевые слова: детская нейропсихология, серийная организация движений и действий, автоматизация навыка, графомоторная деятельность, письмо

NEUROPSYCHOLOGICAL ANALYSIS OF PECULIARITIES OF FORMATION
OF GRAPHOMOTOR SKILLS IN PRIMARY SCHOOL CHILDRENO.V. Kuzeva ¹, A.A. Romanova ¹, A.A. Korneev ², T.V. Akhutina ²¹ Centre of Psychological and Pedagogical Aid "Yugo-Zapad", Moscow² Moscow Municipal Psychological and Pedagogical University, Moscow³ Lomonosov Moscow State University, Moscow

Functions of serial organization of movements and actions and their role in the formation and development of graphomotor skills (writing in particular) in primary school children (193 pupils of 1st and 3^d grades) were investigated using traditional neuropsychological and new computerized methods. It allowed to trace the processes of automatization of graphomotor skill in normally developed children and to describe specific difficulties of graphomotor activity in children with learning disabilities.

Key words: children neuropsychology, serial organization of movements and actions, automatized skill, graphomotor activity, writing

ВВЕДЕНИЕ

Формирование двигательного навыка – сложный процесс. Если новая серия движений состоит из отдельных произвольно контролируемых звеньев, то по мере автоматизации движения произвольный контроль за исполнением каждого из звеньев снижается, темп выполнения движений увеличивается, количество ошибок уменьшается (Берштейн Н.А., 1947; Курганский А.В., Григал П.П., 2009; Duchene R. et al., 1991; Volman M., 1997). Автоматизация графомоторных навыков подчиняется тем же законам. Для того чтобы простейшие графомоторные навыки со временем превратились в сложную функциональную систему письма, необходим достаточный уровень развития всех структурно-функциональных компонентов ВПФ и в особенности «передних» функций – функций программирования и контроля и серийной организации движений (Лурия А.Р., 1969; Ахутина Т.В., 2001 и др.).

Исследователи отмечают, что при нормативном развитии показателями сформированности письменного навыка являются: отсутствие поэлементной

сознательной регуляции и контроля, ритмичность и плавность выполнения, значительное увеличение скорости письма (Бернштейн Н.А., 1947; Лурия А.Р., 1950; Безруких М.М., Любомирский Л.Е., 2000; Боркова Т.Н., Орлова Н.Т., 2003; Сальникова Т.П., 2007; Overvelde A., Hulstijn W., 2010). В случае трудностей формирования двигательного навыка письмо детей характеризуется замедленным темпом, высокой энергоемкостью, наличием специфических ошибок по типу упрощения, искажения программы, инертности (Ахутина Т.В., 2001). Данные затруднения без специальной коррекционной помощи сохраняются надолго, и это еще больше осложняет процесс обучения. Понимание природы и специфики нормального формирования и нарушений в развитии графомоторных навыков может способствовать разработке коррекционно-развивающих программ, позволяющих преодолевать затруднения в обучении таких детей.

Таким образом, **целью** нашего исследования является изучение особенностей становления графомоторных навыков и влияния состояния функций

III блока мозга на процесс автоматизации этих навыков у детей в норме и с трудностями обучения.

ВЫБОРКА

В исследовании участвовало 193 ученика 1-х и 3-х классов. Первоклассники – 104 человека (48 мальчиков, 56 девочек; средний возраст – 7,8 лет), из них 70 детей с успешной адаптацией к школе, с нормативным развитием (далее – группа нормы) и 34 ребенка с трудностями в обучении, которые, по данным опроса учителей, испытывали трудности в освоении основных школьных предметов: математики, письма, чтения (далее – группа ТО). Третьеклассники – 89 человек (36 мальчиков, 53 девочки; средний возраст – 9,7 лет), из них 62 ребенка с нормативным развитием, 27 детей с ТО.

МЕТОДЫ

Для оценки состояния высших психических функций (ВПФ) у всех детей было проведено полное нейропсихологическое обследование (Ахутина Т.В. с соавт., 2008), по результатам которого рассчитывались интегральные показатели (нейропсихологические индексы), отражающие состояние структурно-функциональных компонентов трех блоков мозга: индексы программирования и контроля, серийной организации движений и действий, кинестетический, слухоречевой, зрительный, зрительно-пространственный, энергетический индексы. Методика подсчета индексов представлена в ряде публикаций (Ахутина Т.В. с соавт., 2000, 2012). Вычисление нейропсихологических индексов позволило количественно представить состояние структурно-функциональных компонентов ВПФ у всех групп испытуемых.

Экспериментальный метод: компьютеризированный вариант графомоторной пробы («забор») – последовательное изображение элементов $\square \nabla \square \backslash$. Проба выполнялась в двух вариантах: 1) пером, которое оставляет след на бумаге (далее «со следом»); 2) пером, которое не оставляет след (далее – «без следа»). Для обоих субтестов использован графический планшет, подключенный к компьютеру, что позволило фиксировать процесс выполнения в реальном времени. В обработку вошли следующие параметры:

- среднее время выполнения элемента (в мс);
- суммарная тяжесть регуляторных ошибок – сумма штрафных баллов, нормированная относительно

количества выполненных каждым испытуемым серий узора, полученная за следующие виды регуляторных ошибок: 1) «площадка» (горизонтальная линия внизу между элементами узора) с самокоррекцией – 2 балла; 2) «площадка» без самокоррекции – 3 балла; 3) расширение программы (введение в узор дополнительных элементов) – 4 балла; 4) персеверация с самокоррекцией – 5 баллов; 5) персеверация без самокоррекции – 6 баллов.

Статистическая обработка включала дисперсионный анализ для повторных измерений с одним внутригрупповым фактором «Проба» и двумя межгрупповыми – «Класс» и «Группа».

РЕЗУЛЬТАТЫ

Анализ результатов нейропсихологического обследования показал (табл. 1):

1) у первоклассников и третьеклассников обнаружены значимые различия по всем нейропсихологическим индексам, отражающим состояние функций III и II блоков мозга (во всех случаях $p < 0,05$) и субзначимые различия в состоянии функций I блока мозга ($p = 0,058$) преимущественно за счет первоклассников группы ТО, показатели которых по этому параметру сравнительно хуже остальных групп испытуемых;

2) значимо худшие результаты по всем нейропсихологическим индексам у групп ТО, в сравнении с детьми с нормативным развитием (во всех случаях $p < 0,001$);

Обнаружены статистически значимые корреляции нейропсихологических показателей (индексов) с параметрами выполнения графомоторной пробы в группе в целом. Так, в пробе «со следом» параметр времени значительно коррелирует с индексом программирования и контроля и с индексом серийной организации движений и действий, а суммарная тяжесть регуляторных ошибок – с индексом серийной организации движений и действий. В пробе «без следа» обнаруживаются значимые корреляции обоих параметров с индексом программирования и контроля и индексом серийной организации движений (во всех случаях $p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о том, что параметры компьютеризированной графомоторной пробы соответствуют оценкам функций III блока мозга: состояния функций серийной организации движений и действий и функций программирования и контроля деятельности. Таким образом, две версии компьютеризированной графомоторной пробы могут быть использованы для оценки функций III блока мозга.

Таблица 1

Корреляции параметров графомоторной пробы с нейропсихологическими индексами

Показатель		Субтест «со следом»		Субтест «без следа»	
		Время выполнения серии узора	Суммарная тяжесть рег. ошибок	Время выполнения серии узора	Суммарная тяжесть рег. ошибок
Индекс программирования и контроля	Коэф. корреляции	0,216**	0,143	0,299**	0,235**
	Знач. (2-сторон.)	0,006	0,070	0,000	0,003
Индекс серийной организации движений и действий	Коэф. корреляции	0,321**	0,200**	0,281**	0,232**
	Знач. (2-сторон.)	0,000	0,009	0,000	0,003

Таблица 2

Результаты выполнения графомоторной пробы

Показатель	Среднее время выполнения элемента (субтест «со следом»)			Среднее время выполнения элемента (субтест «без следа»)			Суммарная тяжесть регуляторных ошибок (субтест «со следом»)			Суммарная тяжесть регуляторных ошибок (субтест «без следа»)		
	Норма	ТО	Всего	Норма	ТО	Всего	Норма	ТО	Всего	Норма	ТО	Всего
1-й класс												
Ср. знач.	5502	6027	5675	4739	5297	4923	0,64	0,99	0,76	0,27	0,52	0,35
Стд. откл.	1525	1786	1625	1245	1299	1284	0,81	1,38	1,04	0,32	0,61	0,45
3-й класс												
Ср. знач.	3625	5035	4046	3164	3946	3397	0,10	0,28	0,15	0,16	0,26	0,19
Стд. откл.	1177	1787	1522	908	1180	1054	0,24	0,61	0,39	0,23	0,27	0,25

Результаты сравнения результатов экспериментальной пробы у первоклассников и третьеклассников группы нормы и группы ТО представлены в таблице 2.

Анализ данных графомоторной пробы показывает значимое влияние следующих факторов:

- «Класс»: третьеклассники выполняют пробу быстрее и с меньшим количеством ошибок ($p < 0,001$ в обоих случаях);

- «Группа»: группа ТО выполняет задание значительно медленнее ($p < 0,001$) и с большим количеством ошибок ($p = 0,007$), чем их сверстники, успешные в обучении;

- «Проба»: первый субтест «со следом» дети выполняют медленнее ($p < 0,001$) и в целом делают больше ошибок ($p < 0,001$), а ошибки в пробе «со следом» представлены преимущественно в результатах 1-го класса, что объясняет значимое влияние взаимодействий факторов «Проба» и «Класс» ($p < 0,001$).

Первоклассники группы нормы выполняют первый субтест в замедленном темпе со средним количеством ошибок. Во втором субтесте время выполнения и количество ошибок значительно снижаются ($p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента в обоих случаях), что говорит о значительной автоматизации графомоторного навыка. В группе ТО по мере автоматизации навыка время выполнения и количество ошибок также уменьшаются, однако, в сравнении с первоклассниками с нормативным развитием, автоматизация у них происходит менее успешно: различия обоих показателей в первой и второй пробе оказываются сниженными (не значимыми). Сравнение группы нормы и ТО в 1-м классе показало, что время выполнения элемента узора значительно различается в субтесте «без следа» ($p = 0,041$ по t-критерию Стьюдента), а количество ошибок, напротив, значительно различается в первом субтесте «со следом» ($p = 0,032$). Таким образом, в выполнении задания обеими группами первоклассников немаловажную роль играет процесс автоматизации, однако в группе ТО он затруднен.

У третьеклассников группы нормы в обоих субтестах отмечается высокий темп выполнения задания и минимальное количество ошибок. В группе ТО в первом субтесте темп выполнения замедленный, по мере автоматизации навыка во втором субтесте «без следа» темп увеличивается (отличие значимо на уровне

$p < 0,001$ по t-критерию Стьюдента), а количество ошибок остается стабильно средним. Оба параметра, тем не менее, отличаются от нормативного выполнения: время выполнения значительно различается в двух группах в обоих субтестах (на уровне $p = 0,001$ в обоих случаях), а различия в количестве ошибок достигают субзначимого уровня ($p = 0,085$ и $p = 0,052$ в первом и втором субтестах соответственно). Таким образом, результаты показывают, что третьеклассники с нормативным развитием легко справляются с обоими субтестами, а у детей группы ТО отмечаются затруднения в автоматизации графомоторного навыка, которые могут быть связаны со снижением в развитии функций серийной организации движений.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное нами нейропсихологическое обследование позволило выявить особенности формирования структурно-функциональных компонентов ВПФ у детей с нормативным развитием и с трудностями овладения базовыми школьными навыками. Была обнаружена возрастная динамика от 1-го к 3-му классу, выразившаяся в значимых различиях состояния функций III и II блоков мозга учащихся 1-х и 3-х классов. Сравнение детей с нормативной успешностью в школе и детей с трудностями обучения, отмечаемыми учителями, показало у детей с ТО снижение показателей всех трех блоков мозга. Полученные данные согласуются с результатами исследования (Ахутина Т.В., 2001).

Обнаруженные значимые корреляции параметров выполнения пробы с нейропсихологическими показателями, отражающими состояние функций программирования, регуляции и контроля и функций серийной организации движений и действий, позволяют говорить о том, что используемый в нашем исследовании компьютеризированный метод (модификация графомоторной пробы) может применяться для оценки состояния данных функций.

Выполнение двух вариантов графомоторной пробы позволило проследить за процессом автоматизации графомоторного навыка у учащихся 1-х и 3-х классов с нормативным развитием и с трудностями в обучении. Было выявлено, что у детей группы ТО в 1-м классе автоматизация графомоторного навыка проходит менее успешно, чем у их нормально разви-

вающихся сверстников. Дети этой группы выполняют оба субтеста в замедленном темпе, что может быть связано как с комплексным снижением в развитии когнитивных процессов (в особенности функций III блока мозга), так и со слабостью нейродинамических характеристик, которые еще больше «нагружаются» при выполнении сложной и энергоемкой для первоклассников графомоторной деятельности. Больше, чем в норме, количество специфических ошибок, в особенности наиболее грубых (таких, как расширение программы, персеверации), которые в целом свидетельствуют о снижении функций III блока мозга, также является показателем трудностей автоматизации навыка в группе первоклассников с трудностями в обучении.

К 3-му классу у всех детей отмечаются положительные изменения в развитии и возможности автоматизации графомоторного навыка. Группа нормы показывает положительную динамику как в скорости, так и в качестве выполнения заданий. У детей группы ТО динамика парциальна: скорость выполнения ко второму субтесту увеличивается, а качество остается посредственным (стабильное количество регуляторных ошибок). Оба показателя у детей группы ТО по-прежнему значимо отстают от группы с нормативным развитием. Сходные данные были получены в ряде других исследований (Rosenblum S. et al., 2001; Hooper S.R. et al., 2002; Berninger V., 2004; Overvelde A., Hulstijn W., 2011). Таким образом, у детей с трудностями в обучении с возрастом сложности автоматизации графомоторного навыка не проходят, сохраняясь на долгое время. Напомним, что наше исследование показало в целом отставание в развитии нейропсихологических факторов у третьеклассников группы ТО в сравнении с нормой (значимые различия для функций III и II блоков мозга и субзначимые для функций I блока мозга). Это позволяет предполагать, что преодоление трудностей автоматизации графомоторного навыка (прежде всего письма) должно начинаться с формирования и развития основ когнитивной деятельности – структурно-функциональных компонентов ВПФ, причем «учебная» нагрузка должна быть оптимальной для ребенка и учитывать особенности развития энергетических компонентов деятельности. Чрезмерные тренировки и постоянное повторение однотипного материала (например, многочисленное написание одного и того же слова в течение длительного времени) не только не способствуют, но и могут навредить развитию ребенка: помимо ненужной таким детям нагрузки энергетических функций, подобные занятия не способствуют развитию регуляторных процессов и плавности переключения, а полученный навык написания слова, буквы или элемента с трудом распространяется на письмо в целом.

В целом результаты исследования показывают поступательное развитие способности к формированию графомоторных навыков у младших школьников от 1-го к 3-му классу, но у детей с ТО, несмотря на наблюдаемый прогресс, отставание от успешных третьеклассников не уменьшается, а становится более заметным на фоне достижений их сверстников.

В связи с этим выявление трудностей на ранних этапах является важным этапом в оказании помощи детям, испытывающим сложности в графомоторной деятельности.

Детальный нейропсихологический анализ полученных данных будет продолжен.

ВЫВОДЫ

1. Компьютеризированный вариант графомоторной пробы может быть использован для диагностики функций серийной организации движений и действий и функции программирования и контроля.
2. Учащиеся в 3-м классе выполняют графомоторную пробу быстрее и качественнее, чем первоклассники. У детей с трудностями в обучении, у которых отмечается снижение функций программирования и контроля и серийной организации движений, развитие графомоторного навыка снижено, автоматизация графомоторных движений затруднена.
3. С возрастом у детей ТО сложности в развитии и автоматизации графомоторного навыка накапливаются, что может способствовать возникновению стойких нарушений письма.

ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Ахутин Т.В. Трудности письма и их нейропсихологическая диагностика // Письмо и чтение: трудности обучения и коррекция / Под ред. О.Б. Иншаковой. – М.: МПСИ, 2001. – С. 7–20.
- Akhutina T.V. Writing difficulties and their neuropsychological diagnostics // Pismo i chtenie: trudnosti obuchenija i korrekcija / Ed. by O.B. Inshakova. – Moscow, 2001. – P. 7–20. (in Russian)
2. Ахутин Т.В., Матвеева Е.Ю., Романова А.А. Применение лурьевского принципа синдромного анализа в обработке данных нейропсихологического обследования детей с отклонениями в развитии // Вестник Моск. ун-та. Сер. 14. Психология. – 2012. – № 2. – С. 84–95.
- Akhutina T.V., Matveeva E.Yu., Romanova A.A. Application of the Luria's principles of syndromic analysis in data processing of neuropsychological study of children with developmental disabilities // Vestnik Mosk. un-ta. Ser. 14. Psihologija. – 2012. – N 2. – P. 84–95. (in Russian)
3. Ахутин Т.В., Яблокова Л.В., Полонская Н.Н. Нейропсихологический анализ индивидуальных различий у детей: параметры оценки // Нейропсихология и психофизиология индивидуальных различий / Под ред. Е.Д. Хомской, В.А. Москвина. – Москва – Оренбург, 2000. – С. 132–152.
- Akhutina T.V., Yablokova L.V., Polonskaya N.N. Neuropsychological analysis of individual differences in children: evaluation parameters // Nejropsihologija i psihofiziologija individual'nyh razlichij / Ed. by E.D. Khomskaia, V.A. Moskvina. – Moscow – Orenburg, 2000. – P. 132–152. (in Russian)
4. Безруких М.М., Любомирский Л.Е. Возрастные особенности организации и регуляции произвольных движений у детей и подростков // Физиология развития ребенка. – 2000. – 319 с.
- Bezrukikh M.M., Lyubomirsky L.E. Age peculiarities of the organization and regulation of voluntary movements

of children and adolescents // *Fiziologija razvitiya rebenka*. – 2000. – 319 p. (in Russian)

5. Бернштейн Н.А. О построении движений. – М.: Медгиз, 1947. – 450 с.

Bernstein N.A. To the motion synthesis. – Moscow: Medgiz, 1947. – 450 p. (in Russian)

6. Боркова Т.Н., Орлова Н.Т. Однотипные движения в почерке. – М.: Белый город, 2003.

Borkova T.N., Orlova N.T. Homotypic movements in handwriting. – Moscow: Belyj gorod, 2003.

7. Курганский А.В., Григал П.П. Выполнение серий движений, задаваемой последовательностью сенсорных сигналов. Индивидуальные различия в характере начальной стадии серийного научения // *Ж. высшей нервной деятельности*. – 2009. – Т. 59, № 5. – С. 540–552.

Kurganskiy A.V., Grigal P.P. Performing series of movements defined by the sequence of sensory signals. Individual differences in the character of the initial stage of serial learning // *Zh. vysshej nervnoj dejatel'nosti*. – 2009. – Vol. 59, N 5. – P. 540–552. (in Russian)

8. Лурия А.Р. Очерки психофизиологии письма. – М., 1950. – 84 с.

Luria A.R. Essays on the psychophysiology of writing. – Moscow, 1950. – 84 p. (in Russian)

9. Нейropsychологическая диагностика, обследование письма и чтения / Под ред. Т.В. Ахутиной, О.Б. Иншаковой. – М.: В. Секачев, 2008. – 132 с.

Neuropsychological diagnostics, research of writing and reading / Ed. by T.V. Akhutina, O.B. Inshakova. – Moscow: V. Sekachev, 2008. – 132 p. (in Russian)

10. Сальникова Т.П. Педагогические технологии. – М.: ТЦ Сфера, 2007. – 128 с.

Salnikova T.P. Pedagogical technologies. – Moscow: TC Sfera, 2007. – 128 p. (in Russian)

11. Berninger V. Understanding the graphia in developmental dysgraphia: A developmental neuropsychological perspective for disorders in producing written language // *Developmental motor disorders: A neuropsychological perspective* / Ed. by D. Dewey, D.E. Tupper. – N.-Y.: The Guilford Press, 2004. – P. 189–233.

12. Duchene R., Ramaekers G., Njokiktien C., Vranken M. Sensorymotor development II: Bimanual movements as a timed manoeuvre // *Pediatric behavioral neurology* / Ed. by G. Ramaekers, C. Njokiktien. – Amsterdam: Suyi Publications, 1991. – Vol. 3. – P. 129–162.

13. Hooper S.R., Swartz C.W., Wakely M.B. et al. Executive functions in elementary school children with and without problems in written expression // *J. Learning Disabil.* – 2002. – Vol. 35 (1). – P. 57–68.

14. Overvelde A., Hulstijn W. Handwriting development in grade 2 and grade 3 primary school children with normal, at risk, or dysgraphic characteristics // *Research in Developmental Disabilities*. – 2011. – Vol. 32. – P. 540–548.

15. Rosenblum S., Parush S., Weiss P. Temporal measures of poor and proficient handwriters // *Proceedings of the Tenth biennial conference of the International Graphonomics Society*. – Nijmegen: University of Nijmegen, 2001. – P. 119–125.

16. Volman M. Rhythmic coordination dynamics in children with and without a developmental coordination disorder. – 1997.

Сведения об авторах

Кузева Ольга Владимировна – педагог-психолог Центра психолого-педагогической помощи «Юго-Запад» (117342, г. Москва, ул. Генерала Антонова, д. 5А; тел.: 8 (495) 334-49-97; e-mail: xelgakyz@gmail.com)

Романова Антонина Александровна – кандидат психологических наук, педагог-психолог Центра психолого-педагогической помощи «Юго-Запад»

Корнеев Алексей Андреевич – кандидат психологических наук, старший научный сотрудник лаборатории нейропсихологии факультета психологии Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Ахутина Татьяна Васильевна – доктор психологических наук, профессор, заведующая лабораторией нейропсихологии факультета психологии Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова

Information about the authors

Kuzeva Olga Vladimirovna – education psychologists of the Centre of Psychological and Pedagogical Aid “Yugo-Zapad” (General Antonova str., 5A, Moscow, 117342; tel.: +7 (495) 334-49-97; e-mail: xelgakyz@gmail.com)

Romanova Antonina Aleksandrovna – Candidate of Psychological Sciences, education psychologists of the Centre of Psychological and Pedagogical Aid “Yugo-Zapad”

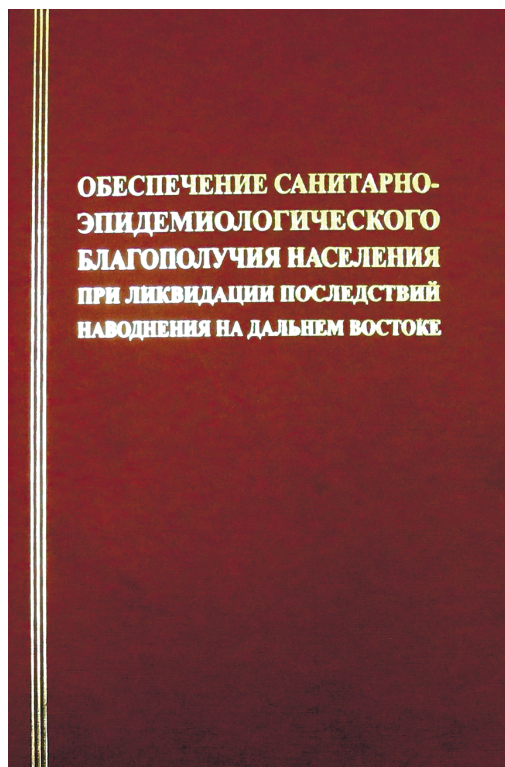
Korneev Alexey Andreevich – Candidate of Psychological Sciences, Senior Research Officer of the Laboratory of Neuropsychology of the Faculty of Psychology of Lomonosov Moscow State University

Akhutina Tatyana Vasilyevna – Doctor of Psychological Sciences, professor, Head of the Laboratory of Neuropsychology of the Faculty of Psychology of Lomonosov Moscow State University

ИНФОРМАЦИЯ

М.Ф. Савченков

РЕЦЕНЗИЯ НА МОНОГРАФИЮ «ОБЕСПЕЧЕНИЕ САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО БЛАГОПОЛУЧИЯ НАСЕЛЕНИЯ ПРИ ЛИКВИДАЦИИ ПОСЛЕДСТВИЙ НАВОДНЕНИЯ НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ» (ПОД РЕД. Г.Г. ОНИЩЕНКО, С.В. БАЛАХОНОВА)



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ
В СФЕРЕ ЗАЩИТЫ ПРАВ ПОТРЕБИТЕЛЕЙ
И БЛАГОПОЛУЧИЯ ЧЕЛОВЕКА
ИРКУТСКИЙ ОРДЕНА ТРУДОВОГО КРАСНОГО ЗНАМЕНИ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ПРОТИВОЧУМНЫЙ ИНСТИТУТ
СИБИРИ И ДАЛЬНЕГО ВОСТОКА

ОБЕСПЕЧЕНИЕ
САНИТАРНО-ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКОГО
БЛАГОПОЛУЧИЯ НАСЕЛЕНИЯ
ПРИ ЛИКВИДАЦИИ
ПОСЛЕДСТВИЙ НАВОДНЕНИЯ
НА ДАЛЬНЕМ ВОСТОКЕ

Под редакцией
академика РАН, доктора медицинских наук, профессора Г.Г. Онищенко,
доктора медицинских наук, профессора С.В. Балахонova

Новосибирск
«Наука-Центр»
2014

В 2014 г. в издательстве «Наука-Центр» (г. Новосибирск) издана коллективная монография под редакцией Г.Г. Онищенко и С.В. Балахонova «Обеспечение санитарно-эпидемиологического благополучия населения при ликвидации последствий наводнения на Дальнем Востоке», на 648 страницах которой проанализирован опыт организации комплекса санитарно-профилактических и противоэпидемических мероприятий, проведенных территориальными учреждениями и мобильными формированиями Роспотребнадзора в период катастрофического паводка в Приамурье летом-осенью 2013 г.

Монография явилась результатом плодотворной работы большого авторского коллектива специалистов Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Иркутского научно-исследовательского противочумного института Сибири и Дальнего Востока, Управлений Роспотребнадзора по Амурской области, Хабаровскому краю и Еврейской автономной области, центров гигиены и эпидемиологии и департаментов здравоохранения в этих субъектах, Хабаровского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии, Хабаровской противочумной станции, Амурского центра по гидрометеорологии и мониторингу окружающей среды, Научно-исследовательского института пульмонологии Федерального медико-биологического агентства.

Книга предназначена для широкого круга специалистов медицинского профиля, деятельность которых связана с обеспечением биологической безопасности населения России, а также будет полезна для представителей органов власти, задействованных в ликвидации санитарно-эпидемиологических последствий чрезвычайных ситуаций различного характера.

Несомненно, что чрезвычайные ситуации (ЧС), наряду с экономическим ущербом и влиянием на экологию регионов, создают предпосылки для осложнения санитарно-эпидемиологической обстановки. Это обуславливает необходимость постоянной готовности государственных служб страны к принятию оперативных ответных мер, основанных на четком межведомственном взаимодействии. В современных условиях возрастает роль мобильных формирований Роспотребнадзора и других служб медико-санитарного профиля в проведении экстренных мероприятий по поддержанию санитарно-эпидемиологического благополучия в зонах ЧС природного и техногенного характера, а также гуманитарных катастроф. Немаловажную роль при этом играют специализированные противоэпидемические бригады (СПЭБ) противочумных учреждений.

В книге обобщен опыт тактики использования СПЭБ в виде отдельных групп лабораторного усиления, а также полноштатных формирований, на основе пневмокаркасных модулей и специализированного авто-транспорта, оснащенных высокотехнологичным лабораторным оборудованием, современными средствами коммуникации, развертываемых в кратчайшие сроки в любом субъекте Российской Федерации. Несомненным достоинством книги является обобщение, систематизация материалов, изложение алгоритма межведомственного взаимодействия, учитывающего особенности организации эпидемиологического надзора за инфекционными болезнями и эпизоотологического обследования на подтопленных и прилегающих к ним территориях в условиях ЧС и в послепаводковый период. Изложен опыт организации и проведения эффективных надзорных мероприятий в местностях, где возникает угроза осложнений эпидемиологической и санитарно-гигиенической обстановки по природно-очаговым инфекциям.

Затронутые авторами вопросы, несмотря на несомненную их актуальность, не нашли еще в настоящее время должного отражения в отечественной научной литературе и практических руководствах, посвященных проблеме санитарно-гигиенического и противоэпидемического обеспечения благополучия населения в условиях ЧС. Это наглядно подтвердили события 2014 г., когда после паводков в республиках Горный Алтай, Тыва, Хакасия, Бурятия и в Алтайском крае оказались остро востребованы знания и опыт, приобретенные сотрудниками СПЭБ Иркутского научно-исследовательского противочумного института в период ликвидации возможных эпидемиологических осложнений в Приамурье.

Структурно монография состоит из предисловия, введения, четырех глав, заключения, библиографического списка литературы и 101 приложения. Книга иллюстрирована 53 таблицами, 94 рисунками, включающими графики, диаграммы, черно-белые и цветные фотографии. Особенно ценно то, что в обширном приложении (более 400 страниц) содержатся копии важнейших распорядительных и управленческих документов различного уровня (распоряжений, приказов, решений межведомственных комиссий, протоколов заседаний оперативных штабов, комплексных планов мероприятий и др.), подготовленных в период паводка на Амуре в учреждениях, сотрудниками которых являются соавторы монографии. Эти документы облегчают работу практических специалистов, т. к. отражают этапы планирования и выполнения мероприятий по обеспечению санитарно-эпидемиологического благополучия населения в условиях ЧС, координацию деятельности служб и ведомств.

Книга производит достойное впечатление по содержанию, качеству печати, художественному оформлению, информативности иллюстративного материала. Ее главным выводом является готовность учреждений Роспотребнадзора во взаимодействии с МЧС, МВД, МЗ РФ, Россельхознадзором и другими службами и ведомствами эффективно работать по предотвращению возникновения серьезных эпидемических осложнений в зоне стихийного бедствия по опасным, острым кишечным и природно-очаговым инфекционным болезням вирусной и бактериальной этиологии.

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕНИЯ СТАТЕЙ В «БЮЛЛЕТЕНЬ ВСНЦ СО РАМН»

Настоящие Правила разработаны на основании требований Гражданского кодекса РФ, Закона РФ «Об авторском праве и смежных правах» от 09.07.1993 г. № 5351-1 с изменениями от 19 июля 1995 г. и 20 июля 2004 г., Закона РФ «О средствах массовой информации» от 27.12.1991 г. № 2124-1 с последующими изменениями, требований Высшей аттестационной комиссии РФ и регулируют взаимоотношения между издательством в лице редакционной коллегии «Бюллетеня ВСНЦ СО РАМН», в дальнейшем именуемой «Редколлегия», и автором, передавшим свою статью для публикации в журнал, в дальнейшем именуемый «Автор».

Редколлегия «Бюллетеня ВСНЦ СО РАМН» просит внимательно ознакомиться с нижеследующими инструкциями по подготовке рукописей для публикации.

«Бюллетень ВСНЦ СО РАМН» публикует статьи по проблемам медико-биологической науки и практического здравоохранения, а также по смежным проблемам.

В журнале публикуются обзоры, оригинальные статьи, сообщения из практики, лекции, информационные сообщения. Все представленные материалы рецензируются и обсуждаются редакционной коллегией.

В журнал принимаются преимущественно статьи от авторов, знакомых с редакционной политикой и показывающие знание статей, публикуемых в журнале.

Рукопись статьи должна быть представлена в редакцию в электронном виде в формате текстового редактора Microsoft Word (шрифт Times New Roman 12 пт, межстрочный интервал «полуторный», размеры полей: левое – 30 мм, правое – 10 мм, верхнее и нижнее – каждое не менее 20 мм) вместе с отсканированным сопроводительным письмом направляющей организации, на котором находятся подписи всех авторов статьи, и, в необходимых случаях, экспертным заключением. Нельзя направлять в редакцию работы, напечатанные в иных изданиях или отправленные в иные издания. Статьи направляются по адресу: sikol@sbamsr.irk.ru. Датой поступления статьи считается время поступления окончательного (переработанного) варианта статьи.

Образец оформления рукописи статьи см. на сайтах <http://byulleten.com>, http://www.scrts.ru/byulleten_vsnets_so_ramn.

Таблиц должно быть не более 3–4 штук. При построении таблиц необходимо все пункты представлять отдельными строками. Буквы греческого алфавита в печатном варианте статьи должны быть подчеркнуты красным.

Иллюстрации выполняют в графических редакторах в виде чёрно-белых чётких файлов формата *.tif, *.jpg с разрешением не менее **300 dpi**. Если необходима печать в цветном формате, это указывается в ходатайстве.

Рисунки следует выполнять компактно в целях экономии места. Наиболее удобны для типографского воспроизведения рисунки шириной в одну колонку (до 8 см), две колонки (до 16,4 см) или во весь лист (16,4 × 25 см). Рисунки необходимо представлять в отдельных файлах.

Графики и диаграммы следует представлять отдельными файлами в программах, в которых они были построены (**Excel, Statistica, StatGraph** и т. д.).

К статье прилагаются сведения обо всех авторах (фамилия, имя, отчество, ученое звание, ученая степень, должность, полный почтовый адрес, рабочие телефоны (мобильный телефон необходим только для связи с одним из авторов статьи в случае внесения правок в статью – в журнале он не указывается), адрес электронной почты) с переводом всех данных на английский язык.

Первая страница включает: УДК, инициалы и фамилии авторов, название статьи, полное название учреждения (с привязкой к автору) с указанием статуса организации (аббревиатура перед названием), ведомственной принадлежности, почтового адреса, Ф.И.О. и адрес почты автора, ответственного за переписку, а также резюме.

Резюме должно отражать цель, методы, результаты исследования. Объем резюме – от 400 до 500 знаков. Обязательно в резюме указываются важнейшие числовые данные, отражающие главные достижения работы, а также приводятся статистические критерии, доказывающие их значимость. Резюме завершают «ключевые слова» (от 3 до 10), способствующие индексированию статьи в информационно-поисковых системах.

Резюме на английском языке призвано выполнять функцию независимого от статьи источника информации. Оно должно быть:

- информативным (не содержать общих слов);
- оригинальным (не быть калькой русскоязычной аннотации);
- содержательным (отражать основное содержание статьи и результаты исследований): текст должен быть лаконичен и четок, свободен от второстепенной информации, отличаться убедительностью формулировок;
- структурированным (следовать логике описания результатов в статье);
- «англоязычным» (должно быть написано грамотным английским языком);
- компактным (укладываться в объем от 100 до 250 слов).

При переводе на английский язык необходимо учитывать следующее:

- фамилии авторов статей представляется в одной из принятых международных систем транслитерации (к примеру, сайт <http://www.translit.ru>);
- заглавия научных статей должны быть информативными. В них можно использовать только общепринятые сокращения, не должно быть непереводаемого сленга, известного только русскоговорящим специалистам, никаких транслитераций с русского языка, кроме непереводаемых названий приборов и других объектов, имеющих собственные названия;
- при переводе названия учреждения используется общепринятый переводной вариант официального, без сокращений, названия организации;

Обычно объем оригинальных статей – 8 страниц, научного обзора литературы – 12–15 страниц, кратких сообщений – 1,5 страницы.

Структура оригинальной статьи: введение – формулируется цель и необходимость проведения исследования, кратко освещается состояние вопроса со ссылками на наиболее значимые публикации; материалы и методы – количественные и качественные характеристики обследованных (объектов исследования), а также упоминаются все методы исследований, применявшиеся в работе, включая статистическую обработку. Методика исследований должна быть описана очень четко, так, чтобы ее легко можно было воспроизвести.

Нужно указать, являются ли приводимые числовые значения первичными или производными, привести пределы точности, надежности, интервалы достоверности, оценки, рекомендации, принятые или отвергнутые гипотезы, обсуждаемые в статье.

Результаты следует представлять в логической последовательности в тексте, таблицах и на рисунках. В обсуждении выделяются новые и важные аспекты результатов исследования, могут быть включены обоснованные рекомендации и краткое заключение.

Если в статье имеются описания эксперимента с участием человека/людей, авторы должны указать, проводились ли они в соответствии с этическими стандартами комитета, ответственного за эксперименты с участием человека/людей (национального или локального) и Хельсинской декларации 1975 года и ее пересмотренного варианта 2008 г.

При представлении в печать экспериментальных работ с участием животных следует руководствоваться «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Помимо вида, пола и количества использованных животных, авторы обязательно должны указывать применявшиеся при проведении болезненных процедур методы обезболивания и методы умерщвления животных, выполнялись ли требования национального руководства и руководства учреждения по содержанию и использованию лабораторных животных.

Все термины и определения должны быть научно достоверны, их написание (как русское, так и латинское) должно соответствовать «Энциклопедическому словарю медицинских терминов» (в 3-х томах, под ред. акад. Б.В. Петровского).

Лекарственные препараты должны быть приведены только в международных непатентованных названиях, которые употребляются первыми, затем в случае необходимости приводятся несколько торговых названий препаратов, зарегистрированных в России (в соответствии с информационно-поисковой системой «КлифарГосреестр» [Государственный реестр лекарственных средств]).

Желательно, чтобы написание реестров соответствовало стандарту Enzyme Classification.

Название микроорганизмов должны быть выверены в соответствии с «Энциклопедическим словарем медицинских терминов» (в 3-х томах, под ред. акад. Б.В. Петровского) или по изданию «Медицинская микробиология» (под ред. В.И. Петровского).

Рукопись может сопровождать словарь терминов (неясных, способных вызвать у читателей затруднения при прочтении).

Помимо общепринятых сокращений единиц измерения, физических, химических и математических величин и терминов (например, ДНК), допускаются аббревиатуры словосочетаний, часто повторяющихся в тексте. Все аббревиатуры расшифровываются при первом упоминании в тексте.

Дозы лекарственных средств, единицы измерения и другие численные величины должны быть указаны в системе СИ.

Подписи к рисункам и фотографиям группируются вместе и даются на отдельном листе. Каждый рисунок должен иметь заголовок и расшифровку всех сокращений. В подписях к графикам указываются обозначения по осям абсцисс и ординат единицы измерения, приводятся пояснения по каждой кривой. В подписях к микрофотографиям указываются метод окраски и увеличение.

Сокращение слов в таблицах не допускается. Все цифры в таблицах должны соответствовать цифрам в тексте.

БИБЛИОГРАФИЯ

Список литературы (Литература, References) печатается на отдельном листе, составляется в алфавитном порядке. Сначала приводятся работы отечественных авторов, затем иностранных. В тексте статьи библио-

графические ссылки обозначаются арабскими цифрами в квадратных скобках, в соответствии с нумерацией в списке литературы.

Литература описывается следующим образом:

Авторы, название статьи и источника, выходные данные на русском языке. Затем авторы (транслитерация), перевод названия статьи на английский язык, название статьи в транслитерированном варианте в квадратных скобках, название источника (транслитерация), выходные данные с обозначениями на английском языке.

Рекомендуется в оригинальных статьях цитировать не более 15, а в обзорах – до 50 источников. Статья должна быть написана грамотно, текст, таблицы и другие материалы тщательно выверены. Рукописи, оформленные не в соответствии с указанными правилами, к рассмотрению не принимаются.

Редколлегия оставляет за собой право сокращать и редактировать статьи.

Датой поступления статьи в журнал считается день получения редакцией окончательного варианта текста.

ПРАВИЛА РЕЦЕНЗИРОВАНИЯ РУКОПИСЕЙ

Все поступившие работы рецензируются специалистами в области, соответствующей профилю поступившей статьи. При необходимости осуществляется научное рецензирование с участием нескольких специалистов. По результатам рецензирования авторам направляются отзывы рецензентов и просьба внести в работы исправления. После исправления работы рецензируются повторно, при несогласии автора с мнением рецензента – направляются на рецензию независимому специалисту. Результаты рецензирования обсуждаются на заседаниях редакционной коллегии, где принимается окончательное решение о публикации работы. Рецензии в обязательном порядке предоставляются авторам рукописей и по запросам экспертных советов в ВАК.

АВТОРСКИЕ ПРАВА И ОТВЕТСТВЕННОСТЬ

Редколлегия не несет ответственности за достоверность информации, приводимой авторами. Автор, направляя рукопись в Редколлегию, поручает Редколлегии обнародовать произведение посредством его опубликования в печати.

Автор, направляя рукопись в Редколлегию, соглашается с тем, что Редколлегия переходит исключительные имущественные права на использование рукописи (переданного в редакцию журнала материала, в т. ч. такие охраняемые объекты авторского права, как фотографии автора, рисунки, схемы, таблицы и т. п.), в том числе на воспроизведение в печати и в сети Интернет; на распространение; на перевод рукописи (материалов) на любые языки народов мира; на экспорт и импорт экземпляров журнала со статьей Автора в целях распространения; на переработку; на доведение до всеобщего сведения. Указанные выше права Автор передает Редколлегии без ограничения срока их действия и на территории всех стран мира без ограничения, в т. ч. на территории Российской Федерации.

Редколлегия вправе переуступить полученные от Автора права третьим лицам и вправе запрещать третьим лицам любое использование опубликованных в журнале материалов. Автор гарантирует наличие у него исключительных прав на использование переданного Редколлегии материала. В случае нарушения данной гарантии и предъявления в связи с этим претензий к Редколлегии Автор самостоятельно и за свой счет обязуется урегулировать все претензии.

Редколлегия не несет ответственности перед третьими лицами за нарушение данных Автором гарантий. За Автором сохраняется право использования его опубликованного материала, его фрагментов и частей в личных, в том числе научных, преподавательских, целях. Права на рукопись считаются переданными Автором Редколлегии с момента подписания в печать номера журнала, в котором она публикуется. Перепечатка материалов, опубликованных в журнале, другими физическими и юридическими лицами возможна только с письменного согласия Редколлегии, с обязательным указанием номера журнала (года издания), в котором был опубликован материал.

ПРАВИЛА ПУБЛИКАЦИИ

Публикация статьи платная и составляет в 2015 году **2300** рублей для статей до 8 страниц включительно, свыше – производится доплата **150** рублей за каждую страницу. Бесплатная публикация статьи предоставляется аспирантам, если аспирант является единственным автором научной статьи.

В соответствии с Частью 4 Гражданского кодекса РФ статья сопровождается Лицензионным договором, подписанным каждым автором статьи. Без этого документа статьи не рассматриваются.

Авторские экземпляры не предусмотрены. Журнал можно получить только по подписке.

ОБРАЗЕЦ ОФОРМЛЕНИЯ РУКОПИСИ СТАТЬИ

УДК

И.О. Фамилия ¹, И.О. Фамилия²

ЗАГЛАВИЕ СТАТЬИ

¹ Название учреждения, адрес, город, страна² Название второго учреждения, адрес, город, страна

Фамилия, имя, отчество, e-mail автора, ответственного за переписку

Резюме

Текст резюме

Ключевые слова: ключевые слова, ключевые слова, ключевые слова

ЗАГЛАВИЕ СТАТЬИ НА АНГЛИЙСКОМ

И.О. Фамилия на английском ¹, И.О. Фамилия на английском ²¹ Название учреждения на английском² Название второго учреждения на английском

Summary

Текст резюме на английском

Key words: ключевые слова на английском, ключевые слова на английском

Текст введения, описания актуальности темы.

Цель работы:

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Описание материалов и методов исследования.

Этическая экспертиза. Процедуры добровольного информированного согласия на участие в исследовании или соблюдение требований к экспериментам на животных.

Способ представления результатов исследования. Описание методики статистического исследования.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Описание результатов с указанием статистической значимости полученных данных и обсуждение результатов в сопоставлении с литературными данными.

Таблица 1

Название таблицы

Показатель	Натяжение стандартным грузом	
	Поверхностный сгибатель (ПС)	Глубокий сгибатель (ГС)
Пястно-фаланговый сустав (ПФС)	94,2 ± 2,3	92,2 ± 3,6
Проксимальный межфаланговый сустав (ПМФС)	111,7 ± 4,4	84,4 ± 4,0
Дистальный межфаланговый сустав (ДМФС)	2,3 ± 1,2	79 ± 9,0
Итого	208,2 ± 2,3	255,6 ± 5,5

Примечание: примечание к таблице

ЛИТЕРАТУРА

REFERENCES

1. Кашафеева А.А., Хышиктуев Б.С., Гаймоленко С.Г., Смекалов В.П. Морфометрические параметры брюшины крыс при воспалении и после местного воздействия на нее раствором гипохлорита натрия разной концентрации // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2011. – № 3. – С. 108–110.

Kashafeeva AA, Khishiktuev BS, Gaimolenko SG, Smekalov VP (2011). Morphometric parameters of rats' peritoneum during the inflammation and after the local impact on it by sodium hypochlorite solution of different concentrations [Morfometricheskie parametry brjushiny krysy pri vospalenii i posle mestnogo vozdejstviya na nee rastvorom gipohlorita natrija raznoj koncentracii]. Byulleten VSNC SO RAMN (3), 108–110.

Примечание: ни в одном из зарубежных стандартов библиографических записей не используются разделительные знаки, применяемые в российском ГОСТе («//» и «-»). Название источника и выходные данные отделяются от авторов и заглавия статьи типом шрифта, чаще всего курсивом, точкой или запятой. Между инициалами одного автора знаки препинания (точки) не ставятся.

В Интернете существуют бесплатные программы для создания библиографических описаний на латинице (например, <http://www.easybib.com>, <http://www.bibme.org> и др.).

Описания можно создавать для разных видов публикаций.

Сведения об авторах

Фамилия, имя, отчество первого автора полностью – учёная степень, учёное звание автора, должность, организация (адрес организации (с индексом), контактный (рабочий) телефон и электронная почта)

Information about the authors (перевод информации на английский язык)

Фамилия, имя, отчество второго полностью – учёная степень, учёное звание автора, должность, организация (адрес организации (с индексом), контактный (рабочий) телефон и электронная почта)

Перевод данных на английский язык.

Внимание! Информация предоставляется обо всех авторах работы!

Ставя свою подпись под статьей, автор тем самым передает права на издание и перевод своей статьи редакции. Автор гарантирует, что статья оригинальная; что ни статья, ни рисунки к ней не были опубликованы в других изданиях. Автор также гарантирует соблюдение международных принципов Хельсинкской декларации о гуманном отношении к животным.