

МЕДИЧНА НАУКА УКРАЇНИ

Том 12, 2016, № 3–4

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Періодичність видання – 1 раз на квартал

ЗМІСТ

ТЕОРЕТИЧНА МЕДИЦИНА

Колесова Н.А., Натрус Л.В., Литвиненко В.І., Сухарева Н.М., Рижко І.М. Динаміка сполучнотканинних клітинних реакцій шкіри білих щурів за опікової травми і стійкої некорегованої гіперглікемії

Коржов В.І., Лискина І.В., Жадан В.Н., Осипенко Б.О., Мельник О.А. Возможность коррекции показателей крови при экспериментальной эмфиземе легких

Жадан В.М., Коржов В.І. Вплив сукцинату натрію на активність глутатіон-залежних ферментів у крові при експериментальній емфіземі легень

Цимбалюк В.І., Медведєв В.В., Сенчик Ю.Ю., Татарчук М.М., Драгунцова Н.Г., Дичко С.М. Вплив трансплантації тканини фетальної нирки на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому при експериментальній травмі спинного мозку

Зяблицев С.В., Кришталь Н.В., Дядык Е.А. Состояние иммунологической реактивности при экспериментальной черепно-мозговой травме

Прокопов В.О., Томашевська Л.А., Куліш Т.В., Липовецька О.Б., Кравчун Т.Є., Григоренко Л.Є. Ізольована та комбінована дія хлороформу та монохлороцтової кислоти з питною водою на гематологічні та імунологічні показники піддослідних тварин

CONTENT

THEORETICAL MEDICINE

Kolesova N.A. Natrus L.V., Litvinenko V.I., Sukhareva N.M. Ryzhko I.M. Dynamic of connective-tissue cell reactions of the skin of white rats with burn injury and persistent uncorrected hyperglycemia 4

Korzhov V. I., Liskina I.V., Zhadan V.N., Osypenko B.O., Melnyk O.A. The possibility of correction of blood indicators in experimental emphysema of lungs 11

Zhadan V.N., Korzhov V.I. The impact of sodium succinate on the activity of glutathione-dependent enzymes in the blood at experimental pulmonary emphysema 16

Tsybaliuk V.I., Medvediev V.V., Senchyk Yu. Yu., Tatarchuk M.M., Draguntsova N.G., Dychko S.M. Effect of fetal kidney tissue transplantation on the course of the spasticity and chronic pain syndrome after experimental spinal cord injury 21

Zyablitsev S.V., Krishtal N.V., Dyadyk E.A. Condition of the immunologic reactivity at the experimental traumatic brain injury 28

Prokopov V.O., Tomashevskaya L.A., Kulish T.V., Lypovetska O.B., Kravchun T.Ye., Grigorenko L.E. Isolated and combined effects of chloroform and monochloroacetic acid with drinking water on hematological and immunological indicators of experimental animals 34

КЛІНІЧНА МЕДИЦИНА

Турчина Н.С., Черенько Т.М. Клініко-неврологічні та УЗДГ кореляції в гострому періоді інсульту у хворих з різними видами маніфестної вірусної інфекції в анамнезі

Андрюшкова Н.Г., Турчина Н.С., Понятовський В.А., Долінчук Л.В., Мельник В.В., Широбоков В.П., Чекалюк Є.М. Персистуюча ентеровірусна інфекція у хворих на гостре порушення мозкового кровообігу

Бичкова Н.Г., Кондратюк В.С., Бичков О.А., Тарасюк А.П., Таран Г.А., Сидорук Т.М. Роль про- та антиатерогенних імунних факторів в перебігу артеріальної гіпертензії

Кремзер А.А., Березин А.Е. Ендотеліальні прогениторні клітини у пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю: взаємозв'язок з рівнем мочевої кислоти в крові

Мальцев Д.В., Мездин В.І. Оцінка імунного статусу в учасників АТО з важкими пошкодженнями нижніх кінцівок

Черновол П.А., Натрус Л.В. Аналіз тромбоцитарних параметрів гемограми для визначення їх інформативності

Рекалова О.М., Панасюкова О.Р., Матвієнко Ю.О., Грабченко Н. І., Ясирь С.Г., Сінгаєвський М.Б., Бегоулева Ж.Б., Коваль Н.Г. Інтерлейкін 17 та інші імунологічні ознаки хронічного запального процесу у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень різної важкості в фазі ремісії

Лукашук В.Д., Алі Самех Алі, Шевцова О.М., Баб'як В.І., Палагнюк Н.О. Клінічне значення неінвазивних тестів у діагностиці *Helicobacter pylori*-інфікування дітей з хронічним гастритом

Колесова Н.А., Колесова Н.В., Медведєва М.Б. Механізми альтерації тканин пародонта за генералізованого пародонтиту у хворих без соматичної патології та з артеріальною гіпертензією

ПРОФІЛАКТИЧНА МЕДИЦИНА

Зінченко Т.І. Гігієнічна оцінка безпечності суниці при застосуванні інсектицидів та фунгіцидів в системі хімічного захисту

CLINICAL MEDICINE

Turchyna N.S., Cherenko T.M. Clinical-neurological and ultrasound correlations in the acute period of a stroke in patients with various types of manifested viral infection in history

Andriushkova N.G., Turchina N.S., Poniatovskyi V.A., Dolinchuk L.V., Melnyk V.V., Shyrobokov V.P., Chekaliuk E.M. Persistent enterovirus infection in patients with acute stroke

Bychkova N.G., Kondratiuk V.E., Bychkov O.A., Tarasiuk A.P., Taran A.A., Sydoruk T.M. The role of pro- and antiatherogenic immune factors in the course of arterial hypertension

Kremzer A.A., Berezin A.E. Endothelial progenitor cells in chronic heart failure patients: the interrelationship with serum uric acid

Maltsev D.V., Medzyn V.I. Evaluation of the immune status of the participants ato with severe injuries of the lower extremities

Chernovol P.A., Natrus L.V. Analysis of haemogram platelet indices the for study the their informativity

Rekalova O.M., Panasiukova A.R., Matvienko Yu.O., Grabchenko N.I., Yassyr S.G., Sinhayevskiy M.B., Begouleva J. B.,Koval N.G. Interleukin 17 immunologic and other signs of chronic inflammation in patients with chronic obstructive pulmonary disease different severity in remission

Lukashuk V.D., Ali Sameh Ali, Shevtsova O.M., Babyak V.I., Palahniuk N.O. Clinical value of non-invasive diagnostic tests for *Helicobacter pylori* infection in children with chronic gastritis

Kolesova N.A., Kolesova N.V., Miedviedieva M.B. Periodontal tissues alteration mechanisms at generalized parodontitis in patients without somatic diseases and with arterial hypertension

PREVENTIVE MEDICINE

Zinchenko T.I. Hygienic evaluation of strawberries safety after insecticides and fungicides application in the chemical protection system

<i>Кондратюк М.В., Благая А.В., Антоненко А.М.</i> Гігієнічна оцінка безпечності повітряного середовища для працівників в технологічному циклі застосування комбінованого фунгіциду на основі пропіконазолу, солатенолу та ципроконазолу на зернових колосових культурах	109	<i>Kondratiuk N., Blagaia A., Antonenko A.</i> Hygienic assessment of air safety for employees engaged in the technological cycle of the propiconazole, solatenol and cyproconazole based combined fungicide application on the cereal spiked crops	109
ОГЛЯДИ		REVIEW	
<i>Хайтович М.В.</i> Фармакокінетично / фармакодинамічна модель антибіотикотерапії: клінічне застосування	114	<i>Khaitovych M.V.</i> Pharmacokinetic / pharmacodynamic model of antibiotic therapy: clinical usage	114
<i>Хайтович М.В., Івченко М.С.</i> Сучасні напрями медикаментозної нефропротекції при цукровому діабеті 1 типу	122	<i>Khaitovych M.V., Ivchenko M.S.</i> Modern trends of medical nephroprotection in type 1 diabetes mellitus	122
ХРОНІКА		CHRONIC	
Олександр Федорович Несин. Життя, як вишитий рушник	129	Alexander Fedorovich Nesin. Life is like an embroidered towel	129
Некролог. Пам'яті професора Антоніни Михайлівни Політун	131	Obituary. In memory of Professor Antonina Mikhailovna Politun	131
Правила для авторів	132	Regulation for authors	132

ДИНАМІКА СПОЛУЧНОТКАНИННИХ КЛІТИННИХ РЕАКЦІЙ ШКІРИ БЛИХ ЩУРІВ ЗА ОПІКОВОЇ ТРАВМИ І СТІЙКОЇ НЕКОРЕГОВАНОЇ ГІПЕРГЛІКЕМІЇ

Колесова Н.А., Натрус Л.В., Литвиненко В.І., Сухарева Н.М., Рижко І.М.

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна
Lnatrus777@gmail.com*

Рецензенти: член-кор. НАМНУ, проф. Чайковський Ю.Б., проф. Панова Т.І.

Актуальність. Однією з основних функцій сполучної тканини є функція забезпечення гомеостазу і гомеокінезу організму. Ключову роль у цьому відіграє кооперативна взаємодія між всіма її клітинними і неклітинними компонентами. Дослідження перебігу клітинних реакцій в процесі гоєння ран дозволить удосконалити методи їх лікування.

Мета: вивчити механізми розвитку тканинних реакцій, ланки міжклітинної взаємодії, особливості регенеративних процесів за локального термічного uszkodження при порушенні вуглеводного обміну.

Матеріали та методи. Проведені патоморфологічні та гістохімічні дослідження динаміки (3, 7, 14, 21 доба) гоєння опікової рани шкіри білих статевозрілих щурів-самців лінії Вістар масою 180-210 г без соматичної патології (n=30) та щурів з моделлю стійкої некорегованої гіперглікемії (n=30), яку відтворювали шляхом одноразового внутрішньоочередного введення щурам стрептозоточину в дозі 50 мг/кг. Опікову травму шкіри здійснювали шляхом прикладання до бічних поверхонь тулуба щурів мідних пластинок, з відтворенням опіку II ступеня – дермального поверхневого опіку. Для патоморфологічних та гістохімічних досліджень забирали клапті шкіри з бокової ділянки тулуба. Використовували загальноприйняті методики патоморфологічного аналізу. Питомий вміст фібробластів, макрофагів та нейтрофілних гранулоцитів обчислювали на площі 130x130 мкм гістологічного зрізу шкіри товщиною 7 мкм. Гістохімічне вивчення активності оксидоредуктаз проводили на криостатних зрізах (10мкм). Гістохімічний показник активності оксидоредуктаз обчислювали напівкількісним методом. Цифровий матеріал обробляли методами варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

Результати. Вплив стійкої некорегованої гіперглікемії на регенерацію опікової травми полягає в тому, що збільшується кількість клітин запальної інфільтрації та зменшується кількість фібробластів. Максимальні зміни ступеня лейкоцитарно-макрофагальної інфільтрації та вмісту клітин фібробластичного ряду спостерігається через 7 діб після нанесення опікової травми.

Висновки. За стійкої некорегованої гіперглікемії доцільно використовувати в протоколах ведення лікувального процесу фармпрепарати з антигіпоксичною та антиоксидантною дією.

Ключові слова: клітинні реакції сполучної тканини, опікова травма, стійка некорегована гіперглікемія.

Актуальність. В біології і медицині, починаючи з робіт О.О. Богомольця, існує положення про те, що порушення функції сполучної тканини призводить до змін гомеостазу в організмі і виникнення ряду патологічних процесів (запалення, склерозу, патологічної регенерації, хвороб сполучної тканини та ін.) [4]. Більшість функцій сполучної тканини (трофічна, пластична, захисна, біомеханічна, депонування, структуроутворююча), як тканини внутрішнього середовища, є частиною її основної інтегративної функції: забезпечення гомеостазу і гомеокінезу організму. Ключову роль у цьому відіграє кооперативна взаємодія між всіма клітинними і неклітинними компонентами сполучної тканини. Така регуляція здійснюється за допомогою розчинних медіаторів (циркулюючих у крові та місцевих), міжклітинних контактів, нерозчинних “твердих” медіаторів, а також продуктів розпаду клітин і тканин. Ця регуляція основана на принципах “зворотного зв’язку”, “необхідної різноманітності”, “антагоністичних функцій”, “дублювання”, “ієрархії та рівноправності” під контролем центральних механізмів.

Сполучна тканина як система функціонує переважно в діапазоні регуляції між організмом і клітинними рівнями. В цих взаємовідносинах сполучна тканина бере участь як інтегральне ціле і кожен із її елементів окремо. При цьому одну із ключових ролей відіграють клітинні елементи сполучної тканини: фібробласти, макрофаги, лімфоцити, нейтрофілні гранулоцити, тканинні базофіли. Провідна роль у цій взаємодії відводиться не якій-небудь одній клітинній популяції, а взаємодії їх між собою в кооперативній відповіді. Активація однієї із клітинних систем будь-якими зовнішніми або внутрішніми стимулами включає каскад клітинних реакцій, спрямованих на підтримку гомеостазу, а самі клітини сполучної тканини є короткодистантними регуляторами. Це означає, що крім нервової і гуморальної, існує система клітинної регуляції, основана на міжклітинних взаємодіях. В сполучній тканині існують також міжпопуляційні взаємодії її клітин з клітинами інших популяцій, з міжклітинним матриксом і волокнистим компонентом, з клітинами паренхіми і мікроциркуляторного русла свого мікрорайону. Так формується

складна система прямих і зворотних зв'язків, що регулюють (під контролем центральних механізмів) і інтегрують всі системи в одне ціле та обумовлюють розвиток компенсаторно-приспосувальних процесів за умов патології [1, 2, 3, 5, 6, 13].

В світлі викладеного вище, принципово важливою в медицині є проблема перебігу клітинних реакцій в процесі гоєння ран, що визначається поширеністю цієї патології [8–12]. Існуючі на сьогодні способи лікування ран не завжди досконалі, що спонукає вивчати механізми гоєння ран для подальшого удосконалення методів їх лікування, особливо в умовах порушення в організмі метаболізму, зокрема, вуглеводного обміну.

Мета: вивчити механізми розвитку тканинних реакцій, ланки міжклітинної взаємодії, особливості регенеративних процесів за локального термічного ушкодження при порушенні вуглеводного обміну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Проведені патоморфологічні та гістохімічні дослідження динаміки (3, 7, 14, 21 доба) гоєння опікової рани шкіри білих статевозрілих щурів-самців (n=60) лінії Вістар масою 180-210 г. Групу контролю (n=28) склали тварини без соматичної патології. Експериментальну групу (n=28) склали щури з моделлю стійкої некорегованої гіперглікемії.

Моделю стійкої некорегованої гіперглікемії відтворювали шляхом введення щурам стрептозоточину внутрішньоочередово одноразово в дозі 50 мг/кг, попередньо розчинивши його в 0,1М цитратному буферному розчині (рН-4,5). Тривалість експерименту 1 місяць. Контролем розвитку гіперглікемії був рівень глюкози в крові – $24,24 \pm 0,79$ ммоль/л. В контрольній групі $8,03 \pm 0,4$ ммоль/л.

Для експериментального моделювання опіку напередодні, в умовах вільної поведінки щурам оголювали прямокутну ділянку шкіри тулуба шляхом нанесення крему для депіляції з експозицією 4–5 хвилин. Шкіру після процедури обробляли фізіологічним розчином і антисептиком, але вона була не пошкодженою, рівномірно гладенькою, без волосяного покриву. Наступного дня, на щурах під ефірним наркозом моделювали опік. Використовували дві мідні пластини у вигляді еліпсу. Кожна мала розміри 3,7x4,5 см і площу 0,0052 м². Пластини витримували в окропу (100° С) 10 хвилин і накладали одночасно симетрично на обидві оголені частини тіла щурів з експозицією 10 секунд.

Площу термічного ушкодження шкіри розраховували від площі поверхні тіла щура. Для розрахунку площі поверхні тіла щура (S) використовували формулу $S = k \cdot W^{0,66}$, де k = 9,46 (константа Meeh [7]), W – маса щура, кг. В середньому площа пошкодженої шкіри щура з кожного боку складала до 8–10 % (рис. 1).



Рис. 1. Зовнішній вигляд тіла щура після нанесення термічної травми мідними пластинами у вигляді еліпсу симетрично на обидві оголені частини тіла.

Загальна площа опіку шкіри складала 18–20 % поверхні тіла, що є цілком достатнім для формування опіку II ступеня – дермального поверхневого опіку (за старою класифікацією – це III А ступінь).

У вказаний термін (3, 7, 14, 21 добу) щурам вводили однократно внутрішньоочередово велику дозу тіопенталу натрію і виводили із експерименту шляхом декапітації.

Для патоморфологічних та гістохімічних досліджень забирали клапті шкіри з бокової ділянки тулуба. Використовували загальноприйняті методики патоморфологічного аналізу. Матеріал фіксували в 10 % нейтральному формаліні, проводили через батарею спиртів висхідної концентрації (70°, 80°, 96°I, 96°II, 96°III, 100°), спирт-хлороформ, хлороформ, хлороформ-парафін (при 37°С), парафін (при 57°С) і заливали у віск-парафін. Серійні парафінові зрізи (7 мкм) отримували на санному мікромомі. Зрізи фарбували гематоксилином і еозином та за ван Гізон. Питомий вміст фібробластів, макрофагів та нейтрофільних гранулоцитів обчислювали на площі 130x130 мкм гістологічного зрізу шкіри товщиною 7 мкм.

Гістохімічне вивчення активності оксидоредуктаз проводили на криостатних зрізах (10 мкм): активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) – за Нахласом та співавт., лактатдегідрогенази (ЛДГ) – за Гесс, Скарпеллі і Пірс, НАД-Н та НАДФ-Н ДГ – за Фарбером. Гістохімічний показник активності оксидоредуктаз обчислювали напівкількісним методом. Цифровий матеріал обробляли методами варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати проведених досліджень показали, що у піддослідних тварин всіх груп гоєння опікових ран відбувається за типовою кінетикою. У тварин без

соматичної патології, які були використані в дослідженнях як контрольна група, нанесення опікової травми викликає розвиток запальної реакції, що проявляється набряком і інфільтрацією, а на поверхні рани формується струп. Майже відразу після дії термічного чинника розвивається гіперемія та набряк опеченої ділянки шкіри. До 3 доби після опіку виявляються некротичні зміни епідермісу, волосяних фолікулів, набряк дерми. В судинах гемомікроциркуляторного русла розвивається стаз та тромбоз.

На дні рани з 3 доби нагляду молода грануляційна тканина відділяється від гіподерми лейкоцитарним демаркаційним валом, основу якого складають нейтрофільні гранулоцити. У глибині ушкодженої ділянки він зазвичай чітко не сформований і фактично виявляється на 7 добу як лейкоцитарно-некротичний шар регенеруючої сполучної тканини, що відділяє некротизовану ділянку дерми.

Через 3 доби експерименту в краях та на дні рани накопичується велика кількість клітинних елементів, які утворюють до 7 доби повноцінну грануляційну тканину (рис. 2). В ній до 14 доби спостереження виявляється значна кількість колагенових волокон, щільність сітки яких збільшується від поверхневих до глибоких шарів. Регенерація епідермісу відбувається одночасно з регенерацією сполучної тканини, по мірі виповнювання нею ранового дефекту.

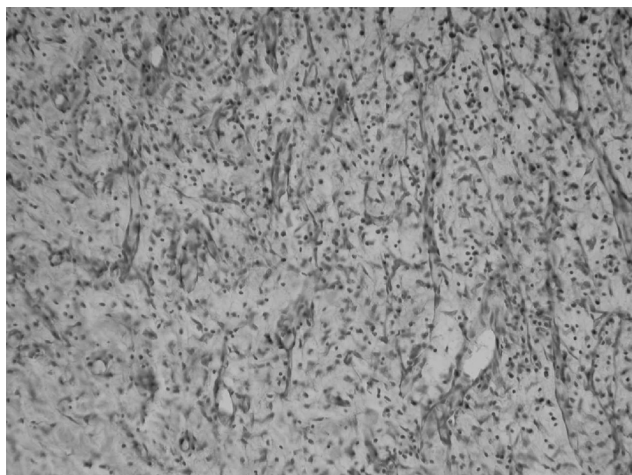


Рис. 2. Фото гістологічного зрізу шкіри білого щура без соматичної патології на 7 добу після нанесення опікової травми. Структура грануляційної тканини. Фарбування гематоксиліном та еозином. Зб.: об.20, ок.10.

В сполучнотканинному регенераті дерми з 3 по 7 добу після нанесення опікової травми зростає питома кількість фібробластів (рис. 3), яка поступово зменшується на подальших строках нагляду (табл. 1). Вміст макрофагів в новоутвореній сполучній тканині дещо збільшується до 7 доби, а потім зменшується. Протягом усього терміну спостереження гоєння ран в сполучно тканинному регенераті шкіри визначалося поступове зменшення кількості нейтрофільних гранулоцитів.

Гістохімічне вивчення динаміки перебігу енергетичних процесів в цих клітинних елементах показало (табл. 2), що нанесення опікової травми зменшує активність ферментів тканинного дихання (СДГ) та термінального окиснення (НАД-Н ДГ і НАДФ-Н ДГ) в усіх (фібробласти, макрофаги, нейтрофільні гранулоцити) клітинних елементах грануляційної тканини (рис. 4). В той же час процеси гліколізу мали тенденцію до посилення, а на 7 та 14 добу експерименту активність ЛДГ достовірно відрізнялась від 3 доби.

Така ж динаміка окисно-відновних процесів встановлена нами і в клітинах епідермісу, особливо в гермінативному шарі, які, починаючи з 7 доби нагляду наповзали на новоутворену грануляційну тканину по периметру опіку. До 21 доби експерименту опікова рана по периметру була епітелізована, а центральні її частини ще не мали епідермального покриття.

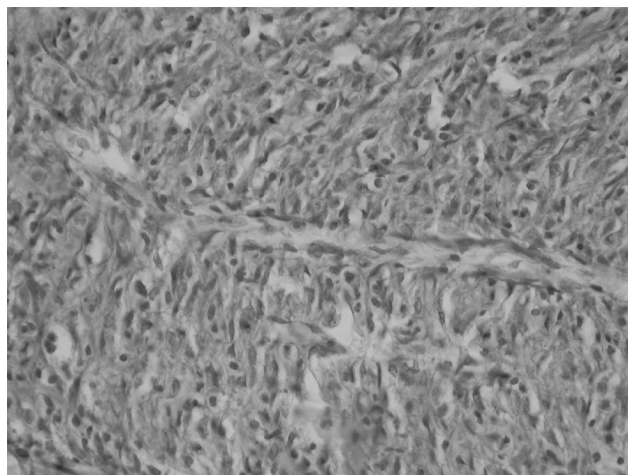


Рис. 3. Фото гістологічного зрізу шкіри білого щура без соматичної патології на 14 добу після нанесення опікової травми. Структура грануляційної тканини: переважання фібробластів. Фарбування гематоксиліном та еозином. Зб.: об.40, ок.10.

Таблиця 1
Питомий вміст нейтрофільних гранулоцитів, макрофагів та фібробластів у сполучнотканинному регенераті дерми в динаміці ранового опікового процесу шкіри щурів без соматичної патології (M±m)

Клітини	3 доби, n=7	7 дб, n=7	14 дб, n=7	21 доба, n=7
Нейтрофільні гранулоцити	68,8±3,0	55,4±3,6*	30,2±2,5*	12,8±0,3*
Макрофаги	66,4±2,5	68,5±2,8	51,2±1,7*	16,9±0,3*
Фібробласти	16,5±0,6	60,2±2,8*	53,5±1,7*	34,7±1,4*

Примітка. * – $p < 0,05$ в динаміці гоєння опікової травми шкіри по кожному типу клітин.

У частини (37 %) тварин, починаючи з 3 доби і особливо на 7 добу нагляду, під струпом та в інших місцях грануляційної тканини виявлявся розвиток локальних та більш розповсюджених проявів підгострого запалення за участі великої кількості гранулоцитів.

Надалі був проведений порівняльний аналіз динаміки гоєння опікової травми шкіри білих щурів з моделлю стійкої некорегованої гіперглікемії відносно щурів контрольної групи (без соматичної патології). Виявлені деякі зміни в виразності запальної інфільтрації країв та дна рани на 3 добу спостере-

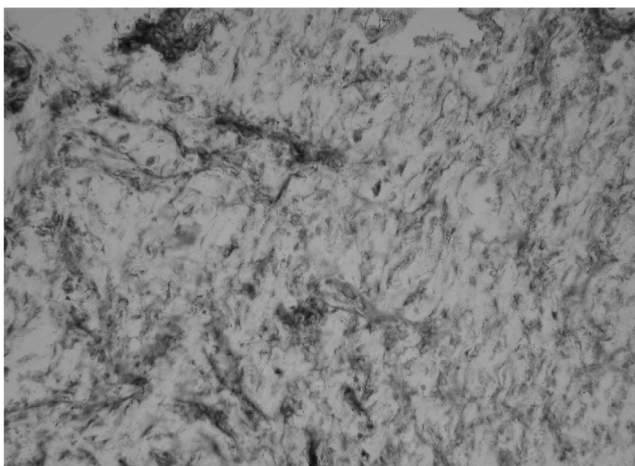


Рис. 4. Фото гістологічного зрізу шкіри білого щура без соматичної патології на 7 добу після нанесення опікової травми. Знижена активність СДГ в клітинах грануляційної тканини. Метод Гесс, Скарпеллі і Пірс. Зб.: об.20, ок.10.

жень. У тварин цієї групи накопичення клітин фібробластичного ряду відбувається в меншому обсязі (табл. 3).

Грануляційна тканина, що сформувалася в рані до 7 доби досліду, виявляється дещо тоншою, ніж у контролі, а також містить менше фібробластів, макрофагів та нейтрофільних гранулоцитів. В регенераті порівняно в меншій кількості, ніж у контролі, виявляються тоненькі колагенові волокна. Кровоносні судини в складі молоді сполучної тканини зустрічаються в меншій кількості і з меншим діаметром. Разом з тим, відрізняється характер вмісту в грануляційній тканині клітин запальної інфільтрації, які порівняно часто (75 %) формують вогнища, а також спостерігається потовщення лейкоцитарного демаркаційного валу. В ділянках грануляційної тканини, які містять небагато макрофагів і лейкоцитів, виявляється дещо більше, ніж у контролі, колагенових волокон, які проявляють фуксинофілію при забарвленні за ван Гізон.

Кількісна оцінка клітинного вмісту грануляційної тканини щурів з моделлю стійкої некорегованої гіперглікемії та опіковою травмою показала, що число фібробластів виявляється меншим, хоча різниця і не була статистично вірогідною, а макрофагів та нейтрофільних гранулоцитів, особливо до 21 доби експерименту, було вірогідно більше від контролю (табл. 1, 3).

В динаміці спостережень через 14 днів в грануляційній тканині зберігається тенденція до вогнищевого скупчення макрофагів та гранулоцитів, переважно у поверхневих ділянках рани (рис. 5). Це в

Таблиця 2

Гістохімічний показник активності окисно-відновних ферментів в клітинах сполучнотканинного регенерату в динаміці ранового опікового процесу шкіри щурів без соматичної патології (одиниці активності; $M \pm m$)

Клітини	Ферменти	3 доби, n=7	7 днів, n=7	14 днів, n=7	21 доба, n=7
Нейтрофільні гранулоцити	СДГ	1,9±0,02	1,95±0,03	1,9±0,02	1,8±0,01
	ЛДГ	2,1±0,01	2,0±0,02	1,95±0,01	1,9±0,02
	НАД-Н ДГ	2,0±0,02	1,9±0,01	1,95±0,02	1,95±0,03
Макрофаги	СДГ	2,0±0,02	2,15±0,01	2,1±0,02	1,9±0,01
	ЛДГ	2,1±0,01	2,3±0,02*	2,2±0,02*	2,0±0,01*
	НАД-Н ДГ	2,15±0,02	2,4±0,03*	2,3±0,02*	2,1±0,01*
Фібробласти	СДГ	1,2±0,02	1,0±0,01	1,1±0,01	1,05±0,01
	ЛДГ	2,0±0,01	2,5±0,02*	2,6±0,02*	2,2±0,01*
	НАД-Н ДГ	1,9±0,02	2,4±0,02*	2,5±0,03*	2,3±0,01*

Примітка. * – $p < 0,05$ в динаміці гоєння опікової травми шкіри (по кожному ферменту в одному типі клітин).

Таблиця 3

Питомий вміст нейтрофільних гранулоцитів, макрофагів, фібробластів у сполучнотканинному регенераті дерми в динаміці ранового опікового процесу у щурів з моделлю стійкої некорегованої гіперглікемії ($M \pm m$)

Клітини	3 доби, n=7	7 днів, n=7	14 днів, n=7	21 доба, n=7
Нейтрофільні гранулоцити	60,5±3,2	46,7±2,4*	26,8±1,6*	20,8±0,1*
Макрофаги	56,8±1,1	56,5±2,3	45,3±2,5*	26,0±0,3*
Фібробласти	15,0±0,3	50,4±2,2*	46,7±1,8	33,0±1,5*

Примітка. * $p < 0,05$ в динаміці гоєння опікової травми шкіри по кожному типу клітин.

значній мірі визначає порівняно більшу, ніж у контролі, товщину лейкоцитарно-некротичного шару на окремих ділянках. Вміст фібробластів у грануляційній тканині також варіює в більшій мірі, ніж у контролі. Кількість сполучнотканинних волокон мало відрізняється у тварин контрольної групи: в регенераті на 14 добу виявляється густа сітка колагенових волокон, щільність якої зростає у напрямку дна рани. Пучки колагенових волокон, що виявляються у дозріваючому шарі грануляційної тканини, виявляються тоншими, ніж у контролі.

Через 21 добу після початку досліду сполучнотканинний регенерат у тварин з моделлю стійкої некорегованої гіперглікемії, як і в контролі, містив доволі щільну сітку колагенових волокон, але кількість фібробластів, макрофагів та нейтрофільних гранулоцитів у ньому виявляється дещо меншою. В центральних ділянках регенерату, вкритих струпом, ще можуть зберігатися поодинокі тонкостінні кровоносні судини, які характерні для грануляційної тканини.

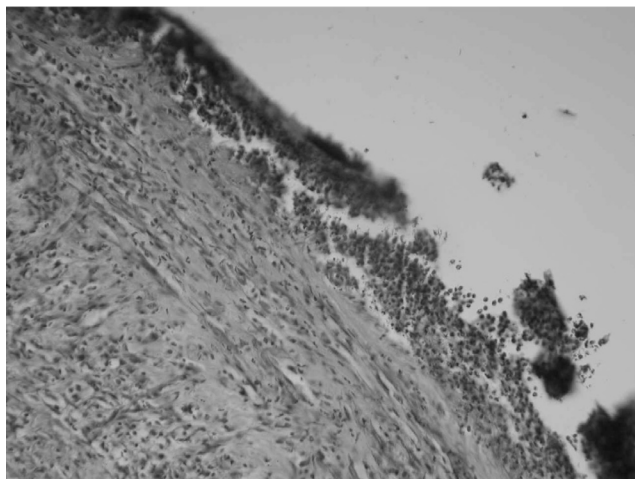


Рис. 5. Фото гістологічного зрізу шкіри щура з моделлю гіперглікемії на 14 добу після нанесення опікової травми. Прояви підгострого запалення в поверхневих відділах грануляційної тканини. Фарбування гематоксином та еозином. Зб.: об.10, ок.10.

ни. Інколи в регенераті зустрічаються периваскулярні макрофагально-лімфоцитарні інфільтрати. Наявність у щурів стійкої некорегованої гіперглікемії призводить до деякого уповільнення міграції епідермісу на грануляційну тканину, що затримує епітелізацію рани.

Порівняльний аналіз перебігу енергетичних процесів в опіковій рані шкіри за умов наявності у тварин стійкої некорегованої гіперглікемії показав зниження рівня активності ферментів тканинного дихання та термінального окиснення при одночасному підвищенні активності гліколізу в усіх клітинних сполучнотканинних та епітеліальних елементах (табл. 4). Гістохімічно це виявлялось зменшенням кількості темно-синіх зерен диформазану в цитоплазмі фібробластів, нейтрофільних гранулоцитів, макрофагів та клітин епідермісу при виявленні активності СДГ, НАД-Н ДГ та НАДФ-Н ДГ та збільшення продукту кінцевої реакції при виявленні ЛДГ (рис. 6).

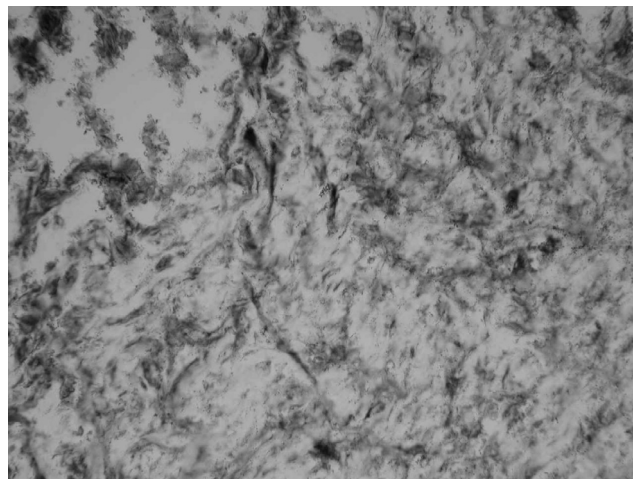


Рис. 6. Фото гістологічного зрізу шкіри щура з моделлю гіперглікемії на 7 добу після нанесення опікової травми. Підвищена активність ЛДГ в клітинах та мікросудинах грануляційної тканини. Метод Гесс, Скарпеллі і Пірс. Зб.: об.20, ок.10

Таблиця 4

Гістохімічний показник активності окисно-відновних ферментів в клітинах сполучнотканинного регенерата дерми в динаміці ранового опікового процесу шкіри щурів з моделлю стійкої некорегованої гіперглікемії (одиниці активності; $M \pm m$)

Клітини	Ферменти	3 доби, n=7	7 діб, n=7	14 діб, n=7	21 доба, n=7
Нейтрофільні гранулоцити	СДГ	1,75±0,01	1,8±0,02	1,85±0,01	1,7±0,02
	ЛДГ	2,0±0,02	1,9±0,01	1,95±0,01	1,85±0,02
	НАД-Н ДГ	1,9±0,01	1,85±0,01	1,9±0,02	1,9±0,01
Макрофаги	СДГ	1,9±0,01	2,1±0,02	1,95±0,02	1,9±0,01
	ЛДГ	2,0±0,01	2,2±0,03*	2,2±0,02	1,9±0,01*
	НАД-Н ДГ	2,1±0,02	2,3±0,02*	2,2±0,03*	2,1±0,01*
Фібробласти	СДГ	1,1±0,01	1,15±0,02	1,05±0,01	1,0±0,01
	ЛДГ	1,9±0,01	2,4±0,03*	2,5±0,02*	2,1±0,01*
	НАД-Н ДГ	1,8±0,02	2,3±0,02*	2,4±0,03*	2,2±0,02*

Примітка. * – $P < 0,05$ в динаміці гострої опікової травми шкіри (по кожному ферменту в одному типі клітин).

Отже, дослідження впливу стійкої некорегованої гіперглікемії на регенерацію опікової травми показало, що за цих умов дещо збільшується кількість клітин запальної інфільтрації та зменшується кількість фібробластів. Максимальні зміни ступеня лейкоцитарно-макрофагальної інфільтрації та вмісту клітин фібробластичного ряду спостерігаються через 7 діб після нанесення опікової травми. Встановлена мозаїчність сполучнотканинного регенерату дерми за рахунок осередкових інфільтратів, формування порівняно грубих пучків колагенових волокон на фоні загального зменшення вмісту клітин, дозволяють говорити про особливості гоєння ран та розвитку клітинних реакцій за умов стійкої некорегованої гіперглікемії. До них відноситься і встановлене нами зниження рівня енергетичних процесів в клітинних елементах грануляційної тканини.

ВИСНОВОК

Отримані результати досліджень дозволяють рахувати, що за стійкої некорегованої гіперглікемії в протоколах ведення лікувального процесу опікової травми шкіри доцільно використовувати фармпрепарати з антигіпоксичною та антиоксидантною дією.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття виконана в рамках фундаментальної НДР (№ Держ. реєстрації 0116U004902), що фінансується за рахунок коштів державного бюджету України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гавриш А.С. Транспортно-трофическое обеспечение и морфология миокарда при острой коронарной недостаточности / А.С. Гавриш, В.Н. Благодаров, В.В. Вербицкий, Н.В. Шульц // Вісник морфології. – 2006. – Т. 12, № 2. – С. 219-225.

- Новиков В.С., Шанин В.Ю. Гипоксия: адаптация, патогенез, клиника. – С.-Пб: ЭЛБИ, 2000. – 384 с.
- Раны и раневая инфекция / Под ред. М.И. Кузина, Б.М. Костюченко. – М.: Медицина, 1990. – 592 с.
- Розвиток патофізіології в Україні / За ред. О.О. Мойбенка. – Чернівці, 2009. – 306 с.
- Ross P. Заживление ран. Молекулы и клетки. Вып. 5. – М.: Мир, 1970. – С. 134-152.
- Серов В.В., Шехтер А.Б. Соединительная ткань (Функциональная морфология и общая патология). – М.: Медицина, 1981. – 310 с.
- A simple procedure for estimation of total body surface area and determination of a new value of Meeh's constant in rats / E. Gouma, Y. Simos, I. Verginadis [et al] // Laboratory Animals. – 2012. – Vol. 46. – P. 40-45.
- Bodnar R.J. Chemokine Regulation of Angiogenesis During Wound Healing. – Adv Wound Care (New Rochelle). – 2015. – Vol. 4, No. 11. – P.641-650.
- CD301b+ macrophages are essential for effective skin wound healing / B.Shook, E.Xiao, Y.Kumamoto [et al] // J Invest Dermatol. – 2016. – Vol. 136, No. 9. – P. 1885-1891.
- Eming S.A. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms / S.A. Eming, T. Krieg, J.M. Davidson // J. Invest. Dermatol. – 2007. – Vol. 127, No. 3. – P. 514-525.
- Eming S.A. Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation / S.A. Eming, P.Martin, M.Tomic-Canic // Sci. Transl. Med. – 2014. – Vol. 6, No. 265. – P. 6.
- Large and sustained induction of chemokines during impaired wound healing in the genetically diabetic mouse: prolonged persistence of neutrophils and macrophages during the late phase of repair / C. Wetzler, H. Kampfer, B. Stallmeyer [et al.] // J Invest Dermatol. – 2000. – Vol.115, No. 2. – P. 45-253.
- Martin P. Wound Healing – Aiming for Perfect Skin Regeneration // Science. – 1997. – Vol. 276, No. 5309. – P.75-81.

Отримано 20.06.2017

ДИНАМИКА СОЕДИНИТЕЛЬНОТКАННЫХ КЛЕТОЧНЫХ РЕАКЦИЙ КОЖИ БЕЛЫХ КРЫС ПРИ ОЖГОВОЙ ТРАВМЕ И УСТОЙЧИВОЙ НЕКОРРЕКТИРОВАННОЙ ГИПЕРГЛИКЕМИИ

Колесова Н.А., Натрус Л.В., Литвиненко В.И., Сухарева Н.М., Рижко И.М.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Одной из основных функций соединительной ткани является функция обеспечения гомеостаза. Ключевую роль в этом играет кооперативное взаимодействие между всеми ее клеточными и неклеточными компонентами. Исследование клеточных реакций в процессе заживления ран позволит усовершенствовать методы их лечения.

Цель: изучить механизмы развития тканевых реакций, звенья межклеточного взаимодействия, особенности регенеративных процессов при локальном термическом повреждении и нарушении углеводного обмена.

Материалы и методы. Проведены патоморфологические и гистохимические исследования динамики (3, 7, 14, 21 сутки) заживления ожоговой раны кожи белых половозрелых крыс-самцов линии Вистар массой 180–210г без соматической патологии (n=30) и крыс с моделью устойчивого некоррегированной гипергликемии (n=30). Модель устойчивой некоррегированной гипергликемии воспроизводили путем однократного внутривентрального введения крысам стрептозотоцина в дозе 50 мг/кг. Ожоговую травму кожи осуществляли путем прикладывания к боковым поверхностям туловища крыс медных пластинок, с

воспроизведением ожога II степени – дермального поверхностного ожога. Для патоморфологических и гистохимических исследований забирали лоскуты кожи с боковой области туловища. Использовали общепринятые методики патоморфологического анализа. Удельное содержание фибробластов, макрофагов и нейтрофильных гранулоцитов вычисляли на площади 130x130 мкм гистологического среза кожи толщиной 7 мкм. Гистохимическое изучение активности оксидоредуктаз проводили на криостатных срезах (10 мкм). Гистохимический показатель активности оксидоредуктаз вычисляли полуколичественным методом. Цифровой материал обрабатывали методами вариационной статистики с использованием критерия Стьюдента.

Результаты. Влияние устойчивой некорректированной гипергликемии на регенерацию ожоговой травмы состоит в том, что увеличивается количество клеток воспалительной инфильтрации и уменьшается – фибробластов. Максимальные изменения степени лейкоцитарно-макрофагальной инфильтрации и содержания клеток фибробластического ряда наблюдается через 7 суток после нанесения ожоговой травмы.

Вывод. При стойкой некорректированной гипергликемии целесообразно использовать в протоколах ведения лечебного процесса фармпрепараты с антигипоксическим и антиоксидантным действием.

Ключевые слова: клеточные реакции соединительной ткани, ожоговая травма, стойка некорректированная гипергликемия.

DYNAMIC OF CONNECTIVE-TISSUE CELL REACTIONS OF THE SKIN OF WHITE RATS WITH BURN INJURY AND PERSISTENT UNCORRECTED HYPERGLYCEMIA

Kolesova N. A., Natrus L. V., Litvinenko V. I., Sukhareva N. M., Ryzhko I. M.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Relevance. One of the main function of the connective tissue is the function of maintenance of homeostasis and homeokinesis in the organism. Cooperative engagement between all cellular and noncellular elements plays the key role in it. The problem of running of cellular reactions in the process of injury repair with the following performance of improvement of treatment options is essential in the medicine.

The aim: to investigate the mechanisms of development of tissue reactions, the elements of cell cooperation, specific features of regenerative process during local burn injury and carbohydrate metabolic imbalance.

Materials and methods. Conducted pathomorphological and histochemical studies of dynamic (3,7,14,21 days) of burn wound healing of the skin of white sexually mature rat-males of lines Wistar white rats 180-210 g without somatic pathology (n=30) as control group and rats, which have of persistent uncorrected hyperglycemia (n=30). The sample of persistent uncorrected hyperglycemia was reproduced by one-time injection of streptozotocini with dose 50 mg/kg of intraperitoneal. The burn wound of skin was represented with the help of application of metal plate to the side surface of white rat's bodies, with the reproduction of burn of II degree – superficial dermal burn. For the pathomorphological and histochemical studies flaps of skin from lateral region of the body were taken. The common methods of pathomorphological analysis were used. The density of fibroblasts, macrophages and neutrophils was calculated in the square 130*130 mkm of histological slice of the skin with the thickness 7 mkm. The histochemical investigation of oxidoreductase activity was carried out on the cryostat section (10 mkm). The histochemical indicator of oxidoreductase activity was calculated by semiquantitative method. Digital material was processed by methods of variation statistics with the help of Student's test.

Results and discussion. The studies of influence of persistent uncorrected hyperglycemia on repair of burn injury showed that under these conditions the amount of cells of inflammatory infiltration increases and the amount of fibroblasts decreases. It is important to emphasize that the maximum changes in the level of leukocyte-macrophage infiltration and the content of fibroblast cells are observed in 7 days after application of burn injury.

Conclusions. The obtained results allow to assume that during the persistent uncorrected hyperglycemia it is reasonable to use pharmaceuticals with antihypoxic and antioxidative action in the protocols of the treatment process.

Key words: cellular reactions of the connective tissue, burn injury, persistent uncorrected hyperglycemia.

ВОЗМОЖНОСТЬ КОРРЕКЦИИ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭМФИЗЕМЕ ЛЕГКИХ

Коржов В.И., Лискина И.В., Жадан В.Н., Осипенко Б.О., Мельник О.А.

*ГУ “Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии имени Ф.Г. Яновского НАМН Украины”, Киев, Украина
korzhov@ifp.kiev.ua*

Рецензенты: проф. Чумак А.А., проф. Кужко М.М.

Актуальность. Нарушения биохимических механизмов гомеостаза и их коррекция при эмфиземе легких до настоящего изучены недостаточно.

Цель: изучить характер изменений перекисной резистентности, сорбционной емкости эритроцитов и содержания церулоплазмينا в плазме крови и влияние на эти показатели сукцината натрия при экспериментальной эмфиземе легких.

Материалы и методы. Модель эмфиземы легких была воссоздана на 20 белых крысах путем одноразового интратрахеального введения папаина. Для коррекции нарушений использован сукцинат натрия. Изучали перекисную резистентность, сорбционную емкость мембран эритроцитов и содержание церулоплазмينا в плазме крови.

Результаты. Через 3 недели после введения животным папаина у них развилась эмфизема преимущественно панлобулярного типа, сопровождающаяся снижением на 57 % перекисной резистентности, на 31 % сорбционной емкости эритроцитов и на 17 % содержания церулоплазмينا в плазме крови. У животных, получавших сукцинат натрия, эти показатели нормализовались, происходило восстановление кровообращения в ткани легких.

Выводы. Сукцинат натрия при эмфиземе легких улучшает функциональные возможности мембран эритроцитов и плазмы крови.

Ключевые слова: папаин, эмфизема легких, эритроциты, перекисная резистентность, сорбционная емкость, церулоплазмин.

Актуальность. Согласно определению Американского торакального общества, “эмфизема есть анатомическая альтерация легкого, характеризующаяся ненормальным расширением воздушных пространств дистальнее терминальных нереспираторных бронхиол, сопровождающимся деструктивными изменениями альвеолярных стенок” [3]. В контексте этого определения необходимо понимать, что собственно деструкция затрагивает стенки не только альвеол, но и других структур респираторного отдела, включая респираторные бронхиолы, что особенно существенно при центроацинарной эмфиземе. Кроме того, термин “деструкция” в данном определении имеет широкий смысл: он определяет не только собственно механическое разрушение, но и нарушение нормальной структуры легочной ткани. При эмфиземе происходят фенестрация и укорочение межальвеолярных перегородок. Изменяются размеры и конфигурация респираторных бронхиол и альвеол. Отмечается также разрежение гладких мышечных клеток бронхиол, атрофия структурных элементов, как альвеол, так и альвеолярных ходов, респираторных бронхиол. Происходит запустевание капилляров сосудистого русла.

На сегодняшний день выделяют следующие патоморфологические формы эмфиземы лёгких (ЭЛ): 1) центроацинарная, или центрлобулярная; 2) панацитарная, или панлобулярная; 3) периацитарная, или парасептальная; 4) иррегулярная (околорубцовая); 5) буллезная, или буллезная болезнь легкого; 6) ин-

терстициальная. При этом степень выраженности изменений в легких может быть различной [6].

Одним из немногих подходов к выяснению молекулярных механизмов нарушений при ЭЛ является моделирование этого заболевания. В этом плане представляет особый интерес мало изученный вопрос о функционировании эритроцитов при ЭЛ. Являясь уникальной кислородтранспортной системой, эритроциты выполняют в то же время ряд других жизненно важных биохимических функций, участвуя в системах регуляции гомеостаза организма и процессах детоксикации [1].

Среди множества показателей, характеризующих свойства эритроцитов, важным является их резистентность, то есть устойчивость к разрушительным воздействиям различных внешних факторов. Резистентность является интегральным показателем, позволяющим судить о функциональном состоянии эритроцитов [2]. Одновременно с этим следует отметить важную роль компонентов антиоксидантной системы, в частности, церулоплазмينا, в поддержании биохимического гомеостаза крови при гипоксических состояниях [5].

Арсенал лекарственных средств, входящих в базовые схемы лечения ЭЛ, ограничен. При ЭЛ лечение, в основном, симптоматическое.

Положительные эффекты, полученные при использовании с лечебной целью метаболитов цикла трикарбонных кислот, свидетельствуют о возможности их применения при ряде патологических состояний [9].

В связи с этим представляло интерес изучение возможности использования одного из метаболитов цикла трикарбоновых кислот – сукцината – для коррекции нарушений, возникающих при ЭЛ.

Цель: изучить характер изменений перекисной резистентности, сорбционной емкости эритроцитов и содержания церулоплазмينا в плазме крови и влияние на эти показатели сукцината натрия при экспериментальной ЭЛ.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальная модель папаиновой эмфиземы лёгких была воссоздана на половозрелых белых крысах обоего пола, массой 180-200 г, содержащихся на стандартной диете вивария, путем однократного интратрахеального введения растворенного в 0,9 % растворе NaCl папаина (*Sigma Chemical, St. Louis, MO*), из расчета 100 мг/кг массы тела.

Сбор биоматериала для исследования осуществляли с соблюдением правил работы с экспериментальными животными. Эвтаназия крыс осуществлялась путем одномоментной декапитации под легким эфирным наркозом [12].

Животные были распределены на 3 группы. Первая группа (n=10) – интактные, вторая (n=10) – с экспериментальной ЭЛ. В третьей группе (n=10) животным с экспериментальной ЭЛ вводили подкожно в течение трех недель сукцинат натрия в дозе 100 мг/кг.

Исследовали перекисную резистентность (перекисный гемолиз) [8] и сорбционную емкость эритроцитов [4].

В плазме крови определяли содержание церулоплазмينا [7].

В работе был использован двух-лучевой УФ/Вид спектрометр “*Lambda 25*” фирмы *Perkin Elmer*.

Для подтверждения развития ЭЛ у экспериментальных животных было проведено гистологическое исследование легочной ткани.

Статистическую обработку результатов исследования проводили с помощью компьютера, с использованием пакета прикладных программ “*Excel*”. Достоверно отличными считали результаты при $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенных гистологических исследований установлено, что через 3 недели после интратрахеального введения животным папаина эмфизематозные изменения в легких были достаточно хорошо выражены, и приблизительно соответствовали I-II степени выраженности по Есиповой И.К. [2]. Тем не менее, такие изменения различались по степени выраженности в разных участках легких – от слабо представленных до участков с видимыми разрывами альвеолярных перегородок. Наблюдали

увеличенную ширину входа в альвеолы. Встречались значительно расширенные респираторные ходы и респираторные бронхиолы. Отмечалось заметное уменьшение количества клеток в альвеолярных стенках. Кроме того, повсеместно наблюдались небольшие очаги плазморрагий в альвеолах, что, вероятно, являлось следствием повреждения стенок капилляров, расположенных в межальвеолярных перегородках. В целом также определялось выраженное кровенаполнение сосудистого русла с наличием очаговых диапедезных кровоизлияний. Также достаточно часто определялся умеренный интерстициальный отек, преимущественно в области межальвеолярных перегородок. Таким образом, у животных развилась ЭЛ преимущественно панлобулярного типа (рис. 1).

Наряду с легочной тканью, в патологический процесс была вовлечена и кровь.

Полученные данные свидетельствуют о достоверном снижении на 57 % перекисной резистентности и на 31 % сорбционной емкости эритроцитов при ЭЛ (таблица).

Усиление перекисного гемолиза эритроцитов, являющегося чувствительным показателем, отражающим про- и антиоксидантный баланс организма, свидетельствовало о дисбалансе этих процессов при ЭЛ.

Изменения сорбционной емкости эритроцитов можно рассматривать как индикатор повреждения мембран. Снижение сорбционной емкости при ЭЛ, возможно, обусловлено тем, что токсичные вещества, которые накапливаются вследствие сниженного уровня газообмена в альвеолах, связываются с рецепторами эритроцитов и приводят к её снижению вследствие нарушения нормального функционирования рецепторов.

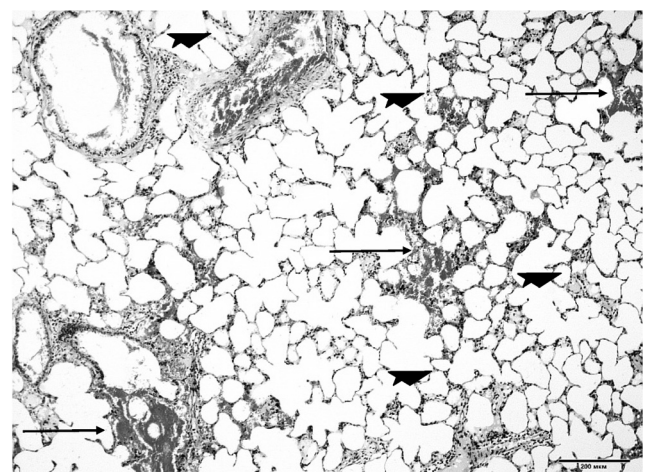


Рис. 1. Состояние легочной ткани через три недели после однократного введения папаина. Определяются умеренные эмфизематозные изменения (звездочки) и нарушения местного кровообращения – внутриальвеолярные кровоизлияния, эритродиапедез (стрелки). Окраска гематоксилином и эозином. Увеличение $\times 40$.

Таблица

Влияние сукцината натрия на перекисную резистентность, сорбционную емкость эритроцитов и содержание церулоплазмينا в плазме крови при экспериментальной эмфиземе легких

Группы исследования	Перекисная резистентность эритроцитов / уровень гемолиза, %	Сорбционная емкость эритроцитов, %	Содержание церулоплазмينا, ммоль/л
Группа 1 (контроль)	6,42±0,64	89,29 ± 0,99	3,23 ± 0,12
Группа 2 (эмфизема)	10,09 ± 1,36*	61,83 ± 2,73*	2,68 ± 0,22*
Группа 3 (эмфизема +сукцинат)	6,82 ± 0,98	89,30±0,89	3,25 ± 0,14

Примечание: * – $p < 0,05$ в сравнении с контрольной группой 1 (интактные животные).

Одновременно с этим в плазме крови наблюдалось достоверное снижение, на 17 %, содержания церулоплазмينا – медьсодержащей оксидазы, относящейся к альфа-2-глобулиновой фракции плазмы крови, являющейся участником множества процессов, имеющих как ферментативную, так и не ферментативную природу. Он принимает участие в транспорте меди, обмене железа, обладает антиоксидантной функцией, регулирует перекисное окисление липидов и др. [5].

У животных с эмфиземой легких, получавших в течение трех недель сукцинат натрия, эмфизематозные изменения сохранялись и также различались по степени выраженности в разных участках легких – от слабо представленных до участков с видимыми разрывами альвеолярных перегородок. В единичных случаях были представлены минимальные эмфизематозные изменения.

Однако, достоверно чаще (практически во всех наблюдениях) отсутствовали признаки расстройства кровообращения в легких: не отмечены диапедезные кровоизлияния и/или плазморрагии в альвеолярных перегородках или внутри альвеол. Кроме того, не отмечался межочечный отек легочной паренхимы (рис. 2).

Введение сукцината натрия способствовало нормализации уровня гемолиза эритроцитов и сорбционной емкости их мембран.

В плазме крови содержание церулоплазмينا также возросло до уровня контрольной величины.

Известно, что дезинтеграции метаболических процессов при различных патологических состояниях способствуют нарушения в образовании, транспорте и использовании энергии, снижение активности антиоксидантной системы, расстройства системы детоксикации ксенобиотиков. Довольно перспективным направлением является выполнение коррекции биохимических процессов с помощью метаболитов различных путей превращения веществ, среди которых важное место отводится метаболитам трикарбонового цикла. Наиболее изученным и эффективным метаболитом этого цикла является сукцинат [9, 11]. Это нетоксичное, не накапливаемое в организме вещество, которое отличается быстротой усвоения в качестве энергетического и пластического материала, обладает выраженными антиоксидантными и противогипоксическими свойствами.

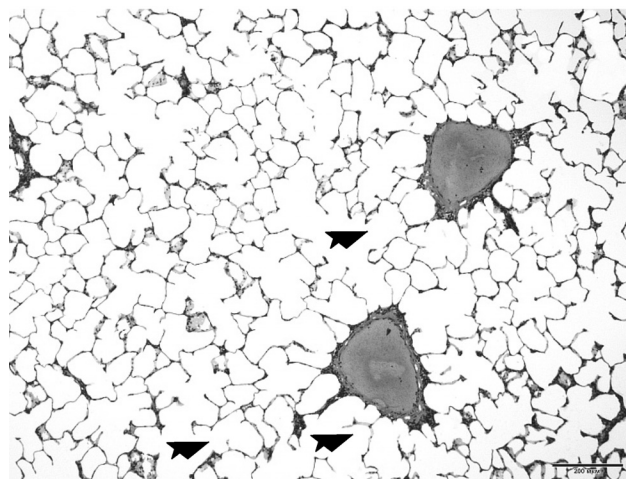


Рис. 2. Состояние легочной ткани через три недели после однократного введения папаина и ежедневного введения сукцината натрия. Эмфизематозные изменения представлены в меньшей степени (звездочки). Отсутствуют признаки нарушения кровообращения. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. x40.

Сукцинатсодержащие препараты (цитофлавин, ремаксол, метопролол и др.) при различных патологических состояниях также способствуют стабилизации процессов перекисидации и активации ряда компонентов антиоксидантной системы [10].

Следует отметить, что действие сукцината носит неспецифический характер.

Установленное нами мембраностабилизирующее и антиоксидантное действие, восстановление кровоснабжения ткани легких при ЭЛ связано, прежде всего, с его вышеперечисленными метаболическими эффектами.

ВЫВОДЫ

При экспериментальной папаиновой эмфиземе (срок наблюдения – 3 недели) у крыс происходит формирование типичной панлобулярной эмфиземы легких, отмечается нарушение структурной организации мембран эритроцитов, уменьшение содержания церулоплазмينا в плазме крови.

Введение в течение 3 недель животным с эмфиземой легких сукцината натрия способствует вос-

становлению нормальной микроциркуляции в легочной ткани, улучшению функциональных возможностей мембран эритроцитов и нормализации уровня церулоплазмину в плазме крови.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что не имеют конфликта интересов, который может восприниматься таким, что может нанести вред беспристрастности статьи.

Источники финансирования. Работа выполнена за счет средств государственного бюджета.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ведунова М.В. Уровень эндогенной интоксикации при метаболическом синдроме / М.В. Ведунова, К.Н. Конторщикова, Н.А. Добротина // Вестник Нижегородского университета им. Н.И. Лобачевского. – 2008. – № 2. – С. 87-90.
2. Веснина Н.В. Физико-химические особенности мембран эритроцитов у жителей Среднего Приобья / Н.В. Веснина, Л.М. Леонова, Э.А. Кашуба [и др.] // Медицинская наука и образование Урала. – 2008. – № 1. – С. 72-73
3. Высоцкий А.Г. Буллезная эмфизема легких: этиология, патогенез, классификация / А.Г. Высоцкий // Новости медицины и фармации. – 2008. – № 256. – 18 с.
4. Копытова Т.В. Исследование сорбционной емкости эритроцитов для оценки характера эндогенной интоксикации при дерматозах / Т.В. Копытова // Клиническая лабораторная диагностика. – 2006. – № 1. – С. 18-19.
5. Крайнова Т.А. Церулоплазмин. Биологические свойства и клиническое применение / Т.А. Крайнова, Л.М. Ефремова // Нижний Новгород: НГМА, 2000. – 31 с.
6. Легкое в патологии. Часть 1 / Под ред. проф. И.К. Есиповой. – Новосибирск: “Наука”, 1975. – С. 76-117.
7. Мжельская Т.И. Активность церулоплазмину сыворотки крови при прогрессирующих заболеваниях центральной нервной системы / Т.И. Мжельская, И.А. Завалишин, В.Г. Иванова-Смоленская // Лаб. дело. – 1989. – № 11. – С. 12-16.
8. Покровский А.А. К вопросу о перекисной резистентности эритроцитов / А.А. Покровский, А.А. Абрамов // Вопросы питания. – 1964. – № 6. – С. 44-49).
9. Регулятори енергетичного обміну (янтарна кислота та її солі) і можливості їх використання в оптимізації лікувально-реабілітаційних програм у клінічній педіатрії: Методичний посібник / За ред. Л.П. Арабської, Ю.Г. Антипкіна, О.А. Смірної. – К., 2006. – 52 с.
10. Суханов Д.С. Фармакологическая активность сукцинатсодержащих препаратов при хроническом поражении печени различными иницирующими агентами / Д.С. Суханов, А.Ю., Петров, М.Г. Романцов [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2011. – № 5. – С. 159-168.
11. Хазанов В.А. Фармакологическая регуляция энергетического обмена / В.А. Хазанов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – № 4. – С. 61-64.
12. Червонская Г.П. Этика медико-биологического эксперимента в доклинических исследованиях / Г.П. Червонская, Г.П. Панкратова, Л.А. Миронова // Токсикологический вестник. – 1998. – № 3. – С. 2-8.

Отримано: 15.02.2017

МОЖЛИВІСТЬ КОРЕКЦІЙ ПОКАЗНИКІВ КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЕМФІЗЕМІ ЛЕГЕНЬ

Коржов В.І., Ліскіна І. В., Жадан В.М., Осипенко Б.О., Мельник О.О.

ДУ “Національний інститут фізіотерапії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України”, Київ, Україна

Актуальність. Порушення біохімічних механізмів гомеостазу та їх корекція при емфіземі легень наразі недостатньо вивчені.

Мета: дослідити характер змін перекисної резистентності, сорбційної ємності еритроцитів і вмісту церулоплазмину в плазмі крові зі впливом на ці показники сукцинату натрію при експериментальній емфіземі легень.

Матеріали та методи. Модель емфіземи легень була відтворена у 20 білих щурів шляхом одноразового інтратрахеального введення папаїну. Для корекції порушень використовували сукцинат натрію. Вивчали перекисну резистентність, сорбційну ємність мембран еритроцитів та вміст церулоплазмину в плазмі крові.

Результати. Через 3 тижні після введення тваринам папаїну у них розвинулась емфізема переважно панлобулярного типу, що супроводжувалася зниженням на 57 % перекисної резистентності, на 31 % сорбційної ємності еритроцитів і на 17 % вмісту церулоплазмину в плазмі крові у тварин, що отримували сукцинат натрію, ці показники нормалізувалися, відбувалося відновлення кровообігу в тканині легень.

Висновки. Сукцинат натрію при емфіземі легень покращує функціональні можливості мембран еритроцитів та плазми крові.

Ключові слова: папаїн, емфізема легень, еритроцити, перекисна резистентність, сорбційна ємність, церулоплазмин.

THE POSSIBILITY OF CORRECTION OF BLOOD INDICATORS IN EXPERIMENTAL EMPHYSEMA OF LUNGS

Korzhov V. I., Liskina I.V., Zhadan V. N., Osypenko B.O., Melnyk O. A.

SO " F.G. Yanovsky National institute of phthisiology and pulmonology NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Relevance. Disorders of biochemical mechanisms of homeostasis and their correction in emphysema of the lungs to the present have not been adequately studied.

The aim: to study the character of changes in peroxide resistance, the sorption capacity of erythrocytes, and the content of ceruloplasmin in the blood plasma with the effect of sodium succinate to these parameters under experimental pulmonary emphysema.

Materials and methods. The model of emphysema was created on white rats by a single-dose intratracheal administration of papain. Succinate sodium was used to correct the disorders. It was studied peroxide resistance, the sorption capacity of erythrocyte membranes and the content of ceruloplasmin in the blood plasma.

Results. Three weeks after the administration of papain to animals, they developed emphysema predominantly of the panlobular type, accompanied by a 57% decrease in peroxide resistance, 31% of sorption capacity of erythrocytes, and 17% of ceruloplasmin content in blood plasma. In animals that received sodium succinate, these parameters returned to normal, blood circulation in the lung tissue was restored.

Conclusion. Sodium succinate improves the functional capacity of membranes of erythrocytes and blood plasma in lung emphysema.

Key words: papain, pulmonary emphysema, erythrocytes, peroxide resistance, sorption capacity, ceruloplasmin.

ВПЛИВ СУКЦИНАТУ НАТРІЮ НА АКТИВНІСТЬ ГЛУТАТІОН-ЗАЛЕЖНИХ ФЕРМЕНТІВ У КРОВІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЕМФІЗЕМІ ЛЕГЕНЬ

Жадан В.М., Коржов В.І.

*ДУ “Національний інститут фізіатрії і пульмонології ім. Ф.Г. Яновського
НАМН України”, Київ, Україна
zhadan@ifp.kiev.ua*

Рецензенти: проф. Мхитарян Л.С., д.мед.н. Рекалова О.М.

Актуальність. Вивчення функціональної активності глутатіон-залежної ферментної системи дасть змогу визначити критерії метаболічних порушень при емфіземі легень і обґрунтувати можливість їх корекції сукцинатом натрію.

Мета. Дослідити вплив сукцинату натрію на функціональний стан глутатіон-залежних ферментів у крові в умовах експериментальної емфіземи легень при введенні різних доз папаїну.

Матеріали і методи. Емфізему легень у 48 щурів моделювали шляхом одноразового інтратрахеального введення розчину папаїну у дозах 50 мг/кг (n=16), 75 мг/кг (n=16) та 100 мг/кг (n=16) маси тіла. Після цього 24 щурам вводили 5 % розчин сукцинату натрію з лікувальною метою підшкірно в дозі 100 мг/кг маси тіла щодня протягом 3 тижнів. Стан глутатіон-залежної ферментної системи вивчали за активністю ферментів – глутатіон-редуктази, глутатіон-трансферази й глутатіон-пероксидази.

Результати. При емфіземі легень відбувається зниження активності основних глутатіон-залежних ферментів у крові, що свідчить про зниження процесів антиоксидантного захисту, яке може призводити до системних метаболічних порушень. Не встановлено чітких закономірностей між виявленими біохімічними порушеннями і дозою папаїну. Доведено, що застосування сукцинату натрію з лікувальною метою протягом трьох тижнів, незалежно від дози папаїну, призводить до нормалізації активності ферментів.

Висновки. Зниження активності ферментів глутатіонового метаболізму можна вважати однією з важливих ланок патогенезу емфіземи. Застосування сукцинату натрію виявляло стимулюючий вплив на активність основних глутатіон-залежних ферментів.

Ключові слова: емфізема легень, глутатіон-залежні ферменти, сукцинат натрію.

Актуальність. Емфізема легень (ЕЛ) займає одне із провідних місць серед захворювань органів дихання як по поширеності, так і по тяжкості проявів [2]. Терміном “емфізема легень” позначаються патологічні процеси в легенях, що характеризуються підвищеним вмістом повітря в легеневої тканині. Це хронічне легеневе захворювання, що характеризується порушенням дихання й газообміну в легенях. Назва хвороби походить від греч. *emphusao* – “вдмухувати”, “роздмухувати”. Емфізема легень поряд із хронічним обструктивним бронхітом і бронхіальною астмою відноситься до групи хронічних обструктивних захворювань легень (ХОЗЛ). Захворюваність на емфізему легень постійно зростає, особливо в осіб літнього віку. На аутопсії емфізема виявляється більш ніж у 60 % пацієнтів, що вмерли після 60 років, у той час як клініцисти ставлять цей діагноз менш, чим у 20 % випадків. Значна поширеність цього захворювання, прогресуюче протікання, тимчасова непрацездатність і рання інвалідизація хворих через розвиток дихальної недостатності й легеневого серця наносять значний економічний збиток, що свідчить про нестачу розробок, які стосуються біохімічних механізмів порушень і можливості їх корекції при даній патології [11].

Сучасні дослідження свідчать, що одним із основних вторинних ушкоджуючих факторів при емфіземі легень є оксидативний стрес, який супроводжується активацією перекисного окиснення ліпідів, окисною модифікацією білків, змінами в ферментативній та неферментативній ланках антиоксидантної захисної системи [3, 5, 7]. Відомо, що гіпоксія є однією з найголовніших причин активізації процесів вільнорадикального й пероксидного окиснення й розвитку оксидативного стресу [3]. Надійність захисту клітин від ушкоджуючого впливу вільних радикалів і продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в цілому визначається ступенем збалансованості в системі антиоксидантного захисту. В умовах утрудненого дихання і гіпоксії біологічні антиоксиданти та антиоксидантні ферменти відіграють істотну роль у процесах окиснення й відновлення та компенсаторно-приспосовних механізмах, у розвитку адаптаційних процесів при патологічному стані [4, 5].

Не менш важливим є пошук засобів, за допомогою яких можна впливати на життєво важливі метаболічні процеси [9]. В значній мірі цим вимогам відповідають лікарські засоби, що коригують метаболічні порушення й підвищують стійкість тканин до гіпоксії. Перспективним у цьому напрямку представ-

ляється застосування сукцинатвмісних сполук, які мають цілий ряд властивостей. Відомо, що при глибокій гіпоксії, що розвивається при емфіземі легень, дихальний ланцюг мітохондрій одержує водень в основному від янтарної кислоти, тому що при її окисненні водень надходить на значно більш близьку до кисню ділянку дихального ланцюга [1]. У цей час янтарну кислоту і її солі досить широко використовують при різних патологічних станах, що супроводжуються активацією вільнорадикального окиснення й розвитком гіпоксії, зокрема при ішемічній хворобі серця, гострих і хронічних порушеннях мозкового кровообігу, токсичної енцефалопатії, судинних захворюваннях сітківки й зорового нерва. Однак ефекти сукцинатвмісних сполук при легеневої патології, зокрема при емфіземі легень, вивчені недостатньо.

Мета: дослідити вплив сукцинату натрію на функціональний стан глутатіон-залежних ферментів у крові в умовах експериментальної емфіземи легень при введенні різних доз папаїну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експериментальні дослідження проведено на 58 статевозрілих, безпородних, білих щурах обох статей, масою 180-200 г, які утримувались на стандартній дієті виварію.

Експериментальну папаїнову емфізему легень відтворювали у 48 щурів шляхом одноразового інтратрахеального введення під легким ефірним наркозом 0,5 мл розчину папаїну у дозах 50 мг/кг (n=16), 75 мг/кг (n=16) та 100 (n=16) мг/кг маси тіла, відповідно [8].

При кожній дозі папаїну, що була застосована для моделювання емфіземи легень, тварин розподіляли на 2 підгрупи: 1 підгрупа (n=8) – тварини з емфіземою легень; 2 підгрупа (n=8) – тварини з емфіземою легень, яким вводили 5 % розчин сукцинату натрію з лікувальною метою підшкірно в дозі 100 мг/кг маси тіла щодня протягом 3 тижнів.

У контрольну групу увійшли 10 інтактних тварин.

Тварин виводили з експерименту шляхом декапітації під легким ефірним наркозом. Об'єктом дослідження були відмиті від плазми і гемолізовані еритроцити щурів. Забір матеріалу для дослідження здійснювали при суворому дотриманні правил роботи з експериментальними тваринами [10].

Про стан глутатіон-залежної ферментної системи крові судили по активності глутатіон-редуктази (ГР), глутатіон-трансферази (ГТ), глутатіон-пероксидази (ГПО).

Математичний аналіз отриманих даних виконували з використанням методу варіаційної статистики за стандартними ліцензійними комп'ютерними програмами. Відмінності між групами оцінювали за допомогою t-критерію Ст'юдента. Вірогідною вважали різницю при ймовірній похибці менше ніж 5 % (P < 0,05).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Інтратрахеальне введення тваринам папаїну закономірно супроводжувалось розвитком емфіземи, що підтверджувалось гістоморфологічними дослідженнями тканини легень. Отримані результати свідчать про різницю ступеню емфіземи залежно від застосованої дози папаїну, що вводилась. По ступеню виразності гістологічних змін легеневої тканини при застосуванні папаїну в дозі 50 мг/кг спостерігається перший ступінь (слабо виражена). При застосуванні папаїну в дозі 75 мг/кг та 100 мг/кг емфізематозні зміни виражені набагато більше, приблизно відповідають I-II ступені виразності.

Комплекс ферментів – ГПО, ГТ і ГР в умовах окисного стресу є найбільш потужною лінією антиоксидантного захисту. Глутатіон-залежні ферменти обмежують процеси ПОЛ і виявляють мембраностабілізуючий ефект шляхом детоксикації H_2O_2 і відновлення нестабільних органічних гідропероксидів клітинних мембран. Ступінь порушення стану системи глутатіону, у тому числі й декомпенсацію її функціональних можливостей, мабуть, слід оцінювати не тільки виходячи з визначення таких параметрів, як рівень відновленого глутатіону й сульфгідрильних груп білків, але й з рівня активності ферментів обміну глутатіону, що входять до неї [6, 9].

Наведені нижче експериментальні дані дозволяють говорити, що зміни ферментативної ланки обміну глутатіону приймають участь у патогенезі емфіземи легень.

Ефективне виконання системою глутатіону таких функцій, як антирадикальний захист і підтримка тіол-дисульфідної рівноваги здійснюється завдяки збереженню достатнього рівня відновленого глутатіону (ВГ) у тканинах, підтримка якого в клітинах відбувається 2 шляхами: шляхом синтезу глутатіону *de novo* в γ -глутамілтрансферазному циклі й шляхом відновлення його з окисненої форми. При цьому активність глутатіон-редуктази (ГР) є фактором, що лімітує підтримку рівня ВГ у тканинах, тому що швидкість його синтезу в тканинах набагато нижче НАДФН-залежного відновлення окисненої форми глутатіону за допомогою ГР [6, 7, 12].

При всіх трьох застосованих дозах папаїну для моделювання емфіземи легень антиоксидантні ефекти компонентів глутатіон-залежної системи (ГР, ГТ і ГПО) в еритроцитах знижувалися, сприяючи збільшенню проявів окисного стресу.

Порівняльна оцінка динаміки активності ГР в еритроцитах дозволила виявити наступні закономірності. При дозі папаїну 50 мг/кг маси тіла через 3 тижні після введення препарату спостерігалось зниження активності ГР на 40,6 % (p < 0,05) відносно контролю (таблиця). При застосуванні більш високої дози папаїну для моделювання емфіземи легень –

75 мг/кг маси тіла, активність ГР вірогідно знижувалась через 3 тижні на 38,3 % відносно значень у інтактних щурів. Після введення шурам папаїну в дозі 100 мг/кг маси тіла через 3 тижні після моделювання експериментальної патології відбувалось зниження ферментативної активності ГР порівняно з контролем на 29,9 %.

ГТ займає одне з центральних місць у механізмах природної детоксикації, включаючи особисту участь, як у процесах кон'югації, так і в захисті клітини від органічних гідропероксидів [6]. У зміні активності ГТ при експериментальній емфіземі легень відзначалися наступні особливості: при введенні папаїну в дозі 50 мг/кг маси тіла активність ГТ мала тенденцію до зниження, тобто була не вірогідно знижена на 13,2 % через 3 тижні після моделювання патології порівняно з контролем. При застосуванні папаїну в дозі 75 мг/кг активність ГТ вірогідно знижувалась на 15,5 %. При застосуванні дози папаїну 100 мг/кг маси тіла через 3 тижні її активність вірогідно знижувалась на 17,0 %. Через зниження активності глутатіон-трансферази в крові зростає кількість токсичних для легеневої тканини ліпопероксидних та фенольних сполук, які відіграють певну роль у розвитку патологічного процесу.

В умовах окисного стресу особливо важлива роль ГПО, тому що вона попереджає виникнення й розвиток пероксидації, усуває її джерела й продукти, ГПО – є одним з найважливіших компонентів ферментативної антиоксидантної системи [6]. Проведене нами дослідження дозволило встановити, що розвиток емфіземи легень супроводжувався зниженням ферментативної активності ГПО у крові лабораторних тварин. Після введення папаїну в дозі 50 мг/кг через 3 тижні активність ферменту вірогідно знижувалась на 25,8 % в порівнянні з контролем. При застосуванні дози папаїну 75 мг/кг через 3 тижні після моделювання емфіземи її активність була вірогідно знижена на 47,0 %. Після введення шурам папаїну в дозі 100 мг/кг активність ГПО через 3 тижні вірогідно знижувалась на 21,9 % (табл.). Така метаболічна

особливість може свідчити про високу інтенсивність системного оксидативного стресу.

Підсумовуючи отримані дані про динаміку змін активності всіх трьох глутатіон-залежних ферментів, можна відзначити, що при емфіземі легень відбувається зниження активності основних глутатіон-залежних ферментів у крові, що свідчить про зниження процесів антиоксидантного захисту, яке може призводити до системних метаболічних порушень. Не встановлено чітких закономірностей між виявленими біохімічними порушеннями і дозою папаїну.

Аналізуючи ефективність використання сукцинату натрію при експериментальній емфіземі легень, було відзначено, що при його введенні з лікувальною метою нормалізується активність всіх трьох глутатіон-залежних ферментів. Дослідження показали, що застосування сукцинату натрію виявляло виражений індукуючий вплив на активність глутатіон-залежних ферментів у крові щурів з експериментальною емфіземою легень. Введення сукцинату натрію з лікувальною метою протягом 3 тижнів при дозі папаїну 50 мг/кг маси тіла призводило до вірогідного підвищення зниженої активності ферменту ГР на 79,5 % відносно показників у тварин з ЕЛ без корекції даним препаратом. Активність ферменту ГТ вірогідно зростала на 35,1 %, активність ферменту ГПО підвищувалась під дією сукцинату натрію на 46,0 % відносно групи тварин з ЕЛ без лікування.

При вивченні впливу сукцинату натрію на стан глутатіон-залежної ферментної системи крові при експериментальній ЕЛ, що була змодельована шляхом введення папаїну в дозі 75 мг/кг маси тіла, встановлено вірогідне підвищення активності ферменту ГР на 59,2 % порівняно з показниками у щурів без лікування. Активність ферменту ГТ після застосування сукцинату натрію з лікувальною метою протягом 3 тижнів підвищувалась на 45,6 %, активність ферменту ГПО підвищувалась під дією сукцинату натрію на 103,9 % порівняно групою тварин з ЕЛ, що не була пролікована препаратом (табл.).

Таблиця

Вплив 3-тижневого введення сукцинату натрію на активність глутатіон-залежних ферментів у крові в умовах експериментальної емфіземи легень

Група	Активність ферментів, М ± m		
	ГР, мкмоль НАДФН × (хв/г Hb) ⁻¹	ГТ, мкмоль GSH × (хв/г Hb) ⁻¹	ГПО, мкмоль GSH × (хв/г Hb) ⁻¹
Контроль (інтактні щури)	3,45 ± 0,19	2,13 ± 0,15	276,04 ± 14,60
Папаїн, 50 мг/кг	2,05 ± 0,17*	1,85 ± 0,13	204,83 ± 36,64*
Папаїн, 50 мг/кг+сукцинат Na	3,68 ± 0,15 [#]	2,50 ± 0,13 [#]	299,15 ± 38,79 [#]
Папаїн, 75 мг/кг	2,13 ± 0,16*	1,80 ± 0,09*	146,36 ± 15,14*
Папаїн, 75 мг/кг + сукцинат Na	3,39 ± 0,15 [#]	2,62 ± 0,15 [#]	298,43 ± 28,43 [#]
Папаїн, 100 мг/кг	2,42 ± 0,26*	1,77 ± 0,09*	215,56 ± 15,33*
Папаїн, 100 мг/кг+сукцинат Na	3,24 ± 0,17 [#]	2,62 ± 0,24 [#]	303,44 ± 19,90 [#]

Примітки: * – різниця показників відносно інтактних щурів вірогідна (P < 0,05);

– різниця показників відносно щурів з емфіземою легень без введення сукцинату натрію вірогідна (P < 0,05).

Після застосування сукцинату натрію з лікувальною метою протягом 3 тижнів спрямованість змін активності глутатіон-залежних ферментів у крові тварин з експериментальною ЕЛ, що була змодельована шляхом введення папаїну в дозі 100 мг/кг маси тіла, збігалася з такою як й при інших дозах папаїну, тобто, знижена активність ферментів циклу глутатіону відновлювалась до значень здорових тварин. Після введення сукцинату натрію відбувалось підвищення активності ГР на 33,9 %, активності ГТ – на 48,0 %, активності ГПО – на 40,8 % відносно щурів з ЕЛ без лікування препаратом.

Таким чином, в дослідженнях на щурах з експериментальною ЕЛ, які отримували фармакотерапію, було встановлено, що незалежно від дози папаїну, що застосовувалась для моделювання патології, сукцинат натрію має виражений реактивуючий вплив на ферменти ГР, ГТ та ГПО в крові.

ВИСНОВКИ

Зниження активності ферментів глутатіонового метаболізму можна вважати однією з важливих ланок патогенезу емфізему. В механізмах захисту при емфіземі значну роль відіграє ферментна система глутатіону.

Застосування сукцинату оказує коригуючий ефект на глутатіонову систему.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Робота виконана за кошти державного бюджету.

ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеева Л. В. Янтарная кислота – основное действующее вещество новых метаболических препаратов / Л. В. Алексеева [и др.] // Врач. – 2001. – № 12. – С. 29-31.
2. Аспекты патогенеза эмфиземы легких у больных ХОБЛ // А. В. Аверьянов [и др.] // Пульмонология. – 2008. – № 3. – С. 35-41.

3. Біохімічні та фізіологічні зміни в крові при експериментальній емфіземі / Я.І. Русінчук [и др.] // Здобутки клінічної і експериментальної медицини. – 2016. – № 3. – С. 65-67.
4. Григорьева Н.Ю. Хроническая обструктивная болезнь легких: новое о патогенетических механизмах / Н.Ю. Григорьева, А.Н. Кузнецов, Е. Г. Шарабрин // СТМ. – 2011. – № 1. – С. 112-116.
5. Калматов Р.К. Роль механизмов свободнорадикального окисления в патогенезе локальной поразки верхних дыхательных путей / Р.К. Калматов, С.Т. Жолдошев // Молодой ученый. – 2015. – № 10. – С. 417-422.
6. Минаева Л. В. Экспериментальная оценка роли изменений системы глутатиона в реализации побочных цитотоксических эффектов повторного введения циклофосфана : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 14.00.20 / Минаева Любовь Валерьевна ; Военно-медицинская Академия им. С.М. Кирова. – С.-Пб., 2007. – 22 с.
7. Роль окислительного стресса в патогенезе хронической обструктивной болезни легких / Л.Е. Муравлева [и др.] // Успехи современного естествознания. – 2012. – № 9. – С. 12-16.
8. Серебровская М.Т. Сурфактантная система легких при экспериментальной папаиновой эмфиземе / М.Т. Серебровская, В.В. Шишканов, М.Т. Айтуков // Пат. физиология и эксперим. терапия. – 1982. – № 5. – С. 63-64.
9. Соодаева С. К. Окислительный стресс и антиоксидантная терапия при заболеваниях органов дыхания / С.К. Соодаева // Пульмонология. – 2006. – № 5. – С. 122-126.
10. Червонская Г.П. Этика медико-биологического эксперимента в доклинических исследованиях / Г.П. Червонская., Г.П. Панкратова., Л.А. Миронова // Токсикологический вестник. – 1998. – № 3. – С. 2-8.
11. Шмелев Е.И. Свежий взгляд на ХОБЛ / Е.И. Шмелев // Атмосфера. Пульмонология и аллергология. – 2011. – № 4. – С. 51-54.
12. Fischer V. M. Pathogenic triad in COPD: oxidative stress, protease-antiprotease imbalance, and inflammation / V.M Fischer, E. Pavlisko, J.A. Voynow // Int. J. Chron. Obstruct. Pulmon. Dis. – 2011. – Vol. 6. – P. 413-421.

Отримано 28.05.2017

ВЛИЯНИЕ СУКЦИНАТА НАТРИЯ НА АКТИВНОСТЬ ГЛУТАТИОН-ЗАВИСИМЫХ ФЕРМЕНТОВ В КРОВИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЭМФИЗЕМЕ ЛЕГКИХ

Жадан В. Н., Коржов В. И.

*ГУ “Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины”,
Киев, Украина*

Актуальность. Изучение функциональной активности глутатіон-зависимой ферментной системы даст возможность определить критерии метаболических нарушений при эмфіземе легких и обосновать возможность их коррекции сукцинатом натрия.

Цель. Исследовать влияние сукцината натрия на функциональное состояние глутатіон-зависимых ферментов в крови при экспериментальной эмфіземе легких после введения разных доз папаина.

Матеріали і методи. Емфізему легких у крыс моделювали путем одноразового интратрахеального введения раствора папаина в дозах 50 мг/кг (n=16), 75 мг/кг (n=16) и 100 мг/кг (n=16) массы тела. После этого 24 крысам в течение 3 недель вводили 5% раствор сукцината натрия с лечебной целью подкожно в дозе 100 мг/кг массы тела ежедневно. Состояние глутатион-зависимой ферментной системы изучали по активности ферментов глутатион-редуктазы, глутатион-трансферазы и глутатион-пероксидазы.

Результаты. При эмфиземе легких происходит снижение активности основных глутатион-зависимых ферментов в крови, свидетельствующее о снижении процессов антиоксидантной защиты, что может приводить к системным метаболическим нарушениям. Не установлены четкие закономерности между установленными биохимическими нарушениями и дозой папаина. Доказано, что применение сукцината натрия с лечебной целью приводит к нормализации активности исследуемых ферментов.

Выводы. Снижение активности ферментов глутатионового метаболизма можно считать одним из важных звеньев патогенеза эмфиземы. Применение сукцината натрия оказывало стимулирующее влияние на активность основных глутатион-зависимых ферментов.

Ключевые слова: эмфизема легких, глутатион-зависимые ферменты, сукцинат натрия.

THE IMPACT OF SODIUM SUCCINATE ON THE ACTIVITY OF GLUTATHIONE-DEPENDENT ENZYMES IN THE BLOOD AT EXPERIMENTAL PULMONARY EMPHYSEMA

Zhadan V.N., Korzhov V.I.

SO "National institute of phthisiology and pulmonology named after F.G. Yanovsky NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Introduction. The study of the functional activity of the glutathione-dependent enzyme system will make possibility to determine the criteria for metabolic disturbances in pulmonary emphysema and to justify the possibility of their correction with sodium succinate.

Objective. To study the effect of sodium succinate on the functional state of glutathione-dependent enzymes in the blood at experimental emphysema after administration of different doses of papain.

Materials and methods. Emphysema of the lungs in rats was modeled by a single-dose intratracheal administration of papain solution at doses of 50 mg/kg (n=16), 75 mg/kg (n=16) and 100 mg/kg (n=16) of body weight. After this 24 rats were administered 5% sodium succinate solution for 3 weeks for a therapeutic purpose subcutaneously in a dose of 100 mg / kg body weight daily. The state of the glutathione-dependent enzyme system was studied according to activity of enzymes – glutathione-reductase, glutathione-transferase and glutathione-peroxidase.

Results. The obtained data on the dynamics of changes in the activity of three glutathione-dependent enzymes showed that with emphysema, the activity of the main glutathione-dependent enzymes in the blood is decrease, indicating about decreasing of antioxidant defense processes, which can lead to systemic metabolic disturbances. There are no clear correlation between the established biochemical disorders and the dose of papain. It has been proved that the use of sodium succinate for therapeutic purposes leads to a normalization of the activity of the enzymes under study.

Conclusions. The decrease in the activity of glutathione metabolism enzymes can be considered one of the important links in the pathogenesis of emphysema. The use of sodium succinate had a stimulating effect on the activity of the main glutathione-dependent enzymes.

Key words: pulmonary emphysema, glutathione-dependent enzymes, sodium succinate.

ВПЛИВ ТРАНСПЛАНТАЦІЇ ТКАНИНИ ФЕТАЛЬНОЇ НИРКИ НА ПЕРЕБІГ СИНДРОМУ СПАСТИЧНОСТІ ТА ХРОНІЧНОГО БОЛЬОВОГО СИНДРОМУ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ТРАВМІ СПИННОГО МОЗКУ

¹Цимбалюк В.І., ²Медведєв В.В., ³Сенчик Ю.Ю., ¹Татарчук М.М.,
¹Драгунцова Н.Г., ¹Дичко С.М.

¹ ДУ “Інститут нейрохірургії ім. акад. А.П. Ромоданова НАМН України”, Київ, Україна

² Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

³ Київська міська клінічна лікарня швидкої медичної допомоги, Київ, Україна

yavo2010@gmail.com

Рецензенти: проф. Мельник В.С. доц. Лузан Б.М.

Актуальність. Створення засобів впливу на ангиогенез у зоні травми є перспективним, хоча і дискусійним напрямком нейроінженерії. Експресія тканиною травмованого спинного мозку ангиогенних факторів корелює зі станом спастичності. У тканині фетальної нирки наявні стовбурові клітини мезенхімальної генеалогії, ангиогенні фактори росту.

Мета. Дослідити вплив аlogenної трансплантації тканини фетальної нирки (ТТФН) на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому на моделі травми спинного мозку.

Матеріали та методи. Дослідження виконано на самцях білих безпородних щурів (n=31), вік 5,5 міс, маса 300 г. Було сформовано 3 групи: 1) контрольна (n=16), тваринам якої моделювали травму спинного мозку – лівобічний перетин половини поперечника спинного мозку на рівні T₁₁; 2) ТТФН (n=8), тваринам якої одразу після травми здійснювали гомотопічну трансплантацію фрагменту фетальної нирки (E18); 3) інтактна група (n=7). Спастичність задньої іпсилатеральної (щодо зони травми спинного мозку) кінцівки на рівні надп'яtkово-гомілкового та колінного суглобів оцінювали за шкалою *B. Ashworth* та в електронейрографічному дослідженні. Для цього проводили імпульсну стимуляцію (5 мс, 0,2 Гц) сідничного нерву на відстані 5 мм від місця виходу нерва з малого тазу. Електричне збудження реєстрували у товщі литкового м'язу. Розраховували співвідношення амплітуд Н- та М-хвилі у міограмі. Статистичну обробку даних здійснювали за допомогою пакету STATISTICA 10.0.

Результати. Вплив ТТФН на динаміку синдрому спастичності характеризується значущим потенціюванням протягом перших двох тижнів, а в подальшому стабілізацією на рівні, що недостовірно поступається значенням контрольної групи (1,9±0,3 проти 2,6±0,4 бала *Ashworth*; 24 тижень). Протягом другого місяця після ТТФН відмічали додатну кореляцію динаміки показника функції та спастичності ЗІК, а протягом 1–2 та 9–24 тижнів – від'ємну. Співвідношення амплітуд Н- та М-хвилі у 1 і 2 групах стосовно обох задніх кінцівок достовірно перевищували значення групи інтактних тварин (для інтактних – 34,1±3,2 %, контрольних – 66,8±9,8 %, для тварин групи ТТФН – 67,8±10,0 %). При зрівнянні між обома експериментальними групами та між обома задніми кінцівками в межах кожної групи показники відрізнялися недостовірно.

Висновок. Негайна ТТФН потенціює прояви синдрому спастичності у ранньому періоді травми, надалі – послаблює його прогрес, зменшує ймовірність розвитку хронічного больового синдрому.

Ключові слова: травма спинного мозку, трансплантація тканини фетальної нирки, регенерація спинного мозку, синдром посттравматичної спастичності, хронічний больовий синдром.

Актуальність. Більшість відомих інвалідизуючих уражень головного та спинного мозку супроводжуються класичним дефіцитом рухової активності – центральним парезом, асоційованим із синдромом спастичності. У випадку спінальної травми частка хворих з вираженими проявами спастичності сягає 78 % [18, 24]. Іншим поширеним неврологічним ускладненням є хронічний больовий синдром, характерний для 60–80 % випадків спінальної травми [21]. Обидва патологічні стани суттєво знижують якість життя спінальних хворих, демотивують прагнення до відновного лікування, знижують його результативність.

Клітинним електрофізіологічним корелятом спастичності є здатність мотонейронів незалежно від суп-

распінальних серотонін- та норадреналінергічних впливів генерувати платоподібні деполяризаційні потенціали, найімовірніше, у відповідь на глутаматергічну стимуляцію сегментарними сенсорними аферентами спинного мозку [22]. В нормі плато-потенціали значно підсилюють ефект збуджуючих синаптичних входів, завдяки чому мотонейрон протягом багатьох секунд зі значною частотою генерує потенціали дії (ПД), формуючи необхідний електричний вплив на волокна м'язу. У звичних умовах ключову роль у активації плато-потенціалів відіграють супраспінальні серотонін- та норадреналінергічні впливи [22]. Встановлено, що у мотонейронах інтактного спинного мозку у певних сайтах пре-мРНК серотонінового рецептора 5-HT_{2C} та норадреналінового рецептора β₁

фермент деаміназа *ADAR2* (*adeninedeaminaseacting RNA*) перетворює аденозин у інозин, який системою трансляції розпізнається як гуанозин, що означає зміну амінокислотної послідовності, відтак – специфікацію функції рецептора. В умовах розвитку запального процесу у тканині травмованого спинного мозку рівень експресії *ADAR2* знижується [10]; передаговані форми вказаних рецепторів володіють значною конституційною активністю, що обумовлює появу незалежних від супраспінальних впливів платопотенціалів та неконтрольованої ПД-продукуючої активності мотонейронів [22, 25].

Вивчення впливу сучасних нейроінженерних втручань на перебіг синдрому спастичності [8] та хронічного больового синдрому [13, 15, 20] становить міноритарну частку робіт, присвячених відновному лікуванню спінальної травми. Одним із перспективних напрямків нейроінженерії вважають створення засобів впливу на ангиогенез у зоні травми та перифокальній ділянці [14, 19], хоча ефективність проангіогенних впливів при різноманітних ураженнях мозку, зважаючи на ряд даних [11], залишається дискусійною. Експресія тканиною травмованого спинного мозку внутрішньоклітинних молекулярних факторів ангиогенного каскаду корелює зі станом спастичності [23].

Серед засобів традиційної тканинної експериментальної нейротрансплантології фетальна нирка тривалий час використовувалася у якості референтного трансплантату. Результати наших досліджень [4], численні дані щодо наявності у тканині фетальної нирки стовбурових клітин мезенхимальної генеалогії [12], експресії ангиогенних факторів росту [26] переконують у необхідності ґрунтовного дослідження впливу трансплантації цього тканинного матеріалу на перебіг експериментальної спінальної травми, формування синдрому спастичності і хронічного больового синдрому.

Мета: дослідити вплив алогенної трансплантації тканини фетальної нирки (ТТФН) на перебіг синдрому спастичності та хронічного больового синдрому на моделі травми спинного мозку.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження виконали на базі ДУ “Інститут нейрохірургії імені А.П. Ромоданова НАМН України”. Використали самців білих безпородних щурів (n=31) віком 5,5 міс, масою ~300 г, утримуваних у стандартних умовах за звичного харчування. Дотримувалися діючих норм біоетики. З цих тварин було сформовано 3 групи:

1) контрольна група (n=16), тваринам якої моделювали травму спинного мозку – лівобічний перетин половини поперечника спинного мозку (ЛПП) на рівні T₁₁[2]. В подальшому з цих 16 тварин у елект-

ронеїроміографічне (ЕНМГ) дослідження залучено 9 особин;

2) група ТТФН (n=8), тваринам якої одразу після моделювання аналогічної травми спинного мозку здійснювали гомотопічну трансплантацію тканини фетальної нирки. В подальшому з цих 8 тварин у електронеїроміографічне дослідження залучено 7 особин;

3) інтактна група (n=7) для порівняння даних ЕНМГ дослідження.

Протокол ТТФН включав наркотизацію вагітної самки щура (E18) внутрішньоочеревинним введенням суміші розчинів ксилазину, 15 мг/кг (*Sedazin, Biowet*, Польща) та кетаміну, 70 мг/кг (*Calypsol*, Гедеон Ріхтер А.О., Угорщина), видалення матки з плодами, вилучення нирок плода, розділення кожної з них на два рівновеликі фрагменти розміром ~1,5 мм³, їх трансплантацію у сформовану рану спинного мозку [2]. Після шовного закриття рани травмованої тварини у задню шийну ділянку підшкірно вводили розчин біциліну-5, ~150-200 тис ОД на 1 тварину (ПАТ Київмедпрепарат), внутрішньоочеревинно – розчин дексаметазону, 6 мг/кг (*KRKA*, Словенія). Тварин протягом 2-4 годин утримували у приміщенні з підвищеною температурою повітря (30° С), надалі – у клітках по 3-6 особин при середній температурі 21-24° С.

Показник спастичності задньої іпсилатеральної (щодо зони травми спинного мозку) кінцівки на рівні надп’яtkово-гомількового та колінного суглобів оцінювали згідно із загальновідомою шкалою, запропонованою *B. Ashworth*, яка градуально відображає ступінь спротиву щодо розтягу м’язів на рівні тестованого суглобу: від стану атонії (0 балів) до стану контрактури суглоба (4 бали)[3]. У зв’язку з асинхронним тестуванням окремих когорт тварин експериментальних груп, у даному та попередніх дослідженнях [1, 2, 3, 5] первинні дані для кожної експериментальної тварини шляхом рандомізованої інтерполяції методом ковзного середнього приводили до стандартної часової шкали, відображеної у роботі. ЕНМГ-дослідження Н-рефлексу (*Hoffmann’s-reflex*) проводили на 26-му тижні експерименту [3], протокол включав знеболення (див. вище), виділення та мобілізацію основного стовбуру сідничого нерва, імпульсну стимуляцію (тривалість імпульсу 5 мс, частота 0,2 Гц, автоматичне скачкоподібне збільшення амплітуди кожного наступного імпульсу на 1 мА до зникнення Н-хвилі) на відстані 5 мм від місця виходу нерва з малого тазу за допомогою біполярного платинового гачкоподібного електроду, під’єднаного до цифрового електронеїроміографа “Нейро-МВП-Мікро” (ТОВ НЕЙРОСОФТ, Росія), реєстрацію електричного збудження концентричним голковим електродом у товщі литкового м’язу. Після проведення дослідження глибоко анестезовану тварину виводили з експерименту шляхом каудо-капітальної

тракції. Розраховували співвідношення амплітуд Н- та М-хвилі у міограмі з максимальною амплітудою Н-хвилі, яке подавали у відсотках.

Статистичну обробку цифрових даних здійснювали за допомогою програмного пакету STATISTICA10.0 на персональному комп'ютері. Для оцінки результатів моніторингу рівня спастичності паретичної кінцівки на стандартизованих термінах спостереження використовували непараметричний U-тест Манна-Уїтні (*Mann-Whitney U-test*), додатково верифікували порівнянням первинних даних на спільних для основних когорт термінах спостереження. Достовірність різниці середнього по групі рівня спастичності паретичної кінцівки на вказаних термінах оцінювали за Уїлкоксоном (*Wilcoxon matchedpairs test*). Статистичний аналіз результатів ЕНМГ здійснювали за Уїлкоксоном та Манном-Уїтні. Достовірність різниці ризику розвитку тяжкого больового синдрому між різними групами встановлювали за допомогою непараметричного точного критерію Фішера. Результати оцінки достовірності представляли у вигляді значень показника "р" зі звичним трактуванням.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розподіл рівня спастичності паретичної кінцівки у 1 і 2 групах свідчить про суттєву відмінність розвитку цього ускладнення за умов ТТФН (рис. 1).

Динаміка рівня спастичності паретичної кінцівки у групах контроль та ТТФН суттєво відрізняється (рис. 2). Найбільший та достовірний приріст значень показника у контрольній групі спостерігали протягом перших чотирьох тижнів (до $1,8 \pm 0,3$ бала *Ashworth*), у подальшому ресстрували значущий приріст спастичності до $2,6 \pm 0,4$ бала *Ashworth* (20-й тиждень).

У групі ТТФН динаміка спастичності двофазна (рис. 2). Для першої фази (1-2 тижднів) характерне достовірне ($p < 0,05$) збільшення показника з $0,8 \pm 0,3$ до $1,6 \pm 0,3$ бала *Ashworth*; для другої фази (3–24 тижднів) – відсутність значущих змін ($p > 0,05$) при порівнянні рівня спастичності паретичної кінцівки у тварин групи на різних термінах вказаного часового проміжку. Достовірну різницю зі значенням групи контроль виявляли протягом перших двох тижнів експерименту на користь групи ТТФН ($p < 0,05$), рівновеликі значення спастичності у тварин обох груп – на четвертому тижні. Найбільшу фактичну, однак недостовірну, різницю значень рівня спастичності між вказаними групами виявляли на другому ($p = 0,01$), сьомому ($p = 0,11$) та двадцятим тижнях ($p = 0,08$).

Аналіз результатів ЕНМГ не виявив істотних відмінностей значень амплітуди М- та Н-відповіді для лівої (ЗІК) та правої кінцівки в обох експериментальних групах (рис. 3). Достовірну ($p < 0,05$) різницю виявлено для амплітуд М- та Н-відповідей, а також для співвідношення Н/М лівої та правої задніх кінцівок тварин груп контроль та ТТФН при порівнянні з групою інтактних тварин, за виключенням амплітуди М-відповіді для правої задньої кінцівки тварин групи контроль. Співвідношення Н/М для групи інтактних тварин склало $34,1 \pm 3,2$ %, для ЗІК тварин групи контроль – $66,8 \pm 9,8$ %, для ЗІК тварин групи ТТФН – $67,8 \pm 9,95$ %. Достовірних цифрових відмінностей ЕНМГ-показників при прямому зрівнянні груп контроль та ТТФН не виявлено, що відповідає результатам оцінки рівня спастичності за шкалою *Ashworth* на аналогічному терміні спостереження.

Важливим експериментальним корелятом хронічного больового синдрому є аутологічна активність, спрямована на усунення вогнища болю, яка у тяжких клінічних випадках переростає у аутофагічну поведінку [3]. У групі контроль доконана аутофагія виявлена у 18,8 % тварин ($p < 0,05$), у групі ТТФН – відсутня ($p > 0,05$). При цьому летальність у групі ТТФН протягом експерименту відповідала показникам групи контроль.

Потребує пояснення двофазність динаміки синдрому спастичності у групі ТТФН: ранній дебют і константність протягом усього наступного періоду спостереження.

У випадку ТТФН спостерігають активну резорбцію трансплантату з формуванням імуногенної реакції з ти-

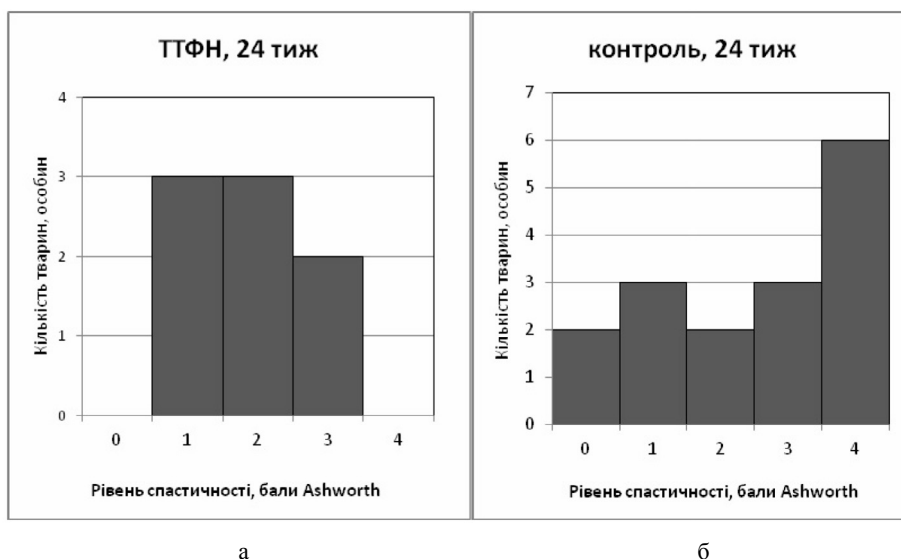


Рис. 1. Розподіл рівня спастичності паретичної кінцівки у групах ТТФН (а) і контроль (б) на 24 тижні спостереження

повими ознаками запалення [4]. Реакції такого роду регулюються низкою цитокінів та прозапальних факторів, часто – з екзальтаційними (збуджуючими) та нейротоксичними властивостями [6, 17]. Вірогідно, нейротоксичний вплив ряду прозапальних цитокінів (*tumor necrosis factor б*, *interleukin 1б*, *interleukin 6*, *macrophage inflammatory protein 1б*) реалізується лише за тривалої експозиції у тканині; за короткотривалої їх експресії виявляють нейропротекторні ефекти [9]. У випадку ТТФН, завдяки реалізації гострого реперфузійного, віддаленого ангиогенного та імуногенного механізмів альтерації [4], продукція прозапальних цитокінів, найбільш ймовірно,

триває, щонайменше, протягом 1 місяця після трансплантації. Крім того, на моделях фокальної церебральної ішемії встановлено [16], що за умов реперфузії (проангіогенний вплив тканини фетальної нирки продемонстровано нами раніше [4]) в ураженій ділянці зменшується час функціонального обороту глутамін-синтетази на тлі ймовірного зростання її активності; підвищена продукція глутаміну астроцитами призводить до утворення надміру глутамату нейронами, відтак – до екзальтації локальних нейрональних мереж, що сприяє ураженню нейронів [16]. Нарешті, відомо, що дія прозапальних факторів (у тому числі *tumor necrosis factor б*) на мотонейрони

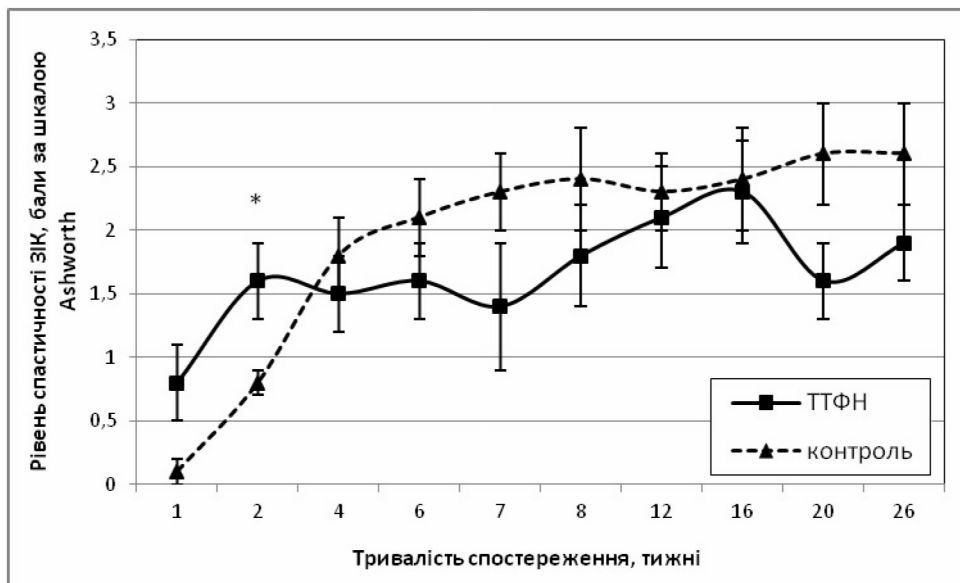


Рис. 2. Динаміка рівня спастичності паретичної кінцівки у тварин експериментальних груп.

* Примітка: різниця між значеннями показника груп ТТФН та контроль достовірна ($p < 0,05$), верифікована порівнянням когорт значень обох груп на даному терміні

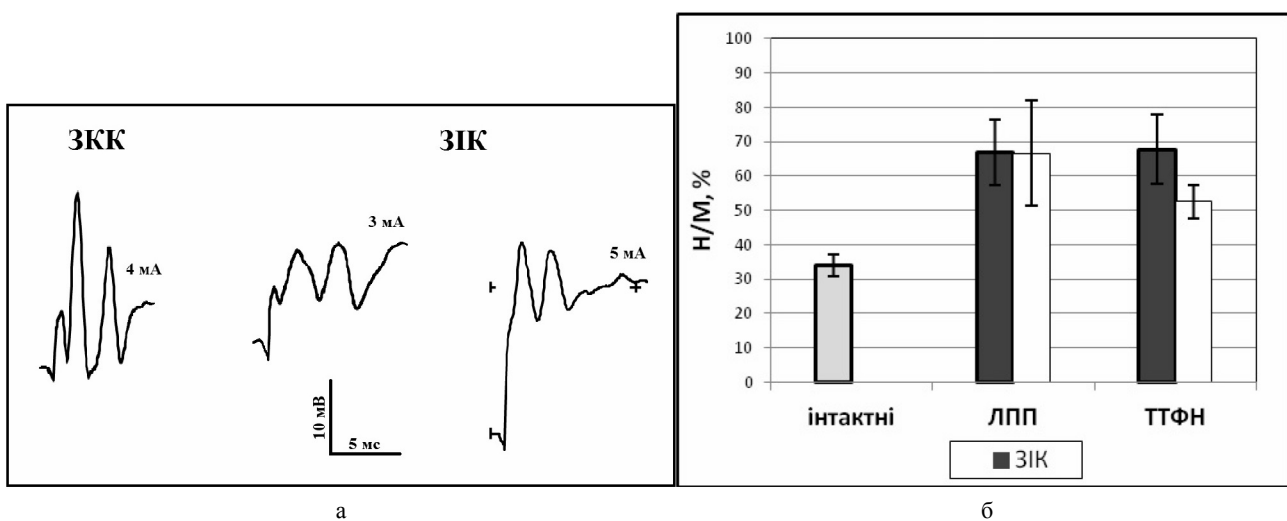


Рис. 3. ЕНМГ-дослідження наприкінці 26 тижня спостереження: а) електронейроміограми литкового м'язу задньої іпсилатеральної кінцівки (ЗІК) та задньої контрлатеральної кінцівки (ЗКК) тварин групи ТТФН; б) Н/М-індекс для ЗІК тварин: інтактних, контрольних (ЛПП), та групи ТТФН.

Примітка: показники груп контроль і ТТФН (з одного боку) відрізняються від показників групи інтактних тварин (з другого боку) на рівні $p < 0,05$; різниця показників у межах кожної з груп, а також між групами контроль та ТТФН недостовірна ($p > 0,05$).

є важливим елементом патогенезу глутамат-опосередкованої спастичності при бічному аміотрофічному склерозі [7].

Виходячи з означених літературних даних, двофазність ПС ЗІК за умов ТТФН отримує досить просте пояснення. Протягом перших тижнів після трансплантації можлива реалізація екзальтуючого впливу на мотонейрони, що обумовлює швидке зростання ПС ЗІК. Відмітимо, що протягом перших тижнів експерименту у деяких тварин групи ТТФН відмічали флексійну установку у кульшовому та колінному суглобі ЗІК, що свідчить про збільшення збудливості мотонейронів L_1-L_3 – найближче розташованих до зони ТТФН. Відсутність достовірних змін ПС ЗІК протягом 3-26 тижнів експерименту, а також рівноважне значення частоти тяжкого больового синдрому у групах ТТФН та контроль, незважаючи на вірогідну присутність проальгогенних сенситизуючих запальних процесів у тканині спинного мозку [5], можна інтерпретувати як результат інтенсивної елімінації мотонейронів та спіноталамічних нейронів нижче рівня травми внаслідок реалізації низки перелічених цитокінових, екзальтаційних та аутоімунних нейротоксичних впливів.

Отримані дані потребують поглибленої інтерпретації з урахуванням клітинного та факторного складу трансплантату, імунологічних особливостей перебігу трансплантаційного процесу, свідчать про його нейротропні ефекти.

ВИСНОВКИ

ТТФН змінює перебіг синдрому спастичності та не впливає на частоту розвитку хронічного больового синдрому при травмі спинного мозку.

Вплив ТТФН на динаміку синдрому спастичності характеризується двофазністю: значущим потенціюванням протягом перших двох тижнів та стабілізацією на рівні, що до кінця періоду спостереження недостовірно поступається контрольним значенням ($1,9 \pm 0,3$ проти $2,6 \pm 0,4$ бала *Ashworth*, відповідно).

Враховуючи потенціюючий вплив ТТФН на перебіг одного з ускладнень спінальної травми – синдрому спастичності, використання цього виду тканинної трансплантації, незважаючи на ангиогенний та прогеніторний потенціал тканини фетальної нирки, можливе лише в умовах експериментального дослідження.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості та гті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вплив трансплантації тканини фетальної нирки на перебіг регенераційного процесу при травмі спинного мозку в експерименті / В.І. Цимбалюк, В.В. Медведєв, Ю.Ю. Сенчик, Н.Г. Драгунцова, С.М. Дичко // Наука і практика. – 2016. – № 1-2 (7-8). – С. 103-114.
2. Модель перетину половини поперечника спинного мозку. I. Технічні, патоморфологічні та клініко-експериментальні особливості / В.І. Цимбалюк, В.В. Медведєв, В.М. Семенова [та ін.] // Укр. нейрохірург. журнал. – 2016. – № 2. – С. 18-27.
3. Модель поперечного пересічення половини спинного мозку. II. Стан нервово-м'язового апарату, синдром посттравматичної спастичності та хронічний больовий синдром / В.І. Цимбалюк, В.В. Медведєв, Н.Я. Гридіна [та ін.] // Укр. нейрохірург. журнал. – 2016. – № 3. – С. 9-17.
4. Цимбалюк В.І. *Se. re. bellum*, або мозочок: монографія / В.І. Цимбалюк, В.В. Медведєв, Ю.Ю. Сенчик. – Вінниця: Нова Книга, 2013. – 272 с.
5. Цимбалюк, В.І. Спинной мозг. Элегия надежды: монографія / В.І. Цимбалюк, В.В. Медведєв. – Вінниця: Нова Книга, 2010. – 944 с.
6. Activated brain mast cells contribute to postoperative cognitive dysfunction by evoking microglia activation and neuronal apoptosis / X. Zhang, H. Dong, N. Li [et al.] // J. Neuroinflammation. – 2016. – Vol. 13, No. 1. – P. 1-15. – Mode of access: <https://jneuroinflammation.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12974-016-0592-9>
7. Centonze D. Advance in the management of multiple sclerosis spasticity: multiple sclerosis spasticity nervous pathways / D. Centonze // Eur. Neurol. – 2014. – Vol. 72, Suppl. 1. – P. 6-8.
8. Clinical observation of fetal olfactory ensheathing glia transplantation (OEGT) in patients with complete chronic spinal cord injury / J. Wu, T. Sun, C. Ye [et al.] // Cell. Transplant. – 2012. – Vol. 21, Suppl. 1. – P. 33-37.
9. Cytokine signaling by grafted neuroectodermally derived cells rescues motoneurons destined to die / K. Pajcar, G. Feichtinger, G. Morton [et al.] // Exp. Neurol. – 2014. – Vol. 261. – P. 180-189.
10. Decrease of mRNA editing after spinal cord injury caused by down-regulation of ADAR2 that is triggered by inflammatory response / A.F. DiNarzo [et al.] // Sci. Rep. – 2015. – Vol. 5, Article 12615. – P. 1-15. – Mode of access: www.nature.com/articles/srep12615.
11. Delayed inhibition of VEGF signaling after stroke attenuates blood-brain barrier breakdown and improves functional recovery in a comorbidity-dependent manner / P. Reeson, K.A. Tennant, K. Gerrow [et al.] // J. Neurosci. – 2015. – Vol. 35, No. 13. – P. 5128-5143.
12. Each niche has an actor: multiple stem cell niches in the preterm kidney / D. Fanni, A. Sanna, C. Gerosa [et al.] // Ital. J. Pediatr. – 2015. – Vol. 41, Article 78. – P. 1-8. – Mode of access: <https://ijponline.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13052-015-0187-6>
13. Early transplantation of mesenchymal stem cells after spinal cord injury relieves pain hypersensitivity through suppression of pain-related signaling

- cascades and reduced inflammatory cell recruitment / S. Watanabe, K. Uchida, H. Nakajima [et al.] // *Stem Cells*. – 2015. – Vol. 33, No. 6. – P. 1902-1914.
14. Evidence for proangiogenic cellular and humoral systemic response in patients with acute onset of spinal cord injury / E. Paczkowska, D. Roginska, E. Pius-Sadowska [et al.] // *J. Spinal Cord Med.* – 2015. – Vol. 38, No. 6. – P. 729-744.
15. Human bone marrow-derived and umbilical cord-derived mesenchymal stem cells for alleviating neuropathic pain in a spinal cord injury model / M. Yousefifard, F. Nasirinezhad, H.S. Manaheji [et al.] // *Stem Cell Res. Ther.* – 2016. – Vol. 7, Article 36. – P. 1-14. – Mode of access: <https://stemcellres.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13287-016-0295-2>.
16. Jeitner, T.M. Critical evaluation of the changes in glutamine synthetase activity in models of cerebral stroke / T.M. Jeitner, K. Battaile, A.J.L. Cooper // *Neurochem. Res.* – 2015. – Vol. 40, No. 12. – P. 2544-2556.
17. Lack of TNF-alpha receptor type 2 protects motor neurons in a cellular model of amyotrophic lateral sclerosis and in mutant SOD1 mice but does not affect disease progression / M. Tortarolo, A. Vallarola, D. Lidonnici [et al.] // *J. Neurochem.* – 2015. – Vol. 135, No. 1. – P. 109-124.
18. Longitudinal changes in medical complications in adults with pediatric-onset spinal cord injury / M. Hwang, K. Zebracki, K.M. Chlan, L.C. Vogel // *J. Spinal Cord Medicine.* – 2014. – Vol. 37, No. 2. – P. 171-178.
19. Ng, M.T.L. Vascular disruption and the role of angiogenic proteins after spinal cord injury / M.T.L. Ng, A.T. Stammers, B.K. Kwon // *Transl. Stroke Res.* – 2011. – Vol. 2, No. 4. – P. 474-491.
20. Pain with no gain: Allodynia following neural stem cell transplantation in spinal cord injury / M.Y. Macias, M.B. Syring, M.A. Pizzi [et al.] // *Exp. Neurol.* – 2006. – Vol. 201, No. 2. – P. 335-348.
21. Phenotypes and predictors of pain following traumatic spinal cord injury: a prospective study / N.B. Finnerup, C. Norrbrink, K. Trok [et al.] // *J. Pain.* – 2014. – Vol. 15, No. 1. – P. 40-48.
22. Recovery of neuronal and network excitability after spinal cord injury and implications for spasticity / J.M. D'Amico, E.G. Condliffe, K.J.B. Martins [et al.] // *Front. Int. Neurosci.* – 2014. – Vol. 8, Article 36. – P. 1-24. – Mode access: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fnint.2014.00036/full>.
23. Signaling proteins in spinal parenchyma and dorsal root ganglion in rat with spinal injury-induced spasticity / H.K. Skalnikova, R. Navarro, S. Marsala [et al.] // *J. Proteomics.* – 2013. – Vol. 91. – P. 41-57.
24. Spasticity, an impairment that is poorly defined and poorly measured / S. Malhotra, A.D. Pandyan, C.R. Day [et al.] // *Clin. Rehabil.* – 2009. – Vol. 23, No. 7. – P. 651-658.
25. The time course of serotonin 2 C receptor expression after spinal transection of rats: an immunohistochemical study / L.-Q. Ren, J. Wienecke, M. Chen [et al.] // *Neuroscience.* – 2013. – Vol. 236. – P. 31-46.
26. Vascular growth factors play critical roles in kidney glomeruli / L. Gnudi, S. Benedetti, A.S. Woolf, D.A. Long // *Clin. Sci. (Lond.)*. – 2015. – Vol. 129, No. 12. – P. 1225-1236.

Отримано: 18.03.2017

ВЛИЯНИЕ ТРАНСПЛАНТАЦИИ ТКАНИ ФЕТАЛЬНОЙ ПОЧКИ НА ТЕЧЕНИЕ СИНДРОМА СПАСТИЧНОСТИ И ХРОНИЧЕСКОГО БОЛЕВОГО СИНДРОМА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ТРАВМЕ СПИННОГО МОЗГА

¹Цымбалюк В.И., ²Медведев В.В., ³Сенчик Ю.Ю., ¹Татарчук М.М., ¹Драгунова Н.Г., ¹Дичко С.Н.

¹ГУ “Институт нейрохирургии им. акад. А.П. Ромоданова НАМН Украины”, Киев, Украина

²Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

³Киевская городская клиническая больница скорой медицинской помощи, Киев, Украина

Актуальность. Создание средств влияния на ангиогенез в зоне травмы является перспективным, хотя и дискуссионным направлением нейроинженерии. Экспрессия тканью травмированного спинного мозга ангиогенных факторов коррелирует с состоянием спастичности. В ткани фетальной почки есть стволовые клетки мезенхимальной генеалогии, ангиогенные факторы роста.

Цель. Исследовать влияние аллогенной трансплантации ткани фетальной почки (ТТФН) на течение синдрома спастичности и хронического болювого синдрома на модели травмы спинного мозга.

Материалы и методы. Исследование выполнено на самцах белых беспородных крыс (n=31), возраст 5,5 мес, масса 300 г. Было сформировано 3 группы: 1) контрольная (n=16), животным которой моделировали травму спинного мозга – левосторонне-неполовинное пересечение спинного мозга на уровне T₁₁; 2) ТТФН (n=8), животным которой сразу после травмы осуществляли гомотопическую трансплантацию фрагмента фетальной почки (E18); 3) интактная группа (n=7). Спастичность задней ипсилатеральной (по отношению к зоне травмы спинного мозга) конечности на уровне голеностопного и коленного суставов оценивали по шкале В. Ashworth и в электронейромиографическом исследовании. Для этого проводили импульсную стимуляцию (5 мс, 0,2 Гц) седалищного нерва на расстоянии 5 мм от места выхода нерва из малого таза. Электрическое возбуждение регистрировали в икроножной мышце. Рассчитывали соотношения амплитуд Н- и М-волн миограммы. Статистическую обработку данных осуществляли с помощью программного пакета STATISTICA 10.0.

Результаты. Влияние ТТФП на динамику синдрома спастичности характеризуется потенцированием в течении первых двух недель, а в дальнейшем стабилизацией на уровне, недостоверно уступающем значениям контрольной группы ($1,9 \pm 0,3$ против $2,6 \pm 0,4$ балла Ashworth; 24-я неделя). В течении второго месяца после ТТФП отмечали положительную корреляцию динамики показателя функции и спастичности ЗИК, в течении 1-2 и 9-24 недель – отрицательную. Соотношение амплитуд Н- и М-волн в обеих группах относительно обеих задних конечностей достоверно превышали значения группы интактных животных (для интактных – $34,1 \pm 3,2$ %, контрольных – $66,8 \pm 9,8$ %, для животных группы ТТФП – $67,8 \pm 10,0$ %). При сравнении между обеими экспериментальными группами и между обеими задними конечностями в пределах каждой группы показатели отличались недостоверно.

Вывод. ТТФП потенцирует синдром спастичности в раннем периоде травмы, в дальнейшем – ослабляет его прогресс, уменьшает вероятность развития хронического болевого синдрома.

Ключевые слова: травма спинного мозга, трансплантация ткани фетальной почки, регенерация спинного мозга, синдром посттравматической спастичности, хронический болевой синдром.

EFFECT OF FETAL KIDNEY TISSUE TRANSPLANTATION ON THE COURSE OF THE SPASTICITY AND CHRONIC PAIN SYNDROME AFTER EXPERIMENTAL SPINAL CORD INJURY

¹Tsybaliuk V.I., ²Medvediev V.V., ³Senchik Yu. Yu., ¹Tatarchuk M.M., ¹Draguntsova N.G., ¹Dychko S.M.

¹The state institution “Acad. A.P. Romodanov Institute of neurosurgery of NAMS of Ukraine”, Kyiv, Ukraine

²O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

³Kyiv city clinical emergency hospital, Kyiv, Ukraine

Relevance. Creating the means of influence on angiogenesis in the area of injury is a promising, though a controversial direction of neuroengineering. The expression by tissue of injured spinal cord of angiogenic factors correlates with spasticity. In the tissue of the fetal kidney there are stem cells of mesenchymal genealogy, angiogenic growth factors.

Objective. To examine the effect of fetal kidney tissue transplantation (FKTT) on the course of the spasticity and chronic pain syndrome after experimental spinal cord injury.

Materials and methods. Animals — albino male rats (5.5 months, 300 grams, inbred line, the original strain — Wistar). There were three experimental groups formed: 1) control group ($n=16$), the animals of which were modelled by the spinal cord injury – left-side spinal cord hemisection at T₁₁ level; 2) FKTT ($n=8$), where the animals after the spinal cord injury were immediately made a homotopical implantation of a fragment of the fetal (E18) kidney; 3) intact group ($n=7$).

The spasticity of the posterior ipsilateral (relative to the area of the trauma of the spinal cord) limb at the level of the adnexal and tibia and knee joints was evaluated after the Ashworth scale and by the electroneuromyography. For this, impulse stimulation (5 ms, 0.2 Hz) of the sciatic nerve was performed at a distance of 5 mm from the place of the nerve output from the small pelvis. Electrical excitation was recorded in the thickness of the calf muscle. The ratio of amplitudes of the H- and M- waves in the myogram was calculated. Statistical data was processed using the STATISTICA 10.0 package.

Results. The effect of the FKTT on the dynamics of spasticity syndrome is characterized by a two-phase: significant potentiation during the first two weeks and stabilization on the level that is insignificantly less than control group value ($1,9 \pm 0,3$ vs. $2,6 \pm 0,4$ Ashworth points; 24th week). During the 2nd month after FKTT it was noted a positive correlation of the IHL function indicator and spasticity value, on the 1st–2nd and 9th–24th week – negative correlation. Without FKTT similar trend in the control group have been observe dat the 1st–4th (positive correlation) and 5th–24th (negative correlation) weeks. The H/M ratio in both groups and with respect to both hind limbs significantly exceeded the value of the intact animals group (for the intact animals group – $34,1 \pm 3,2$ %, for the IHL of the control group animals – $66,8 \pm 9,8$ %, for the IHL of the “FKTT” group – $67,8 \pm 10,0$ %), by the comparison between the two experimental groups and between the two hind limbs within each group – differed insignificantly.

Conclusion. Immediate FKTT potentiates symptoms of spasticity syndrome during early period of injury, further attenuates its progression, reduces the incidence of chronic pain syndrome.

Keywords: spinal cord injury, fetal kidney tissue transplantation, spinal cord regeneration, posttraumatic spasticity syndrome, chronic pain syndrome.

СОСТОЯНИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКОЙ РЕАКТИВНОСТИ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЧЕРЕПНО-МОЗГОВОЙ ТРАВМЕ

¹Зяблицев С.В., Кришталь Н.В., ²Дядык Е.А.

¹Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев, Украина

²Национальная медицинская академия последиplomного образования имени П.Л. Шупика,

Киев, Украина

zsv1965@gmail.com

Рецензенты: проф. Натрус Л.В., проф. Курченко А.И.

Актуальность. На сегодня сведения об изменении активности клеточного и гуморального звена иммунитета у пострадавших с черепно-мозговой травмой (ЧМТ), противоречивы и спорны.

Цель: изучить иммунологическую реактивность при экспериментальной ЧМТ.

Материалы и методы. Исследование проведено на 75 белых беспородных крысах-самцах массой 185-220 г, у 50 из которых моделировали ЧМТ путем свободного падения груза на фиксированную голову животного. Контрольную группу ("ложнотравмированные") составили 25 крыс. Через 1, 3, 7, 14 и 21 сутки в крови подсчитывали форменные элементы; с помощью моноклональных антител идентифицировали CD3+, CD 22+, CD4+, CD8+, CD16+ клетки, а для иммуно-гистохимического исследования срезы мозга обрабатывали первичными антителами к CD3+ и CD20+ (Becton, Dickinson, USA).

Результаты. В ходе исследования установлено, что в ответ на экспериментальную ЧМТ в организме животных возникала типовая защитная реакция на повреждение, проявлявшаяся нейтрофильным лейкоцитозом и повышением уровня натуральных киллеров. Со стороны клеточного звена иммунитета наблюдалась выраженная иммунодепрессия, более выраженная со стороны субпопуляции Т-лимфоцитов хелперов. Не только в качестве компенсаторной реакции, но и как следствие стимуляции антигенными структурами мозга, развивалась активация В-лимфоцитов с прогрессивным увеличением их содержания на протяжении всего периода наблюдения.

Выводы. ЧМТ приводит к развитию клеточного иммунодефицита: выраженное снижение количества Т-лимфоцитов с первых суток после травмы, особенно – CD4+, уровень которых был снижен практически в 5 раз по сравнению с исходным и не восстанавливался к 21 суткам. Демаскировка мозговых антигенов при ЧМТ приводит к активации гуморального звена иммунитета и увеличению содержания в крови циркулирующих В-лимфоцитов.

Ключевые слова: иммунологическая реактивность, черепно-мозговая травма.

Актуальность. Иммунологическая реактивность включается в патогенез любого повреждения и определяет динамику и течение патологического процесса [1, 4, 7, 12, 15]. В случае черепно-мозговой травмы (ЧМТ) развиваются сложные взаимоотношения в цепи иммунологических реакций, которые, с одной стороны, выступают в роли защитных механизмов в связи с повреждением, а с другой – проявляются иммунологической агрессией на компоненты скрытых до травмы антигенных структур мозга [3, 16].

Развивающаяся нейросенсибилизация и аутоиммунная агрессия вносят существенный вклад в течение посттравматического периода и развитие осложнений. В то же время современные публикации, отражающие исследования иммунитета у пострадавших с ЧМТ, достаточно противоречивы [3, 4, 18]. Например, указывается на кратковременное повышение активности хелперного звена и угнетение клеточного звена иммунитета после ЧМТ [1]. И напротив, есть сведения о снижении Т-лимфоцитов хелперов и повышении цитотоксических CD8+ лимфоцитов [4]. Инфильтрация ткани мозга лейкоцитами наблюдается уже через 30 минут после травмы [13].

Показана возможность снижения нейтрофильной инфильтрации ткани мозга после ЧМТ при нарушении рецепции СХС-хемокинов [9].

Спорными остаются и вопросы в отношении изменения активности гуморального звена иммунитета в ответ на травматическое повреждение. Повышение IgA и уменьшение содержания IgG в сыворотке крови рассматривалось как результат чрезмерного напряжения центрального звена регуляции вследствие ЧМТ [1]. Одни исследователи отмечали повышение количества В-лимфоцитов [4]. Другие, напротив, не наблюдали изменения числа этих клеток на фоне травмы, связывая осложнения посттравматического периода с уменьшением числа моноцитов, натуральных киллеров и цитотоксических Т-лимфоцитов [10], что отмечено и в работах других авторов [18].

Цель: изучить иммунологическую реактивность при экспериментальной черепно-мозговой травме.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проведено на 75 белых беспородных крысах-самцах, возрастом 6 месяцев и массой 185–220 г, которые содержались на стандартном ра-

ционе при свободном доступе к воде и пище. ЧМТ наносилась за счет падения груза массой 65 г на фиксированную голову животного. Груз свободно падал вдоль направляющей трубки в строго заданное место [2]. Так все животные основной группы (n=50) получали одинаковую по силе удара и локализации травму. При этом наблюдалась закрытая ЧМТ с развитием гематомы в месте удара и перелом костей черепа без смещения. Животным контрольной группы (n=25) выполняли все манипуляции, аналогичные таковым в основной группе, но саму травму не наносили (“ложнотравмированные”). Через 1, 3, 7, 14 и 21 сутки под эфирным наркозом производили декаптацию животных, сбор крови и тканей головного мозга для дальнейших исследований. Для определения иммунологического статуса в периферической крови подсчитывали общее количество лейкоцитов и определяли их морфологический состав (базофилы, эозинофилы, нейтрофилы, лимфоциты, моноциты), рассчитывали лейкоцитарную формулу [5]. С помощью моноклональных антител к разным фенотипам клеток (*Becton, Dickinson, США*) идентифицировали фенотип иммунных клеток. Для этого использовали моноклональные антитела CD3+ для общей популяции Т-лимфоцитов, CD 22+ для В-лимфоцитов, CD4+ для субпопуляции Т-хелперов/индукторов, CD8+ для Т-супрессоров/киллеров, CD16+ для натуральных киллеров. Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) рассчитывали по отношению CD4+/CD8+.

Для проведения иммуно-гистохимического (ИГХ) исследования после декаптации извлекали головной мозг и в течение 24 часов выдерживали в нейтральном забуференном растворе формальдегида (рН 7,4). После дегидратации фрагменты мозга заливали в парафин, согласно стандартной методике, нарезали срезы толщиной 3-4 микрон на ротационных микротомемах МПС-2 и *Microm* НМ 335 Е и исследовали с помощью световой микроскопии. Для изуче-

ния срезов мозга использовали светооптический микроскоп “*Olimpus BX 40*” с цифровой камерой “*Olimpus C3030-ADU*” и C2000 ZOOM, “*Olimpus BX 43*” с цифровой камерой “*Olimpus SC100*”, программное обеспечение “*Olimpus DP-Soft*” и светооптический микроскоп *Axio Imager.A2 “Carl Zeiss”* (Германия) с системой обработки данных “*Axio-vision*”. Для иммуно-гистохимического исследования срезы фиксировали на покрытых адгезивом стеклах *Super Frost Plus (Menzel, Германия)*, после чего наносили первичные антитела: CD3+ и CD20+ (*Becton, Dickinson, США*). Статистическую обработку полученных данных осуществляли с помощью пакета прикладных программ *Statistica 10 (StatSoft, Inc., США)*.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На 1 сутки после ЧМТ наблюдалась закономерная реакция повреждения, проявлявшаяся увеличением лейкоцитов на 56,4 % ($p < 0,05$) за счет нейтрофильного ряда (рис. 1).

Уровень лимфоцитов при этом был повышен незначительно, всего на 13 %, но среди субтипов лимфоцитов (CD3+, CD4+, CD 8+, CD16+, CD22+) уже с 1 суток имели место разнонаправленные сдвиги. Так, общее содержание Т-лимфоцитов снижалось на 48,2 % ($p < 0,05$), Т-лимфоцитов хелперов – на 22,6 ($p < 0,05$), в то время как цитотоксические Т-лимфоциты имели тенденцию к повышению до 110 %, а натуральные киллеры, участвующие вместе с нейтрофилами в неспецифической защите от повреждения – до 121 % ($p < 0,05$).

Иммунорегуляторный индекс (ИРИ) свидетельствовал о неадекватности клеточного звена иммунитета уже с 1 суток посттравматического периода и проявлялся снижением показателя на 25,5 % ($p < 0,05$) (рис. 1). Уровень В-лимфоцитов существенно не изменялся.

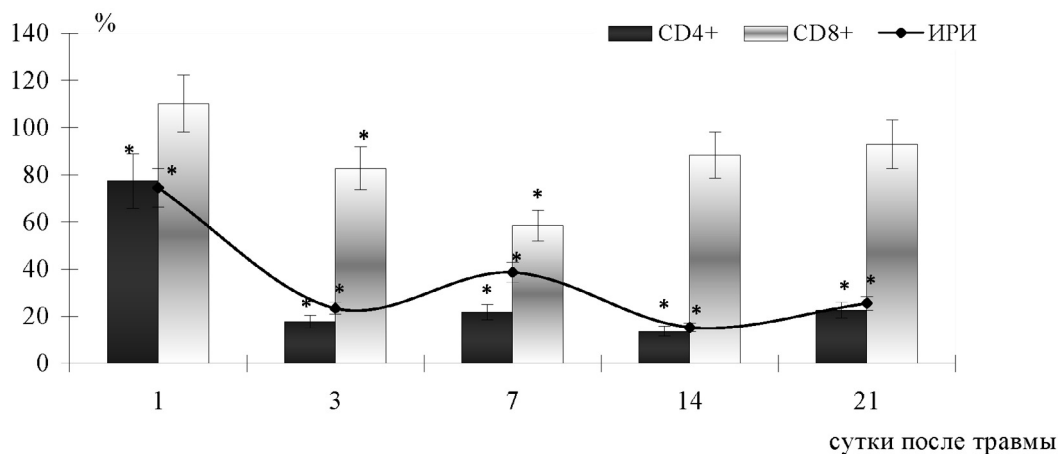


Рис. 1. Динамика CD4+, CD8+ и ИРИ при экспериментальной ЧМТ (все показатели выражены в % от уровня контрольной группы, принятой за 100 %); * – $p < 0,05$ при сравнении средних величин с контрольной группой.

Через 3 суток после травмы сохранялся нейтрофильный лейкоцитоз с превышением контрольных значений лейкоцитов на 43,2 % ($p < 0,05$). Уровень лимфоцитов был несколько повышен (до 113,6 %) за счет В-лимфоцитов. Со стороны Т-лимфоцитов продолжалось выраженное снижение показателей: CD3+ – до 20,3 % ($p < 0,01$), CD4+ – до 18 % ($p < 0,01$), CD8+ – до 83 % ($p < 0,05$). Обращало внимание резкое падение ИРИ до 23,4 % ($p < 0,01$), а также снижение натуральных киллеров до 71,6 % ($p < 0,05$).

На 7 суток после травмы общее количество лейкоцитов существенно не изменялось, сохранение лейкоцитоза свидетельствовало о наличии воспалительных процессов в поврежденных тканях головного мозга. Общее количество лимфоцитов несколько снизилось, но оставалось в пределах контрольных значений. Наблюдалась выраженная разнонаправленная динамика иммунных реакций клеточного и гуморального типа, что проявлялось повышением CD22+ до 127 % ($p < 0,05$) на фоне резко сниженных CD3+ – до 20,8 % ($p < 0,01$), CD4+ – до 21,8 % ($p < 0,01$), CD8+ – до 58,6 % ($p < 0,05$).

На 14 суток было отмечено снижение общего количества лейкоцитов практически до контрольных значений, что можно было расценивать как снижение активности воспалительных процессов. Но в отношении лимфоцитов наблюдалась дальнейшее углубление иммунодефицитного состояния – их общее количество снизилось до 74,8 % ($p < 0,05$). Развивающийся иммунодефицит был обусловлен депрессией клеточного звена со стороны Т-лимфоцитов, содержание которых продолжало снижаться: уровень CD3+ составил 10,6 % от контрольных значений ($p < 0,01$), CD4+ – 13,7 % ($p < 0,01$), при этом со стороны цитотоксических Т-лимфоцитов в этот период наблюдалось повышение практически на 30 % ($p < 0,05$) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения. На этом фоне ИРИ падал до

15,3 % ($p < 0,01$) за счет резкого снижения Т-хелперов.

Наблюдалось увеличение уровня CD22+ – до 138,1 % ($p < 0,05$) и дальнейшее снижение количества натуральных киллеров до 12,5 % ($p < 0,01$) (рис. 2).

На 21 сутки после травмы общее количество лейкоцитов практически не изменялось по сравнению с 14 сутками и контрольной группой. Но при этом уровень лимфоцитов все же не достигал контрольных значений, оставаясь сниженным почти на 20 % ($p < 0,05$). Дефицит клеточного ответа компенсировался повышением со стороны гуморального звена – количество В-лимфоцитов превысило контрольные значения почти на 50 % ($p < 0,01$). Содержание Т-лимфоцитов оставалось сниженным до 16,4 % ($p < 0,01$), что было обусловлено низким уровнем хелперов (22,6 %; $p < 0,01$), тогда как количество цитотоксических Т-лимфоцитов практически нормализовалось, достигнув 93,1 % контрольных значений. ИРИ повысился на 10 % по сравнению с предыдущими сроками наблюдения. Уровень натуральных киллеров оставался ниже контрольных значений на 83 % ($p < 0,01$).

Таким образом, полученные в ходе исследования данные свидетельствовали о том, что в ответ на ЧМТ возникала типовая ответная защитная реакция на повреждение, проявлявшаяся нейтрофильным лейкоцитозом. Вовлечение маргинального пула нейтрофилов уже через 3 часа после травмы происходило под воздействием катехоламинов, а выброс глюкокортикоидов в ответ на ЧМТ способствовал их выходу из очага кроветворения костного мозга [17]. Нейтрофилы являются первым рубежом защиты, осуществляя фагоцитоз, вызывая так называемый “кислородный взрыв”, при этом наблюдаемая под их воздействием активация свободно-радикального окисления при травме мозга выражена в большей степени, чем при других видах повреждений [14].

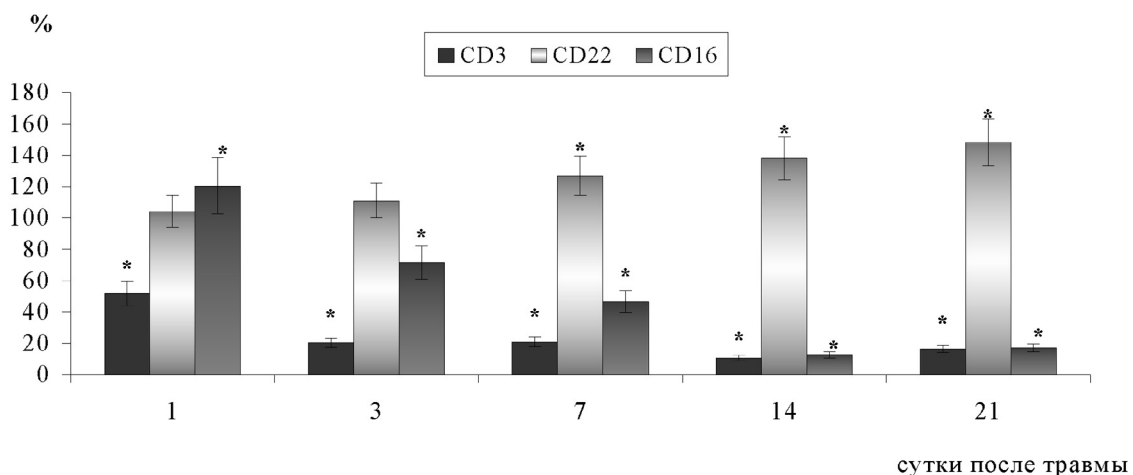


Рис. 2. Динамика CD3+, CD22+ и CD16+ при экспериментальной ЧМТ (все показатели выражены в % от уровня контрольной группы, принятой за 100 %); * – $p < 0,05$ при сравнении средних величин с контрольной группой.

К особенностям травмы мозга можно отнести выраженный иммунодефицит клеточного звена, развившийся уже с 1 суток после ЧМТ. По данным литературы, развивающийся иммунодефицит при повреждении центральной нервной системы, является причиной развития внутрибольничных инфекционных осложнений, возбудителями которых чаще являются *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Haemophilus influenza* [11, 18]. В норме в организме осуществляется двустороннее взаимодействие между нервной и иммунной системами, а ЧМТ приводит к рассогласованию этих взаимоотношений и нарушению иммунологической реактивности с развитием иммунодефицитного состояния клеточного звена.

Вследствие повреждения мозга и нарушения гемато-энцефалического барьера уже с первых часов наблюдалась лейкоцитарная инфильтрация нервной ткани. Но если вначале наблюдалось преимущественное скопление нейтрофилов, то в более отдаленные сроки осуществлялась и активная кумуляция в месте повреждения лимфоцитов, о чем свидетельствовали результаты иммуно-гистохимического исследования (рис. 3).

Выход Т-лимфоцитов из системного кровотока с последующей кумуляцией в месте травматического повреждения мог быть причиной продолжительной, в течение всего периода наблюдения, лимфоцитопении. Кроме того, возможным механизмом снижения Т-лимфоцитов в крови мог быть и индуцированный вследствие травматического повреждения глюкокортикоидами апоптоз клеток.

Данные литературы в отношении участия В-лимфоцитов в реализации иммунологической реактивности при ЧМТ противоречивы [18]. Можно предположить, что в связи с развитием клеточного иммунодефицита в качестве компенсаторной реакции наблюдалась активация гуморального компонента с постепенным увеличением содержания В-лимфоцитов на протяжении периода наблюдения. Еще одной вероятной причиной их активации являлась демаскировка вследствие ЧМТ и нарушения гемато-энцефалического барьера мозговых антигенов. В пользу второго механизма говорил факт постепенного нарастания уровня В-лимфоцитов в крови на протяжении всего периода наблюдения, а также выявляемое при иммуно-гистохимическом исследовании накопление В-лимфоцитов, определяемых по маркеру CD20+ внутри мозговых сосудов без соответствующей идентификации маркера в нервной ткани мозга (рис. 4).

К неспецифическим защитным реакциям на травму относится также активация натуральных киллеров, повышение которых наблюдалось в 1 сутки после ЧМТ, сменяющееся в последующие сроки прогрессивным их снижением. Депрессия натуральных киллеров при ЧМТ была отмечена также и в клинических исследованиях [6, 10]. Отмечали наличие корреляция между степенью снижения этих лим-

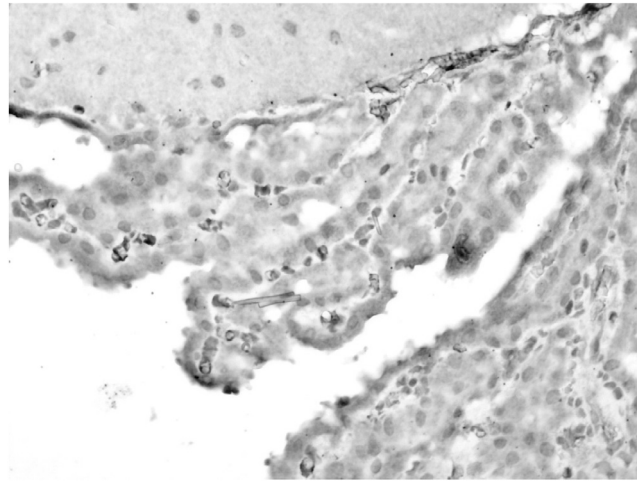


Рис. 3. Иммуногистохимическое исследование маркера CD3+ при ЧМТ; сосудистое сплетение; $\times 400$

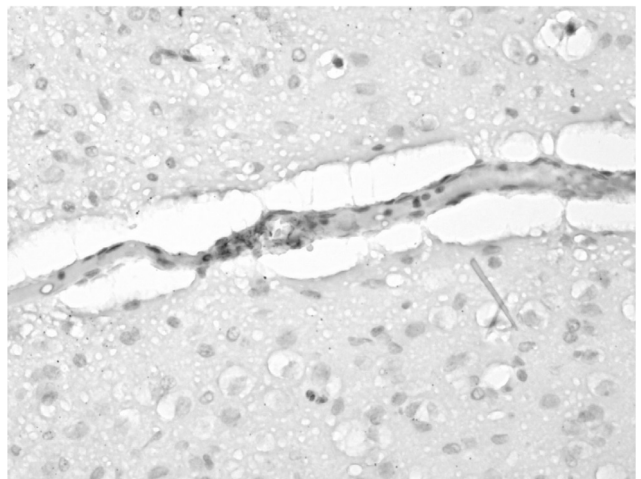


Рис. 4. Иммуно-гистохимическое исследование маркера CD20+ при ЧМТ; внутримозговой сосуд, в котором наблюдается скопление специфически окрашенных клеточных элементов; $\times 400$

фоцитов и степенью тяжести травмы [6]. В обычных условиях резидентные натуральные киллерные клетки могут подавлять Т-хелперную активность с целью предупреждения развития аутоиммунных реакций [8]. Возможной причиной снижения циркулирующего пула CD16+ может быть их интенсивное поступление и инфильтрация поврежденной нервной ткани головного мозга с целью снижения вторичного повреждения, нейровоспаления и аутоиммунной агрессии [5].

ВЫВОДЫ

При черепно-мозговой травме меняется иммунологическая реактивность. Развивается клеточный иммунодефицит, проявляющийся выраженным снижением количества Т-лимфоцитов уже с первых суток после травмы, особенно – CD4+, уровень ко-

торых был снижен практически в 5 раз и не восстанавливался даже к 21 суткам. Демаскировка мозговых антигенов приводит к активации гуморального звена иммунитета и увеличению содержания в крови циркулирующих В-лимфоцитов.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛИТЕРАТУРА

1. Баланс цитокинов при тяжёлой черепно-мозговой травме / К.В. Шевченко, В.А. Четвертных, Ю.И. Кравцов // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии.* – 2009. – Т. III, № 2. – С. 14-16.
2. Ельский В. Н. Моделирование черепно-мозговой травмы / В.Н. Ельский, С. В. Зяблицев – Донецк: Изд-во “Новый мир”, 2008. – 140 с.
3. Иммунологические изменения при черепно-мозговой травме / Р.Х. Исаева, И.А. Антонюк, А.В. Гридякина, А.Е. Евстафьева // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* – 2014. – №8. – С. 41-47.
4. Мамытова Э.Л. Особенности иммунных нарушений в остром периоде черепно-мозговой травмы. // *Вестник Авиценны.* – 2013. – № 4. – С. 72-76.
5. Медведев В. В. Клиническая лабораторная диагностика / В. В. Медведев, Ю. З. Волчек. – С.-Пб.: Гиппократ, 2006. – 360 с.
6. Alterations of natural killer cells in traumatic brain injury / X.D. Kong, S. Bai, X. Chen, H.J. Wei et al. // *Neurosci Bull.* – 2014. – Vol. 30. – P. 903-912.
7. Cardozo Junior L.C. Sepsis in intensive care unit patients with traumatic brain injury: factors associated with higher mortality / L.C. Cardozo Junior, R.R. Silva // *Rev. Bras. Ter. Intensiva* – 2014. – Vol. 26. – P.148-154.
8. Central nervous system (CNS)-resident natural killer cells suppress Th17 responses and CNS autoimmune pathology / J. Hao, R. Liu, W. Piao, Q. Zhou [et al.] // *J. Exp. Med.* – 2010. Vol. 207. – P.1907-1921.
9. Deficiency of the chemokine receptor CXCR2 attenuates neutrophil infiltration and cortical damage following closed head injury / B.D. Semple, N. Bye, J.M. Ziebell [et. al.] // *Neurobiol.* – 2010. – No. 2. – P. 394.
10. Early changes in frequency of peripheral blood lymphocyte subpopulations in severe traumatic brain-injured patients / I. Mrakovcic-Sutic, V.S. Tokmadzic, G. Laskarin [et. al.] // *Scand. J. Immunol.* – 2010. – No. 1. – P. 57.
11. Increases in mortality, length of stay, and cost associated with hospital-acquired infections in trauma patients / L.G. Glance, P.W. Stone, D.B. Mukamel, A.W. Dick // *Arch. Surg.* – 2011. – Vol. 146. – P.794-801.
12. Infections in traumatic brain injury patients / I.S. Kourbeti, A.F. Vakis, J.A. Papadakis, D.A. Karabetsos [et al.] // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2012. – Vol. 18. – P. 359-364.
13. Kinetics of the cellular immune response following closed head injury / A. Czigner, A. Mihály, O. Farkas [et. al.] // *Acta Neurochir.* – 2009. – No. 3. – P. 9.
14. Oxidative burst of circulating neutrophils following traumatic brain injury in human / Y. Liao, P. Liu, F. Guo et al. // *PLoS One.* – 2013. Vol. 8. – e68963.
15. Selassie A.W. Population-based study of the risk of in-hospital death after traumatic brain injury: the role of sepsis / A.W. Selassie, S.M. Fakhry, D.W. Ford // *J. Trauma.* – 2011. – Vol. 71. – P. 1226-1234.
16. Strain influences on inflammatory pathway activation, cell infiltration and complement cascade after traumatic brain injury in the rat / F. Al Nimer, R. Lindblom, M. Strum [et. al.] // *Brain Behav. Immun.* – 2013. – No. 1. – P. 22.
17. The leukocyte count, immature granulocyte count and immediate outcome in head injury patients / A. Subramanian, D. Agrawal, R.M. Pandey, M. Nimiya, V. Albert // In: *Agrawal A. Brain Injury – Pathogenesis, Monitoring, Recovery and Management.* – Rijeka, Croatia. – 2012. – P. 139-152.
18. Traumatic Brain Injury and Peripheral Immune Suppression: Primer and Prospectus / J. Hazeldine, J.M. Lord, A. Belli // *Front Neurol.* – 2015. – Vol. 6. – P. 235-252.

Отримано 28.05.2017

СТАН ІМУНОЛОГІЧНОЇ РЕАКТИВНОСТІ ПРИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІЙ ЧЕРЕПНО-МОЗКОВІЙ ТРАВМІ

¹Зяблицев С.В., ¹Кришталь М.В., ²Дядик О.О.

¹Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна

²Національна медична академія післядипломної освіти імені П.Л. Шупика, Київ, Україна

Актуальність. На сьогодні сведения о изменении активности клеточного и гуморального звена иммунитета у пострадавших с черепно-мозговой травмой (ЧМТ), противоречивы и спорны.

Мета: вивчення імунологічної реактивності при експериментальній ЧМТ.

Матеріали і методи. Дослідження проведено на 75 білих безпородних щурах-самцях масою 185-220 г, у 50 з яких моделювали ЧМТ шляхом вільного падіння вантажу на фіксовану голову тварини. Контрольну групу (“хибнотравмовані”) склали 25 щурів. Через 1, 3, 7, 14 і 21 добу в крові підраховувала формені елементи; за допомогою моноклональних антитіл ідентифікували CD3+, CD 22+, CD4+, CD8+, CD16+ клітини, а для імуно-гістохімічного дослідження зрізи мозку обробляли первинними антитілами до CD3+ і CD20+ (*Becton, Dickinson, USA*).

Результати. В ході дослідження встановлено, що у відповідь на експериментальну ЧМТ в організмі тварин виникала типова захисна реакція на ушкодження, що проявлялася нейтрофільним лейкоцитозом і підвищенням рівня натуральних кілерів. З боку клітинної ланки імунітету спостерігалася виражена імунодепресія, більше виражена з боку субпопуляції Т-лімфоцитів хелперів. Не лише в якості компенсаторної реакції, але і як наслідок стимуляції антигенними структурами мозку, розвивалася активація В-лімфоцитів з прогресивним збільшенням їх змісту упродовж усього періоду спостереження.

Висновки. ЧМТ призводить до розвитку клітинного імунодефіциту: виражене зниження кількості Т-лімфоцитів з першої доби після травми, особливо – CD4+, рівень яких був понижений практично в 5 разів в порівнянні з початковим і не відновлювався до 21 доби. Демаскування мозкових антигенів при ЧМТ призводить до активації гуморальної ланки імунітету і збільшення вмісту в крові циркулюючих В-лімфоцитів.

Ключові слова: імунологічна реактивність, черепно-мозкова травма.

CONDITION OF THE IMMUNOLOGIC REACTIVITY AT THE EXPERIMENTAL TRAUMATIC BRAIN INJURY

¹Zyablitsev S.V., ¹Krishtal N.V., ²Dyadyk E.A.

¹ Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

² Shupyk National Medical Academy of Postgraduate Education, Kyiv, Ukraine

Relevance. To date, information about the changes in the activity of cellular and humoral immunity in victims with traumatic brain injury (TBI) are contradictory and controversial.

Aim. Studying of an immunologic reactivity at an experimental TBI was a research objective.

Materials and methods. The research is conducted on 75 white males rats weighing 185-220 g at 50 of which modelled TBI by free fall of a load on the fixed animal head. The control group ("placebo") was made by 25 rats. In 1, 3, 7, 14 and 21 days in blood counted formulated elements; by means of monoclonal antibodies identified CD3+, CD 22+, CD4+, SD8+, SD16+ cells, and for an immunohistochemical research sections of a brain processed primary antibodies to CD3+ and SD20 + (Becton, Dickinson, USA).

Results. During the research it is established that in response to experimental TBI in an organism of animals there was a sample protective reaction to damage shown by a neutrophilic leukocytosis and rising of natural killers level. From a cellular link of immunity the expressed immunodepression more expressed from a subpopulation of T-lymphocytes helpers was observed. Not only as compensatory reaction, but also as a result of stimulation of a brain by antigenic structures, activation of B-lymphocytes with progressive augmentation of their contents throughout the entire period of observation developed.

Conclusions. Experimental TBI leads to development of a cellular immunodeficiency: the expressed depression of T-lymphocytes quantity from first days after a trauma, especially – CD4+ which level was reduced almost five times in comparison with initial and it wasn't restored to the observation period extremity. Disclosure of cerebral antigens at TBI leads to activation of a humoral link of immunity and augmentation of contents in a blood of the circulating B-lymphocytes.

Keywords: immunologic reactivity, experimental traumatic brain injury.

ІЗОЛЬОВАНА ТА КОМБІНОВАНА ДІЯ ХЛОРОФОРМУ ТА МОНОХЛОРОЦТОВОЇ КИСЛОТИ З ПИТНОЮ ВОДОЮ НА ГЕМАТОЛОГІЧНІ ТА ІМУНОЛОГІЧНІ ПОКАЗНИКИ ПІДДОСЛІДНИХ ТВАРИН

*Прокопов В.О., Томашевська Л.А., Куліш Т.В., Липовецька О.Б.,
Кравчун Т.Є., Григоренко Л.Є.*

*ДУ “Інститут громадського здоров’я ім. О.М. Марзєєва НАМН України”, Київ, Україна
igme_voda@ukr.net*

Рецензенти: чл.-кор. НАМНУ, проф. Полька Н.С., проф. Омельчук С.Т.

Актуальність. Для знезараження питної води використовується рідкий хлор та його похідні. Хлорорганічні сполуки є токсичними, мутагенними та канцерогенними. Але ще не вивчені біологічні ефекти від дії монохлороцтової кислоти при надходженні з питною водою до організму.

Мета: встановити в хронічному санітарно-токсикологічному експерименті характер та особливості ізольованого та комбінованого впливу хлороформу та монохлороцтової кислоти з питною водою на гематологічні та імунологічні показники піддослідних тварин.

Матеріали та методи. Експеримент тривав 6 місяців. Білі щури (n=80) розподілені на 10 груп, по 8 тварин в кожній: 1 (контрольна) вживала артезіанську воду; 6 дослідних груп – отримували питну воду з вмістом хлороформу або монохлороцтової кислоти на рівні кожної з них 1, 3 та 5 гранично допустимої концентрації (ГДК); 3 дослідні групи – вживали питну воду з комбінацією цих сполук на рівні 1, 3 та 5 ГДК кожної речовини. Кров для досліджень брали на 30, 60, 120 та 180 добу експерименту. Для оцінки морфологічного складу крові підраховували кількість еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів периферичної крові. Паралельно визначали концентрацію гемоглобіну, середню концентрацію гемоглобіну в еритроцитах, дисперсію розподілу еритроцитів за об’ємом (шириною). Використовували автоматичний гематологічний аналізатор “PCE-90 Vet”. Сенсibiliзуючу дію хлороформу та монохлороцтової кислоти на організм вивчали шляхом визначення можливості розвитку реакцій гіперчутливості негайного типу.

Результати. Хлороформ та монохлороцтова кислота на рівні 1 ГДК, як по окремоті, так і в їх комбінації, не мають негативного впливу на показники крові. При зростанні їх концентрації (3 і 5 ГДК) та часу впливу (120-180 діб) ці речовини в ізольованому вигляді мають загально токсичний вплив, що проявляється гематологічними змінами. Токсична дія підсилюється при сумісному їх потрапленні в організм. Це вказує на високу чутливість системи крові до дії токсичних речовин у наднормативних концентраціях. Імунотоксичність хлороформу та монохлороцтової кислоти (на рівні 5 ГДК та їх комбінації на рівнях 3 і 5 ГДК) проявляється вже через 3 місяці в результаті розвитку слабкої сенсibiliзації організму.

Висновок. При надходженні до організму тварин хлороформу та монохлороцтової кислоти відбуваються гематологічні зміни, які зростають із збільшенням концентрації речовин та часу їх дії, що в подальшому може призвести до розвитку патологічних станів.

Ключові слова: санітарно-токсикологічний експеримент, щури, хлороформ, монохлороцтова кислота, гематологічні та імунологічні показники.

Актуальність. Сьогодні в Україні, як і в більшості країн Європи, для знезараження питної води використовується рідкий хлор та його похідні (гіпохлорит натрію, діоксид хлору, хлораміни тощо). Виконуючи свою основну знезаражувальну функцію, хлор в той же час вступає у реакцію з органічними речовинами природної води, що призводить до утворення хлорорганічних сполук (ХОС) [6, 7]. Хлорорганічні сполуки є токсичними речовинами, які мають мутагенні та канцерогенні властивості. За умов застосування на річкових водопроводах застарілих традиційних водоочисних технологій, вони практично з води не видаляються та без змін надходять до водопровідних мереж, що створює ризик для здоров’я споживачів [2, 6, 8, 10].

Серед ХОС, що утворюються у воді при хлоруванні, найбільш вивченими є леткі тригалогенметани (ТГМ) та значно менше – нелеткі галогеноцтові кислоти (ГОК), які, за даними зарубіжних дослідників, є не менш небезпечними, ніж ТГМ [2, 10, 11]. Для окремих речовин класу ТГМ в Україні встановлено гранично допустимі концентрації (ГДК) у водопровідній питній воді. Для хлороформу, як найбільш пріоритетної сполуки, вона становить 60 мкг/дм³ (ДСанПіН 2.2.4-171-10). Щодо галогеноцтових кислот, то вітчизняних нормативів їх вмісту у воді у нас немає. В США та Канаді вміст у питній воді ГОК контролюється за сумою з п’яти речовин (60 та 80 мкг/дм³, відповідно). Рекомендований норматив ВООЗ у воді для монохлороцтової (МХОК), дихло-

роцтової та трихлороцтової кислот становить 20, 50 та 200 мкг/дм³, відповідно [11].

На сьогодні, за даними зарубіжної літератури та результатами наших робіт, в хлорованій водопровідній воді визначаються водночас речовини обох класів ХОС, серед яких постійно присутніми є хлороформ та МХОК [6, 7, 11].

Токсична дія ХОС, передусім хлороформу, питної води на організм тварин та людини достатньо вивчена. В той же час біологічні ефекти від дії ГОК, зокрема монохлороцтової кислоти, при ізольованому та комбінованому, разом з хлороформом, надходженні з питною водою до організму в експериментальних та епідеміологічних дослідженнях практично не вивчалися.

Мета: встановити в хронічному санітарно-токсикологічному експерименті характер та особливості ізольованого та комбінованого впливу хлороформу та монохлороцтової кислоти з питною водою на гематологічні та імунологічні показники піддослідних тварин.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Беручи до уваги отримані нами дані щодо забруднення токсичними хлорорганічними сполуками водопровідної питної води багатьох населених пунктів різних областей України [6, 7], представляє інтерес вивчити особливості біологічної дії постійно присутніх у воді пріоритетних легких (хлороформ) та нелетких (монохлороцтова кислота) ХОС на живий організм, а саме на гематологічні та імунологічні показники піддослідних тварин.

Тривалість хронічного санітарно-токсикологічного експерименту з використанням білих безпородних шурів становила 6 місяців. В експерименті використовували модельні водні розчини на основі артезіанської води, в якій створювали задані концентрації хлороформу та монохлороцтової кислоти. Речовини застосовували як окремі сполуки, так і їх комбінацію в концентраціях 1, 3 та 5 ГДК кожної з них.

80 піддослідних тварин (самки вагою 160-170 г) були розподілені на 10 груп, по 8 тварин у кожній: 1 – контрольна – вживала артезіанську воду, 6 дослідних груп – отримували питну воду з вмістом хлороформу та монохлороцтової кислоти на рівні кожної з них 1, 3 та 5 ГДК; 3 дослідні групи – вживали питну воду з комбінацією досліджуваних сполук на рівні 1, 3 та 5 ГДК кожної речовини.

Щоденно проводилось спостереження за загальним станом тварин, поведінкою та кількістю спожитої рідини. Взяття матеріалу для досліджень проводили на 30, 60, 120 та 180 добу експерименту. Експеримент проводився з дотриманням принципів біоетики та вимог гуманного ставлення до тварин [9].

Для оцінки морфологічного складу крові, що підтримується постійним руйнуванням та поповнен-

ням елементів крові, було проведено підрахунок кількості еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів периферичної крові. Паралельно проводили визначення концентрації гемоглобіну, середньої концентрації гемоглобіну в еритроцитах (МСНС) та дисперсію розподілу еритроцитів за об'ємом (шириною) (RDW). Ці показники характеризують співвідношення кількості гемоглобіну до обсягу клітин – МСНС, а також різноманітність еритроцитарних клітин крові – дисперсія розподілу еритроцитів, або індекс анізоцитозу еритроцитів. Підрахунок клітин крові проводили за методом *Coulter*, який оснований на вимірюванні змін електричного опору. Рівень гемоглобіну визначався колориметричним методом. Гематологічні дослідження виконували за допомогою автоматичного гематологічного аналізатора "PCE-90 Vet" (США) [4].

Дослідження сенсibiliзуючої дії хлороформу та монохлороцтової кислоти у питній воді на організм проводилось шляхом визначення можливості розвитку реакцій гіперчутливості негайного типу (ГНТ) [3, 5].

Отримані в експерименті дані були оброблені з використанням загальноприйнятих методів статистичної обробки результатів медико-біологічних досліджень [1].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В групах тварин, які зазнавали впливу питної води із вмістом хлороформу та МХОК на рівні 1 ГДК, не було виявлено жодних статистично достовірних змін показників крові, тому у таблицях 1–4 вони не представлені.

Визначення абсолютних значень кількості еритроцитів та гемоглобіну в крові піддослідних тварин не показало значних змін відносно показників контрольної групи. Відмічено достовірне підвищення на 120 добу експерименту абсолютної кількості еритроцитів в групах тварин, які зазнавали ізольованого впливу хлороформу на рівні 3 ГДК та МХОК на рівні 3 та 5 ГДК, проте слід зазначити, що ці зміни не виходили за межі фізіологічної норми для шурів.

Більш прогностично важливими є показники дисперсії розподілу еритроцитів за об'ємом та середньої концентрації гемоглобіну в еритроцитах (табл. 1).

Ізольована дія хлороформу на рівні 3 ГДК проявлялася статистично достовірним зниженням показника МСНС вже починаючи з 60 доби дослідження, а дія на рівні 5 ГДК – короткотривалим підвищенням на 30 добу та подальшим зниженням до кінця експерименту. Дія МХОК у питній воді на рівні 3 та 5 ГДК практично не викликала змін досліджуваного показника у 3 та 4 групах тварин. Комбінований вплив хлороформу та монохлороцтової кислоти на рівні

3 ГДК проявлявся зниженням показника МСНС у тварин 5 групи через 60 діб від початку експерименту, а у тварин 6 групи (5 ГДК) – вже з 30 доби та продовжувався до завершення дослідження.

Зміни показника ширини розподілу еритроцитів у 2 та 3 групах тварин під впливом хлороформу питної води на рівні 3 та 5 ГДК проявлялися достовірними змінами, порівняно з контрольною групою, зі 120 доби експерименту. Зростання показника RDW у тварин 3 та 4 груп під дією питної води з вмістом МХОК на рівні 3 та 5 ГДК, відповідно, спостерігалось на 60 добі експерименту та на 180 добі у тварин 4 групи.

Комбінована дія ХФ та МХОК, що відмічалася у тварин 6 групи, які споживали питну воду із вмістом речовин на рівні 5 ГДК, проявлялася зростанням показника RDW, починаючи з 60 доби експерименту та до його завершення.

Вивчення лейкоцитів, як частини захисної системи організму, включало визначення їх абсолютної кількості в цілому та окремих видів. В таблиці 2 представлені результати визначення вмісту лейко-

цитів у крові піддослідних тварин на протязі експерименту.

У тварин, які отримували хлороформ з питною водою на рівні 3 та 5 ГДК, спостерігалось достовірне підвищення абсолютної кількості лейкоцитів в периферичній крові на 60 добу досліду. Таке зростання показника відмічалось й на 120 добу, проте лише в 2 групі, яка отримувала хлороформ на рівні 5 ГДК. Наприкінці експерименту рівень даного показника у 2 та 3 групах тварин наблизився до показника контрольної групи. Споживання тваринами питної води із вмістом монохлороцтової кислоти на рівні 3 та 5 ГДК не справляло жодного впливу на вміст лейкоцитів в крові.

Поєднаний вплив хлороформу та МХОК питної води на рівні 5 ГДК призводив до підвищення абсолютної кількості лейкоцитів на 120 добу експерименту, яке не лише достовірно відрізнялося від показника контрольної групи, але й виходило за межі фізіологічної норми для щурів. Але на 180 добу в групах 5 та 6, які піддавались поєднаному впливу хлороформу та МХОК на рівні 3 та 5 ГДК, можна

Таблиця 2

Абсолютна кількість лейкоцитів в периферичній крові щурів в динаміці

Групи тварин	Період дії фактора			
	30 діб	60 діб	120 діб	180 діб
Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах (МСНС), М±m, г/л				
Контрольна	280,75±0,84	285,75±2,24	274,00±3,08	277,75±1,12
група 1 (3 ГДК ХФ)	269,25±7,01	279,75±0,56*	267,00±3,92	270,50±1,12*
група 2 (5 ГДК ХФ)	290,25±1,96*	280,50±2,24	270,50±3,92	270,00±1,96*
група 3 (3 ГДК МХОК)	275,75±6,73	276,00±4,20	274,20±1,40	270,75±5,61
група 4 (5 ГДК МХОК)	277,75±2,80	274,50±1,40*	272,20±4,20	272,00±4,20
група 5 (3 ГДК ХФ+МХОК)	274,75±3,92	269,50±1,68*	269,70±3,36	259,50±6,45*
група 6 (5 ГДК ХФ+МХОК)	275,25±1,40*	270,00±1,12*	266,70±0,56	261,75±0,56*
Дисперсія розподілу еритроцитів за об'ємом (RDW), М±m, %				
Контрольна	10,15±0,34	9,78±0,25	10,58±0,20	10,43±0,20
група 1 (3 ГДК ХФ)	10,00±0,20	10,28±0,31	11,15±0,17*	11,58±0,20*
група 2 (5 ГДК ХФ)	10,78±0,34	10,25±0,20	11,17±0,25*	11,88±0,45*
група 3 (3 ГДК МХОК)	10,25±0,11	10,50±0,17*	10,22±0,39	11,00±0,22
група 4 (5 ГДК МХОК)	10,3±0,22	11,00±0,34*	10,52±0,39	11,10±0,14*
група 5 (3 ГДК ХФ+МХОК)	10,20±0,31	10,63±0,36	10,62±0,08	10,83±0,48
група 6 (5 ГДК ХФ+МХОК)	10,00±0,25	10,66±0,28*	11,55±0,31*	11,30±0,19*

Примітка. * – відмінності достовірні при порівнянні з контрольною групою (p<0,05).

Таблиця 1

Середня концентрація гемоглобіну в еритроцитах та дисперсія розподілу еритроцитів за об'ємом в периферичній крові щурів в динаміці експерименту

Групи тварин	Період дії фактора			
	30 діб	60 діб	120 діб	180 діб
Абсолютна кількість лейкоцитів, (М±m) · 10 ⁹ /л				
Контрольна	22,20±1,88	19,23±2,18	20,25±2,27	22,15±1,88
група 1 (3 ГДК ХФ)	21,63±1,63	23,85±0,84*	22,98±2,80	19,05±2,58
група 2 (5 ГДК ХФ)	24,75±1,40	31,50±4,12*	29,58±3,72*	19,33±2,19
група 3 (3 ГДК МХОК)	22,53±2,88	22,35±4,54	21,95±2,86	16,25±4,62
група 4 (5 ГДК МХОК)	27,33±7,31	23,33±2,04	23,80±1,68	17,23±1,45
група 5 (3 ГДК ХФ+МХОК)	24,88±4,93	21,65±3,08	22,15±2,58	13,03±3,47*
група 6 (5 ГДК ХФ+МХОК)	20,43±6,61	28,80±5,94	30,35±3,14*	15,50±2,21*

Примітка. * – відмінності достовірні при порівнянні з контрольною групою (p<0,05)

було спостерігати вже достовірне зниження зазначеного показника, що може свідчити про вичерпання функціональних резервів організму.

Кількісні зміни видів лейкоцитів в периферичній крові піддослідних тварин на протязі експерименту стосувалися, перш за все, їх абсолютного вмісту (табл. 3).

Як видно з таблиці 3, найбільші зміни спостерігалися в кількості лімфоцитів в периферичній крові піддослідних тварин. Встановлено достовірне зростання показника на 60 добу експерименту в групах тварин, які отримували хлороформ на рівні 3 та 5 ГДК, й хоча в подальшому відмічалася тенденція до його зниження, проте на 120 добу в 5-й групі збільшення кількості лімфоцитів залишалось достовірним порівняно із контрольною групою тварин.

У тварин, які споживали питну воду із вмістом 5 ГДК монохлороцтової кислоти (4 група), відмічалася хвилеподібні зрушення в кількості лімфоцитів: достовірне зростання на 60 добу та зниження на 180 добу експерименту.

Вплив комбінації хлороформу та монохлороцтової кислоти на рівні 5 ГДК на вміст лімфоцитів в крові проявлявся зростанням цього показника на 60 добі експерименту (6 група), та його значним достовірним зниженням у тварин 5 та 6 груп наприкінці експерименту.

В динаміці експерименту спостерігалися наступні зміни абсолютної кількості моноцитів в периферичній

крові піддослідних тварин: достовірне зниження зазначеного показника відносно показників контролю відмічалася лише в групах тварин, що зазнавали поєднаної дії хлороформу та МХОК на рівні 3 та 5 ГДК на 180 добу експерименту (табл. 3).

Подібна картина спостерігається й відносно вмісту гранулоцитів в крові піддослідних тварин в динаміці експерименту. Виявлено достовірне зниження кількості гранулоцитів в крові тварин 5 та 6 груп за умов тривалого впливу (180 діб) комбінації хлороформу та монохлороцтової кислоти у питній воді на рівні 3 та 5 ГДК.

Іншим досліджуваним показником був вміст тромбоцитів в периферичній крові тварин. Спостерігались достовірні коливання вмісту тромбоцитів в крові у тварин всіх досліджуваних груп у порівнянні з контрольною, які залишалися в межах фізіологічної норми для щурів.

Визначення розвитку ГНТ у реакції Шеллі показало, що через 30 діб експерименту у тварин усіх досліджуваних груп реєструвалася слабо позитивна аутосенсibiliзація (табл. 4). Про це свідчить відсоток дегрануляції базофільних гранулоцитів, який в присутності тканинного антигену становив у 2 групі – (14,40±0,98) %, 4 групі – (12,80±1,50) %, 5 групі – (16,00±1,79) % і 6 групі – (19,20±1,50) %. Щодо тварин 1 та 3 груп, які зазнавали ізолюваного впливу хлороформу і МХОК на рівні 3 ГДК, можна відмітити, що у них рівень реактивних антитіл до тка-

Таблиця 3

Вміст окремих видів лейкоцитів в периферичній крові щурів в динаміці експерименту

Групи тварин	Період дії фактора			
	30 діб	60 діб	120 діб	180 діб
Абсолютна кількість лімфоцитів, (M±m)·10 ⁹ /л				
Контрольна	11,93±0,81	12,48±0,90	13,30±1,46	13,75±0,39
група 1 (3 ГДК ХФ)	12,40±0,84	16,63±1,37*	10,13±1,76	8,63±2,29
група 2 (5 ГДК ХФ)	12,25±0,59	22,60±3,16*	16,73±3,22*	10,45±3,89
група 3 (3 ГДК МХОК)	8,00±3,36	14,38±3,25	9,98±1,82	7,00±3,84
група 4 (5 ГДК МХОК)	11,75±4,23	18,88±1,71*	11,13±1,18	6,98±1,88*
група 5(3 ГДК ХФ+МХОК)	12,70±4,90	16,45±2,83	9,43±2,32	5,35±2,61*
група 6 (5 ГДК ХФ+МХОК)	16,08±2,24	20,80±1,51*	16,85±2,43	6,58±1,21*
Абсолютна кількість моноцитів, (M±m)·10 ⁹ /л				
Контрольна	1,68±0,31	1,13±0,22	1,13±0,14	0,88±0,14
група 1 (3 ГДК ХФ)	2,00±0,17	0,80±0,06	0,80±0,14	0,83±0,08
група 2 (5 ГДК ХФ)	2,05±0,48	1,13±0,25	1,23±0,11	0,73±0,14
група 3 (3 ГДК МХОК)	1,10±0,28	0,80±0,14	0,78±0,19	0,75±0,20
група 4 (5 ГДК МХОК)	1,25±0,08	0,83±0,11	1,08±0,14	0,80±0,01
група 5(3 ГДК ХФ+МХОК)	1,28±0,17	0,55±0,03*	1,10±0,28	0,53±0,06*
група 6 (5 ГДК ХФ+МХОК)	1,13±0,28	0,80±0,20	1,15±0,28	0,55±0,11*
Абсолютна кількість гранулоцитів, (M±m)·10 ⁹ /л				
Контрольна	8,10±2,60	7,75±1,37	7,80±1,20	6,28±0,42
група 1 (3 ГДК ХФ)	10,35±1,48	6,43±0,56	6,05±0,89	6,60±0,53
група 2 (5 ГДК ХФ)	8,55±1,18	7,78±0,90	7,20±0,39	5,65±0,95
група 3 (3 ГДК МХОК)	4,93±2,07	7,18±1,60	5,20±0,86	5,50±0,59
група 4 (5 ГДК МХОК)	6,33±0,87	6,63±0,59	5,70±0,64	6,45±0,42
група 5(3 ГДК ХФ+МХОК)	7,90±1,88	4,65±0,45	5,63±1,23	4,15±0,81*
група 6 (5 ГДК ХФ+МХОК)	5,48±1,60	7,20±1,23	6,35±1,54	4,27±0,79*

Примітка. * – відмінності достовірні при порівнянні з контрольною групою (p<0,05)

нинного антигену був на межі норми і патології (10,40±0,98) % дегранульованих базофілів, при нормі – до 10 %.

Слід також відмітити, що сироватки крові тварин, які отримували високі концентрації хімічних сполук як ізольовано, так і в комбінації, викликали дегрануляцію базофілів і у присутності гаптенів. Це дозволяє зробити висновок про наявність сенсibilізації до монохлороцтової кислоти та хлороформу. Кількість дегранульованих клітин була від (11,20±0,80) % до (16,80±1,50) %. Таку реакцію можна оцінити як слабокопозитивну.

Дослідження сенсibilізуючої дії вивчених сполук в динаміці експерименту показали здатність їх викликати розвиток гіперчутливості за негайним типом у тварин 2, 3, 4, 5 і 6 груп (табл. 4). Сироватки крові щурів цих дослідних груп посилювали дегрануляцію базофільних гранулоцитів як в присутності тканинного антигену, так і гаптенів, що вказує на розвиток слабо вираженої аутосенсibilізації та сенсibilізації.

Звертає увагу той факт, що через 90 діб від початку експерименту слабка аутосенсibilізація спостерігалася навіть у щурів, які отримували комбінацію сполук на рівні ГДК. Так, якщо після 1 місяця реакція була відсутня, то на кінець 3 місяця відсоток дегранульованих клітин зростав і становив (12,00±1,79) % (від 10 до 20 % – реакція слабокопозитивна). Ймовірніше, так проявилася комбінована дія зазначених сполук за їх одночасного надходження до організму.

У 1 групі (ізольована дія хлороформу на рівні 3 ГДК), навпаки, спостерігалася нормалізація показника, що може свідчити про розвиток толерантності.

Отже, вивчення реакції ГНТ за ізольованої та комбінованої дії досліджуваних сполук протягом 90 діб показало, що у групі тварин, що зазнавали комбінованої дії монохлороцтової кислоти і хлороформу на рівні ГДК, слабка аутосенсibilізація рееструвалася лише через 3 місяці, тоді як сенсibilізація визначалася вже через 1 місяць і зберігалася в подальшому. У групі тварин, що отримувала хлороформ на рівні 3 ГДК, на кінець 3 місяця, можливо, розвивалась толерантність, а у групах тварин, що отримували

МХОК на рівні 3 та 5 ГДК, хлороформ на рівні 5 ГДК та зазнавали комбінованого впливу цих речовин на рівні 3 та 5 ГДК, зберігалася слабокопозитивна аутосенсibilізація та сенсibilізація організму, які вперше визначалися вже через 30 діб впливу.

Отже, в результаті хронічного санітарно-токсикологічного експерименту отримано нові наукові дані щодо ізольованого та комбінованого впливу хлороформу та монохлороцтової кислоти питної води на гематологічні та імунологічні показники піддослідних тварин. Встановлено, що хлороформ та монохлороцтова кислота на рівні 1 ГДК як окремі речовини, так і їх комбінація, не мають негативного впливу на показники крові тварин.

При практично повній відсутності зрушень в кількісному складі еритроцитів та гемоглобіну в крові, спостерігалися значні зміни їх якісного стану, а саме тих показників крові, які характеризують насиченість гемоглобіном еритроцитів та їх різноманітність. Такі зміни були більш вираженими у тварин, які споживали питну воду із хлороформом та комбінацією хлороформу і монохлороцтової кислоти. Отримані результати можуть свідчити про ранні прояви анемії в результаті токсичної дії досліджуваних речовин питної води на процеси формування еритроцитів.

Слід зазначити, що ізольована дія токсичних речовин питної води (хлороформу, МХОК) проявлялася в основному зростанням показників лейкоцитів та лімфоцитів з 60 доби дослідження, а дія комбінації цих речовин в понаднормативних кількостях призвела до зниження вмісту лейкоцитів в цілому та окремих їх видів (лімфоцитів, моноцитів та гранулоцитів) наприкінці експерименту. Це може свідчити, що дія окремих ХОС веде до активації імунної системи внаслідок дії пошкоджуючого фактора, а комбінований вплив токсичних речовин може вести до пригнічення регенераторних процесів, вичерпування компенсаторних механізмів та розвитку патології.

Визначення імунотоксичності летких та нелетких ХОС питної води на організм тварин показало, що вже через 3 місяці експерименту розвивається слабка ауто- та сенсibilізація організму за ізольованої дії

Таблиця 4

Ступінь дегрануляції базофільних гранулоцитів у щурів у динаміці експерименту

Групи тварин	% дегранульованих базофілів (тканинний антиген – печінка)*		% дегранульованих базофілів (гаптен – МХОК)*		% дегранульованих базофілів (гаптен – ХФ)*	
	30 діб	90 діб	30 діб	90 діб	30 діб	90 діб
Контрольна	4,00±1,26	4,00±1,63	4,00±1,26	3,20±1,50	3,20±1,50	3,20±1,50
гр. 1 (3 ГДК ХФ)	10,40±0,98	9,60±2,04	–	–	8,80±1,50	8,80±1,50
гр. 2 (5 ГДК ХФ)	14,40±0,98	19,20±1,50	–	–	12,00±1,26	11,20±1,50
гр. 3 (3 ГДК МХОК)	10,40±0,98	10,40±0,98	11,20±0,80	10,40±0,98	–	–
гр. 4 (5 ГДК МХОК)	12,80±1,50	13,60±0,98	12,80±1,50	14,40±0,98	–	–
гр. 5 (3ГДК ХФ+МХОК)	16,00±1,79	13,60±0,98	13,60±0,98	14,40±0,98	15,20±0,80	12,80±1,50
гр. 6 (5ГДК ХФ+МХОК)	19,20±1,50	16,80±1,50	16,00±1,26	16,00±1,26	16,80±1,50	16,00±1,26

Примітки: * – від 10 до 20 % – реакція слабокопозитивна; ** – від 20 до 30 % – реакція позитивна; *** – 30 % – реакція різко позитивна.

хлороформу на рівні 5 ГДК, МХОК на рівнях 3 і 5 ГДК та впливу їх комбінації в аналогічних концентраціях. У тварин, які споживали хлороформ на рівні 3 ГДК зафіксовано нормалізацію показника, що може свідчити про розвиток толерантності. За комбінованої дії сполук на рівні 1 ГДК у щурів до сенсibiliзації на кінець 3 місяця приєднувалася слабка аутосенсibiliзація. У цьому випадку, ймовірно, проявилася комбінована дія означених сполук за їх одночасного надходження до організму.

ВИСНОВОК

При надходженні до організму тварин хлороформу та монохлороцтової кислоти відбуваються гематологічні зміни, які зростають із збільшенням концентрації речовин та часу їх дії, що в подальшому може призвести до розвитку патологічних станів.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організацій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Антомонов М.Ю. Математическая обработка и анализ медико-биологических данных. – К., 2006. – 558 с.
2. Винарська О.І. Оцінка стану імунної системи тварин за пероральної дії різних доз хлороформу / О.І. Винарська, Л.Є. Григоренко, Н.О. Никонова [та ін.] // Довкілля та здоров'я. – 2008. – № 3. – С. 8-11.
3. Оценка влияния факторов окружающей среды на иммунологическую реактивность организма: мето-

- дические рекомендации / НИИ ОКГ им. А.Н. Марзеева. – К., 1988. – 23 с.
4. Методы клинических лабораторных исследований / под ред. В.С. Камышников. – М.: МЕДпресс-информ, 2011. – 752 с.
 5. Проданчук М.Г. Дослідження імунотоксичної дії потенційно небезпечних хімічних речовин при їх гігієнічній регламентації: методичні рекомендації / М.Г. Проданчук, П.Г. Жмілько, Д.В. Зінченко [та ін.] // Збірник нормативних документів з охорони здоров'я. – К., 2003. – № 8 (31). – С. 149-168.
 6. Прокопов В.О. Питна вода України: медико-екологічні та санітарно-гігієнічні аспекти. К.: Медицина, 2016. – 400 с.
 7. Прокопов В.О. Утворення та видалення галогенметанів при застосуванні хлорних технологій підготовки питної води з поверхневих джерел водопостачання / В.О. Прокопов, Ю.В. Бардик, Г.В. Чичковська [та ін.] // Довкілля та здоров'я. – 2003. – № 1 (24). – С. 14-18.
 8. Прокопов В.О. Вплив хлороформу хлорованої питної води на здоров'я людини / В.О. Прокопов, Г.В. Чичковська, Ю.В. Бардик [та ін.] // Гігієна населених місць: зб. наук. пр. – К., 2002. – Вип. 40. – С. 70-74.
 9. Резніков О.Г. Загальні етичні принципи експериментів на тваринах. Перший національний конгрес з біоетики / О.Г. Резніков // Ендокринологія. – 2003. – Т. 8, № 1. – С. 142-145.
 10. Черниченко И.А. Канцерогенная опасность хлороформа и других побочных продуктов хлорирования питьевой воды / И.А. Черниченко, Н.В. Баленко, О.Н. Литвиченко // Гигиена и санитария. – 2009. – № 3. – С. 28-33.
 11. Monochloroacetic Acid in Drinking – water: Background document for development of WHO Guidelines for Drinking-water Quality. – Geneva: WHO, 2004. – 17 p.

Отримано 23.06.2017

ИЗОЛИРОВАННОЕ И КОМБИНИРОВАННОЕ ДЕЙСТВИЕ ХЛОРОФОРМА И МОНОХЛОРОУКСУСНОЙ КИСЛОТЫ С ПИТЬЕВОЙ ВОДОЙ НА ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ И ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПОДОПЫТНЫХ ЖИВОТНЫХ

Прокопов В.А., Томашевская Л.А., Кулиш Т.В., Липовецкая Е.Б., Кравчун Т.Е., Григоренко Л.Е.

ГУ “Институт общественного здоровья им. А.Н. Марзеева НАМН Украины”, Киев, Украина

Актуальность. Для обеззараживания питьевой воды используют жидкий хлор и его производные. Хлорорганические соединения являются токсичными, мутагенными, канцерогенными. Но ещё не изучены биологические эффекты от действия монохлоруксусной кислоты при поступлении с питьевой водой в организм.

Цель: установить в хроническом санитарно-токсикологическом эксперименте характер и особенности изолированного и комбинированного воздействия хлороформа и монохлоруксусной кислоты с питьевой водой на показатели крови подопытных животных.

Материалы и методы. Эксперимент продолжался 6 месяцев. Белых крыс (n=80) разделили на 10 групп, по 8 особей в каждой: 1 (контрольная) употребляла артезианскую воду; 6 подопытных групп – питьевую воду с содержанием хлороформа или монохлоруксусной кислоты на уровне каждого вещества 1, 3 и 5 предельно допустимой концентрации (ПДК); 3 подопытные группы – употребляли питьевую воду с комбинацией этих соединений на уровне 1, 3 и 5 ПДК каждого вещества. Кровь для исследований брали в 30, 60, 120 и 180 сутки эксперимента. Для оценки морфологического состава крови подсчитывали количество эритроцитов, лейкоцитов и тромбоцитов периферической крови. Параллельно определяли концентрацию гемоглобина, среднюю концентрацию гемоглобина в эритроцитах и дисперсию распределения эритроцитов по объёму (ширине). Использовали автоматический гематологический анализатор “PCE-90 Vet”. Сенсibiliзирующее действие хлороформа и монохлоруксусной кислоты на организм изучали путём определения возможности развития реакций гиперчувствительности немедленного типа.

Результаты. Хлороформ и монохлоруксусная кислота на уровне 1 ПДК, как по отдельности, так и в комбинации, не оказывают негативного влияния на показатели крови. При увеличении их концентрации (3 и 5 ПДК) и времени воздействия (120–180 суток) эти вещества по отдельности имеют общетоксическое влияние, которое проявляется гематологическими изменениями. Токсическое действие усиливается при их совместном попадании в организм. Это указывает на высокую чувствительность системы крови к действию токсических веществ в наднормативных концентрациях. Иммунотоксичность хлороформа и монохлоруксусной кислоты (на уровне 5 ПДК и их комбинация на уровне 3 и 5 ПДК) проявляется уже через 3 месяца в результате развития слабой сенсибилизации организма.

Вывод. При поступлении в организм животных хлороформа и монохлоруксусной кислоты происходят гематологические изменения, которые возрастают по мере увеличения концентрации веществ и времени их действия, что в дальнейшем может привести к развитию патологических состояний.

Ключевые слова: санитарно-токсикологический эксперимент, крысы, хлороформ, монохлоруксусная кислота, гематологические и иммунологические показатели.

ISOLATED AND COMBINED EFFECTS OF CHLOROFORM AND MONOCHLOROACETIC ACID WITH DRINKING WATER ON HEMATOLOGICAL AND IMMUNOLOGICAL INDICATORS OF EXPERIMENTAL ANIMALS

Prokopov V.O., Tomashevskaya L.A., Kulish T.V., Lypovetska O.B., Kravchun T. Ye., Grigorenko L.E.

SI "O.M. Marzeyev Institute for Public Health of the National academy of medical sciences of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Relevance. For drinking water disinfection using liquid chlorine and its derivatives. Organochlorine compounds are toxic, mutagenic and carcinogenic. But the biological effects of the intake of monochloroacetic acid with drinking water in the body have not yet been studied.

The aim: to establish in the chronic sanitary-toxicological experiment the character and features of the isolated and combined effects of chloroform and monochloroacetic acid with drinking water on the hematological and immunological parameters of the experimental animals.

Materials and methods. Experiment lasted 6 months. White rats (n = 80) were divided into 10 groups, 8 animals per each: 1 (control) used artesian water; 6 experimental groups received drinking water containing chloroform or monochloroacetic acid at the level of each of them 1, 3 and 5 maximum permissible concentration (MPC); 3 experimental groups - drinking water with a combination of these compounds at levels of 1, 3 and 5 MPCs of each substance. Blood for research was taken on 30, 60, 120 and 180 days of the experiment. To estimate the morphological composition of the blood, the number of red blood cells, leukocytes and platelets of the peripheral blood was counted. In parallel, the concentration of hemoglobin, the average concentration of hemoglobin in erythrocytes, and the dispersion of redistribution by volume (width) were determined. An automatic hematologic analyzer "PCE-90 Vet" was used. The sensitizing effect of chloroform and monochloroacetic acid on the body was studied by determining the possibility of developing an immediate type hypersensitivity reaction.

Results. Chloroform and monochloroacetic acid at the level of 1 MAC, both individually and in combination, have no negative effect on the blood parameters. With an increase in their concentration (3 and 5 MPC) and exposure time (120-180 days), these substances in the isolated form have a general toxic effect, which is manifested by hematological changes. Toxic effects increase when compatible they are hit into the body. This indicates a high sensitivity of the blood system to the action of toxic substances in excessive concentrations. Immunotoxicity of chloroform and monochloroacetic acid (at the level of 5 MAC and their combination at levels 3 and 5 MAC) manifests itself after 3 months as a result of the development of weak sensitization of the organism.

Conclusion. When chloroform and monochloroacetic acid enter the body of animals, the hematological changes increase with increasing concentration of substances and the time of their action, which in future may lead to the development of pathological conditions.

Key words: sanitary-toxicological experiment, rats, chloroform, monochloroacetate acid, hematological and immunological parameters.

КЛІНІКО-НЕВРОЛОГІЧНІ ТА УЗДГ КОРЕЛЯЦІЇ В ГОСТРОМУ ПЕРІОДІ ІНСУЛЬТУ У ХВОРИХ З РІЗНИМИ ВИДАМИ МАНІФЕСТНОЇ ВІРУСНОЇ ІНФЕКЦІЇ В АНАМНЕЗІ

Турчина Н.С., Черенько Т.М.

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна
tcherenko@ukr.net*

Рецензенти: проф. Мяловицька О.А., проф. Рибалко С.Л.

Актуальність. Хоча факт асоціації інфекцій та атеросклерозу на сьогодні доведений, але в патогенезі залишається багато нез'ясованого. Недостатньо висвітлені питання щодо ролі та питомої ваги певних видів вірусної інфекції у реалізації та прискоренні атеросклеротичного процесу. Практично нічого не відомо про вплив вірусу герпесу людини 6, 7 та 8 типів. Досі нез'ясований проміжок часу між ознаками клінічної маніфестації вірусної інфекції та розвитком ішемічного інсульту. Не вивчено питання про відновлення неврологічних функцій після інсульту, залежно від виду вірусної персистенції.

Мета: вивчення структури вірусної і поширеної невірусної інфекції у хворих з ішемічним інсультом, а також ступеня неврологічного відновлення, церебрального атеросклерозу за різних видів вірусної персистенції.

Матеріали та методи. В дослідження увійшло 89 хворих із гострим порушенням мозкового кровообігу за типом ішемії з анамнестичними клінічними проявами вірусної інфекції протягом 3 місяців до судинної катастрофи. Серед хворих 39 (44,9 %) чоловіків і 50 (55,1 %) жінок в середньому віці $62,08 \pm 1,29$ років (від 36 до 92 років). У 61 (68,5 %) хворих визначено ішемічний інсульт, у 28 (31,5 %) діагностовано транзиторні ішемічні атаки. Діагноз верифікувався за допомогою магнітно-резонансної томографії, тяжкість неврологічного статусу оцінювалась за шкалою *NIHSS* (*National Institute of Health Stroke Scale*) в 1, 7 та 21 добу. Сироватка крові хворих досліджувалась на наявність ДНК вірусів простого герпеса (HSV), герпеса людини (HHV), грипу, аденовірусів, ентеровірусів, вірусів гострої респіраторної інфекції, а також поширених невірусних інфекцій: мікоплазми, уроплазми, токсоплазми, хламідій. Застосовувались метод поліцитомеразної ланцюгової реакції для визначення ДНК вірусів із сироватки крові та метод визначення вірусних антигенів в культурі клітин за допомогою імуноферментного аналізу. Ступінь атеросклеротичного ураження судин визначалась за даними дуплексного сканування брахіоцефальних артерій. Для статистичної обробки результатів використовували пакет *IBM SPSS Statistics 22*.

Результати. Найчастіше в гострому періоді інсульту виявлявся HSV1 – у 57,3 % хворих, $p < 0,05$; персистенція HSV2 та HHV6 – у 38,2 % та 32,6 % хворих, відповідно. У 84 (89,9 %) хворих спостерігалася комбінація двох різних вірусів HSV2 та HHV6. Найчастіше спостерігалася комбінація HSV1/HSV2 – у 29 (32,6 %) хворих, $p < 0,05$. Між терміном вірусної маніфестації і тяжкістю порушення мозкового кровообігу існував слабкий, проте достовірний, зворотній зв'язок ($r = -0,237$, $p = 0,025$). Не виявлено достовірного зв'язку між тяжкістю неврологічного дефіциту на першу добу після інсульту та типом вірусної інфекції або її комбінації, за виключенням аденовірусу ($r = 0,27$, $p = 0,01$). Відсоток зниження балу *NIHSS* на 7 та 21 добу від'ємно корелював з наявністю деяких вірусів та їх поєднань, зокрема герпесвірусів або їх асоціацій HSV1, HSV1,2; HSV1,2-HHV6. Коефіцієнти кореляції між наявністю певних типів вірусів, кількістю стенозів та кількістю гемодинамічно позначених стенозів коливались від 0,19 при гострій респіраторній вірусній інфекції до 0,33 у разі поєднання HHV6-грип.

Висновки. Найчастіше в хворих з ішемічним інсультом та клінічною маніфестацією персистуючої вірусної інфекції в анамнезі (протягом 1–90 дб до розвитку симптомів) виявлялись ДНК вірусів HSV1, HSV2, HHV4, HHV5, HHV6. Наявність стенозу магістральних судин в екстракраніальному відділі, кількість стенозів та наявність гемодинамічно значимих стенозів корелювали з наявністю вірусної персистенції HHV6 та/або асоціації HHV6 та грипу. Наявність HSV1, HSV2, HHV6 вірусів та/або їх асоціацій погіршує відновлення неврологічних функцій в динаміці гострого післяінсультного періоду.

Ключові слова: ішемічний інсульт, HSV1, HSV2, HHV6, відновлення неврологічних функцій.

Актуальність. Причини дестабілізації атеросклеротичної бляшки, що призводять до виникнення таких гострих церебральних клінічних проявів атеросклерозу (АС), як ішемічний інсульт, до кінця невідомі та активно дискутуються серед вчених [16].

Відбулася зміна парадигми, в результаті якої припинила існування теорія, за якою АС – наслідок порушення метаболізму холестерину, та затверджується нова – про запальну природу захворювання [25]. Джерелом такого запалення може слугувати інфекція [29]. Передбачення про асоціацію інфекцій та АС має під собою раціональну основу, оскільки, відомо, що

процес розвитку атеросклеротичних змін судинної стінки включає в себе хронічне повільно перебігаюче запалення [22]. Здатність хронічних інфекцій викликати запалення в тканинах може бути причиною прогресування атеросклеротичних бляшок [1, 2, 3].

На сьогодні в літературі описані та систематизовані майже 250 чинників ризику АС [32]. Аналіз показав, що всі вони так чи інакше пов'язані з вірусною інфекцією, що персистує, та лише через неї – з АС [4].

Виходячи з того, що АС є багатофакторною хворобою, найвірогіднішим фактором ризику є “тягар

інфекцій” [39]. Згідно з гіпотезою “інфекційної накладки”, атеросклеротичні зміни можуть формуватися при умовах одночасної персистенції декількох інфекцій в пацієнтів зі зниженою імунореактивністю, наявною генетичною передумовленістю та іншими факторами ризику (ФР), і саме поєднання інфекцій ймовірніше асоціюється із ризиком виникнення інсульту [18].

На сьогодні факт асоціації інфекцій та АС можна вважати доведеним, хоча в патогенезі залишається багато нез’ясованого [13]. Зокрема, це стосується проміжку часу між ознаками клінічної маніфестації вірусної інфекції та розвитком інсульту.

Багато досліджень сфокусовано на часі між проявами вірусної інфекції та виникненням інсульту, і термін виникнення інсульту після перенесеної вірусної інфекції відрізняється, за різними даними [34, 45]. Найчастіше неврологічні симптоми інсульту виникали протягом від одного дня до 1 місяця після вірусу вітряної віспи (VZV) [34, 45]. Є дані, що підвищення ризику інсульту після оперізуючого герпесу (HZ) найчастіше спостерігається через 3 місяці [35, 36]. Більш довгий проміжок спостерігався тільки в людей, які перенесли HZ в молодому віці [45]. Аналіз 30 випадків гострого порушення мозкового кровообігу, асоційованого з HZ, свідчить про появу неврологічних симптомів інсульту протягом 2,5 місяців після висипки [35, 44]. Найбільш небезпечним вважався ризик інсульту через 4 тижні [1], через 5–12 тижнів [1, 42], через 13–26 тижнів [1, 23]. Зазначають, що у 55 % осіб, що приймали противірусну терапію при HZ, ризик виникнення інсульту знижувався, порівняно з нелікованими хворими [37].

Зв’язок між інфекцією та розвитком інсульту прослідковується на різних етапах розвитку цереброваскулярної патології. Повідомляється про вплив інфекції та запального процесу на підтип інсульту у хворих на ішемічний інсульт (ІІ) внаслідок ураження великих церебральних артерій та кардіогенної емболії, особливо в пацієнтів без судинних факторів ризику [9, 10]. Зазначається, що атеротромботичний та кардіоемболічний інсульти з високою частотою виникають у пацієнтів, які перенесли інфекції дихальних шляхів [7, 11, 18, 28, 43].

На сьогодні факт асоціації інфекцій та АС можна вважати доведеним, хоча в механізмі патогенезу залишається багато неясного [12]. Великого значення в розвитку “інфекційного” направлення в дослідженні проблеми інсульту відіграло накопичення даних про АС, як хронічний запальний процес, ініціатором якого є ушкодження судин, що викликається різними факторами: від артеріальної гіпертензії та куріння, до гіпергомоцистемії та інфекційних патогенів [3, 5, 46, 47]. Розповсюджена гіпотеза хронічного ураження ендотелія на тлі бактеріальної та вірусної інфекції, гомотестемії, дії вільних радикалів, зниження рівня закису азоту та деяких інших

факторів. Скоріше за все, ці фактори, що ведуть до атеросклеротичного процесу, взаємопов’язані та є ланками одного ланцюга [15].

Причини дестабілізації атеросклеротичної бляшки, що призводять до виникнення таких клінічних проявів АС, як ІІ, до цих пір активно обговорюються. Описані клінічні випадки коронарного та церебрального атеротромбозу, а також артеріальних та венозних тромбозів іншої локалізації, пов’язаних з активно перебігаючою герпесвірусною інфекцією, як в пацієнтів з послабленим, так і нормальним імунітетом [19, 33, 49]. Водночас питання щодо ролі певних видів вірусної інфекції у реалізації та прискоренні атеросклеротичного процесу недостатньо висвітлені в літературі [14, 20, 25]. Практично нічого не відомо про вплив HHV 6,7 та 8-го типів на патогенез АС [20]. Напроти, цитомегаловірус (CMV) частіше виявляється в ділянках з АС, порівняно з контрольними: 40 % проти 4 %, відповідно. Також при дослідженні 33 зразків тканини аорти методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) (причому 10 з них з гістологічними ознаками АС) HSV 1 типу достовірно частіше виявлявся у групі саме із гістологічними ознаками АС, порівняно із зразками аорти без таких (80 % проти 13 %, відповідно) [44]. В інших випадках не знайшли кореляції між наявністю ДНК CMV інфекції та структурою атеросклеротичних бляшок у сонних артеріях. CMV було виявлено лише в половині зразків артерій [48]. Відносно недавно описана асоціація між інсультом та аденовірусною інфекцією [30]. Зазначається про асоціацію стенозуючих ушкоджень артерій з наявністю аденовірусної інфекції [30]. Ризик первинного інсульту значно вище після гострої інфекції – протягом перших 3 днів, та залишається значно підвищеним протягом 3 місяців [14].

Досі практично не вивчено питання про питому вагу різного типу та виду вірусної інфекції у хворих з ІІ, який розвинувся на тлі маніфестної вірусної інфекції та відновлення неврологічних функцій, залежно від виду вірусної персистенції.

Мета: вивчення структури вірусної і невірусної інфекції у хворих з ішемічним інсультом і клінічною маніфестацією в анамнезі, а також зв’язку між неврологічним відновленням і ступенем церебрального атеросклерозу, залежно від виду інфекційного агента.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Робота виконувалась в період з 2011–2016 рр. на базах неврологічних відділень Олександрівської та міської клінічної лікарні № 4. В дослідження увійшло 89 хворих із ГПМК за типом ішемії з анамнестичними клінічними проявами вірусної інфекції протягом 3 місяців до судинної катастрофи. Серед хворих 39 (44,9 %) чоловіків і 50 (55,1 %) жінок в середньому

віці $62,08 \pm 1,29$ років (від 36 років до 92 років). У 61 (68,5 %) хворих визначено ішемічний інсульт, у 28 (31,5 %) діагностовано транзиторні ішемічні атаки (ТІА).

Діагноз інсульт підтверджувався за допомогою магнітно-резонансної томографії (МРТ), використовувались шкала оцінки тяжкості інсульту Національного інституту здоров'я *NIHSS (National Institute of Health Stroke Scale)*. Сироватка крові хворих досліджувалась на наявність ДНК вірусів герпесу людини: простого герпесу 1 та 2 типів (HSV1, HSV2); герпесу людини 4, 5, 6 (HHV4 – Епштейна-Барр вірус, HHV5-CMV, HHV6); вірусу грипу, аденовірусів, ентеровірусів, вірусів гострої респіраторної інфекції, а також мікоплазми, уроплазми, токсоплазми, хламідій

Застосовувались вірусологічні методи дослідження: метод визначення ДНК вірусів в сироватці крові за допомогою полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР) [6, 8] та метод визначення вірусних антигенів (АГ) в культурі клітин за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА) [21, 24, 40].

Всім хворим проводилось ультразвукове дуплексне сканування (УЗДС) брахіоцефальних артерій на апараті *Medison ACCUVIX V10* сфазованим датчиком 2–4 МГц, для визначення ступеня стенозу, товщини комплексу “інтима-медіа” у внутрішніх сонних (ВСА) та загальній сонній артеріях (ЗСА), середній мозковій (СМА), передній мозковій (ПМА) та задній мозковій артеріях (ЗМА), хребетних (ХА) та базиллярній. Визначали патогенетичний підтип інсульту, користуючись TOAST критеріями [17]. Статистична обробка отриманих результатів виконувалась з використанням дескриптивної статистики, параметричних (t-критерій Стьюдента) та непараметричних (U-критерій Манна-Уїтні) методів порівняння середніх значень змінних, залежно від їх типу. Порівняльну оцінку відношення частин змінних, відображених в номінальній чи ординарній шкалах, проводили за допомогою χ^2 -тесту Пірсона. Кореляційний аналіз проводили за методом Пірсона та Спірмена, залежно від характеру змінних. Нульову гіпотезу рівності змінних відкидали при $p < 0,05$. Аналіз даних проводився з використанням пакетів статистичного аналізу IBM SPSS *Statistics 22*.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За патогенетичним підтипом хворі розподілялись наступним чином: у більше половини хворих – 50 (56,2%) визначався атеротромботичний підтип (АТ); у 9 (10,1 %) кардіоемболічний (КЕ); у 7 (7,9 %) – лакунарний (ЛАК); у 12 (13,5 %) – гемодинамічний (ГД) та у 11 (12,4 %) – був остаточно не визначений (ОНВ).

З 89 хворих на ІІ та ТІА у 54 (64 %) хворих ураження було у каротидному басейні, в тому числі в

басейні ЛСМА – 32 (36,0 %), басейні ПСМА – 22 (24,7 %) хворих.

Слід зазначити, що частота ураження різних басейнів суттєво відрізнялась у хворих з інсультом і ТІА. У разі інсульту частіше відмічалось ураження судин каротидного басейну: лівої та правої середніх мозкових артерій (ЛСМА та ПСМА), у разі ТІА – вертебрально-базиллярного басейну (ВББ), $p = 0,042$ (табл. 1).

Тяжкість неврологічного дефіциту за *NIHSS* знаходилась у межах від 3 до 15 балів, в середньому становила $9,42 \pm 0,26$ балів,

Середній термін клінічної маніфестації у хворих із вірусною персистенцією складав $11,8 \pm 1,5$ доби (від 1 доби до 90 діб). До 7 діб – 32 (36,0 %) хворих, від 7 діб до 14 діб включно – 44 (49,4 %) осіб, понад 14 діб – 13 (14,6 %) хворих (рис. 1).

Між терміном вірусної маніфестації і тяжкістю ГПМК існував слабкий, проте достовірний, зворотній зв'язок: $r = -0,237$, $p = 0,025$.

Аналіз розподілу хворих залежно від визначеного виду вірусної персистенції та їх комбінацій свідчить, що найчастіше (у 57,3 %, 51 хворий) виявлявся HSV1. Деяко менша частина хворих (38,2% та 32,6 %) мала ознаки персистенції HSV2 та HHV6, відповідно. Ще рідше визначався HHV5 (23,6 %) та HHV4 (28,1 %). Майже п'яту частину складали пацієнти, інфіковані вірусом грипу (19,1 %). Виявлення уроплазми та мікоплазми серед пацієнтів з симптомною вірусною персистенцією спостерігалось приблизно в 15,7 % та в 16,9 %, відповідно; хламідії та токсоплазма – у 9 % та 10,1 % випадків, відповідно (табл. 2).

Слід зазначити, що у 84 (94,3 %) хворих відмічалася комбінація двох різних вірусів, а у 6 (6,7 %) хворих – трьох (HSV 1/ HSV 2/ HHV6). Учасниками комбінації з двох вірусів були HSV 1 – у 38 (45,2 %) хворих, вірус грипу – у 34 (40,5 %), HHV6 – у 34 (40,5 %). Найчастіше спостерігалася комбінація HSV 1/ HSV2 – у 29 (32,6 %) хворих, всі $p < 0,05$ (табл. 3).

У 62 пацієнтів (63,4 %) при шпиталізації до відділення з ознаками вірусної персистенції в анамнезі було діагностовано стенотичні ураження судин головного мозку. Причому, більше ніж у половині випадків – 38 (57,9 %) – визначалось ураження двох судинних басейнів. У 12 хворих (21,1 %) – одного судинного басейну, у 11 (19,3 %) хворих виявлялось ураження трьох басейнів, у 1 (1,8 %) – чотирьох.

Серед судин, уражених атеросклеротичним стенозуванням, найбільший відсоток складали магістральні судини голови та шиї в екстракраніальному відділі. Стенозування ПЗСА та ЛЗСА становило 22,1 % та 21,3 %, відповідно. Стенозування ПВСА та ЛВСА – по 19,7 %. Тобто більше 80 % судин зі стенозами складали загальні та внутрішні сонні артерії.

З пацієнтів зі стенозуванням судин більше половини (56,5 %) складали хворі, серед яких гемодина-

Таблиця 1

Частота ураження різних судинних басейнів залежно від характеру гострої судинної катастрофи

Басейн ураження	Інсульт		ТІА		Всього	
	Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
ЛСМА	23	37,7	9	32,1	32	36,0
ПСМА	19	31,1	3	10,7	22	24,7
ВВБ	16	26,2	16	57,1	32	36,0
ПВСА	1	1,6	0	0,0	1	1,1
П+Л СМА	2	3,3	0	0,0	2	2,2
Всього	61	100,0	28	100,0	89	100,0

мічно позначений стеноз виявлявся хоча б в одній судині.

Встановлено, що наявність стенозу достовірно корелювала з певними типами вірусів або їх асоціаціями (рис. 2–5).

Коефіцієнти кореляції між наявністю певних типів вірусів та кількістю стенозів коливались від 0,19 при ГРВІ до 0,25 у разі поєднання ННВ6/грипу.

Виявлені також кореляції між певними видами вірусів та кількістю гемодинамічно позначених стенозів (рис. 3).

Нами не виявлено достовірного зв'язку між тяжкістю неврологічного дефіциту на першу добу після інсульту та типом вірусної інфекції або її комбінації, за виключенням аденовірусів: $r = -0,268$, $p = 0,011$ (табл. 4).

Динаміка неврологічного дефіциту була позитивною у 86,4% хворих. Середнє зниження балів за *NIHSS* на 7 добу склало $17,9 \pm 1,1$ % (максимум 36,4 %), та коливалось від 6 до 14 балів, в середньому $8,8 \pm 0,22$ бали.

Відсоток зниження балу *NIHSS* на 7 добу від'ємно корелював тією чи іншою мірою з наявністю вірусної інфекції, тобто персистенція певного типу вірусів або їх асоціацій погіршувала відновлення неврологічних функцій (рис. 4).

Найнегативніше на відновленні неврологічних функцій на момент завершення гострого періоду інсульту позначалась наявність герпесвірусів: HSV1, асоціація HSV1-2 або HSV1/HSV2/ННВ6.

Від'ємна кореляція відсотку зниження балу неврологічного дефіциту з наявністю певного типу вірусів спостерігалась і в кінці гострого періоду на 21 добу, хоча з меншими показниками коефіцієнта кореляції (рис. 5).

Таким чином, вивчення питомої ваги різних видів вірусної інфекції, як герпетичної групи (за виключенням вірусу вітряної віспи VZV, який причетний переважно до розвитку васкулопатії при інсультах в молодому віці), так і інших: грипу, аденовірусів, вірусу гострої респіраторної інфекції, ентеровірусів, а також деяких розповсюджених інфекцій невірусного походження у хворих на ішемічний інсульт з ознаками перенесеної гострої інфекції в анамнезі про-

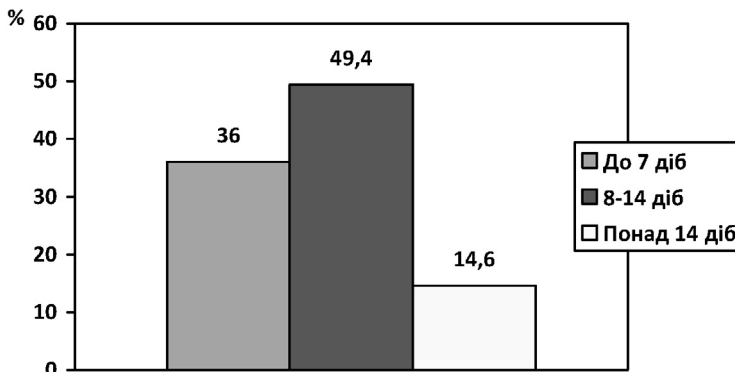


Рис. 1. Розподіл хворих за терміном вірусної маніфестації до виникнення судинної події.

Таблиця 2

Частота виявлення ДНК різних видів вірусної інфекції та інших інфекційних агентів у хворих з ішемічним інсультом

Вірус	Абс.	%
HSV 1	51	57,3
HSV 2	34	38,2
ННВ6	29	32,6
ННВ4	25	28,1
ННВ5	21	23,6
Грип	17	19,1
Мікоплазма	15	16,9
Уроплазма	14	15,7
Токсоплазма	9	10,1
Хламідії	8	9,0
Аденовірус	3	3,4
Ентеровірус	2	2,2
ГРВІ	1	1,1

Таблиця 3

Частота інфікування в комбінації двох видів вірусної інфекції

Комбінації	Абс.	%
HSV 1/ HSV 2	29	32,6
ННВ6/Грип	13	14,6
ННВ6 ННВ4	11	12,4
ННВ6/ ННВ5	10	11,2
HSV1/Грип	9	10,1
ННВ4/Грип	7	7,9
HSV2/Грип	5	5,6

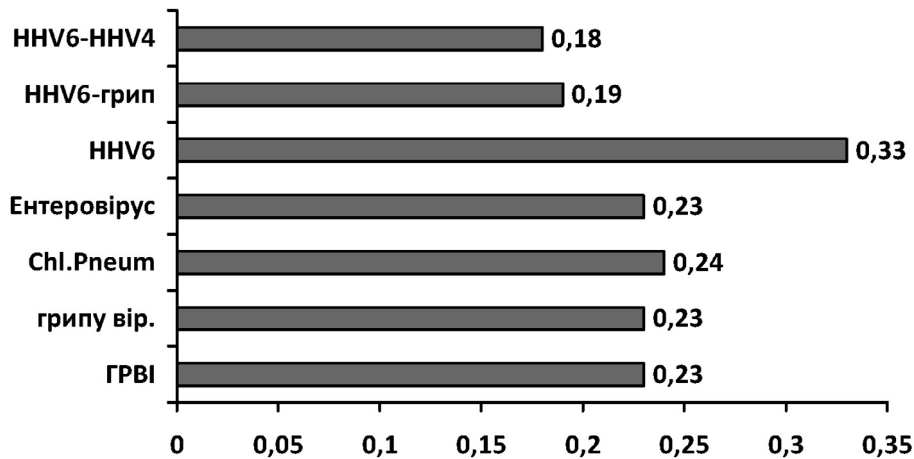


Рис. 2. Коефіцієнти кореляції між наявністю вірусної персистенції та наявністю стенозу екстракраніальних судин

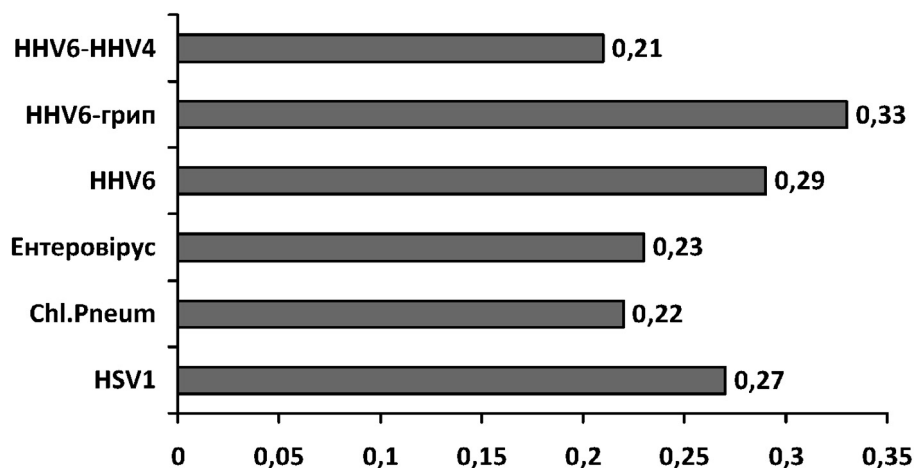


Рис. 3. Коефіцієнти кореляції між наявністю вірусної персистенції та кількістю гемодинамічно позначених судинних стенозів.

Таблиця 4

Кореляції між вірусом і тяжкістю *NIHSS* в першу добу після інсульту

Вірус	r	p	Комбінації вірусів	r	P
HSV1	0,035	0,748	HSV1/HSV2	0,001	0,996
HSV2	0,011	0,922	HSV1/HSV2/HHV6	0,117	0,275
HHV6	0,144	0,179	HHV6/Грип	0,148	0,167
HHV5	0,035	0,747	HHV6/HHV4	0,156	0,143
HHV4	0,026	0,808	HHV6/HHV5	0,026	0,807
ентеровірус	0,056	0,604	HHV4/Грип	0,085	0,427
уроплазма	0,064	0,551	HSV1/Грип	0,041	0,703
ГРВІ	0,103	0,336	HSV2/Грип	0,041	0,705
мікоплазма	0,075	0,485	HSV1/HSV2	0,001	0,996
Хламідії	0,105	0,327			
токсоплазма	0,079	0,464			
аденовірус	0,268	0,011			
грипу вірус	0,137	0,201			

тягом 3 місяців до судинної катастрофи, засвідчило достатньо часту наявність ДНК герпесвірусів. У більше половини хворих (57,3 %) – це був HSV1, а більше ніж у третини хворих ознаки персистенції HSV2 та HHV6. Слід зазначити, що у 90 % хворих з ознаками персистенції виявлено поєднання двох різних вірусів, причому достовірно частіше визначалась комбінація HSV1/HSV2.

Можливість активування атеросклеротичної бляшки гострою інфекцією, що може призводити до порушення її стабільності з наступними тромбозом, емболією та розвитком клінічних проявів ТІА або інсульту, залишається предметом активних дискусій, що розпочались вже давно [38]. У більше ніж половини пацієнтів з інсультом та вірусною персистенцією (64,0 %) нами було діагносто-

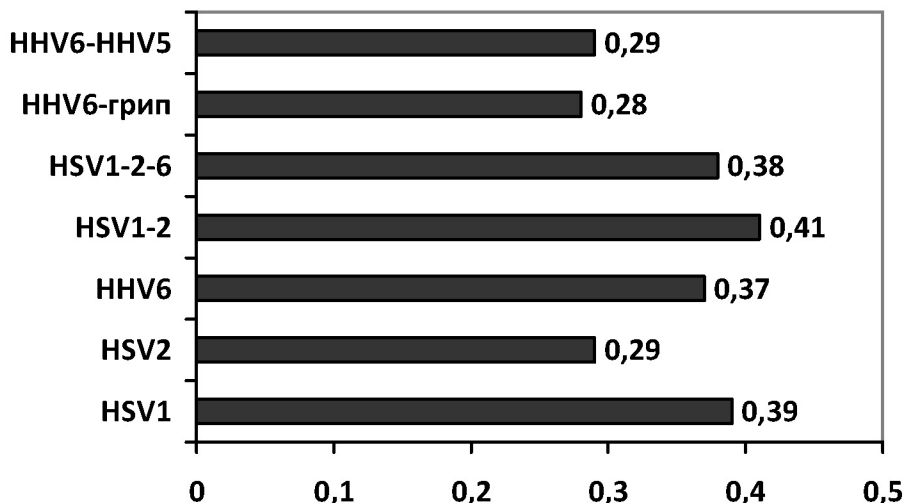


Рис. 4. Абсолютна величина статистично значимого ($p < 0,05$) коефіцієнта кореляції між наявністю вірусної персистенції та відсотком зниження балів *NIHSS* на 7 добу.

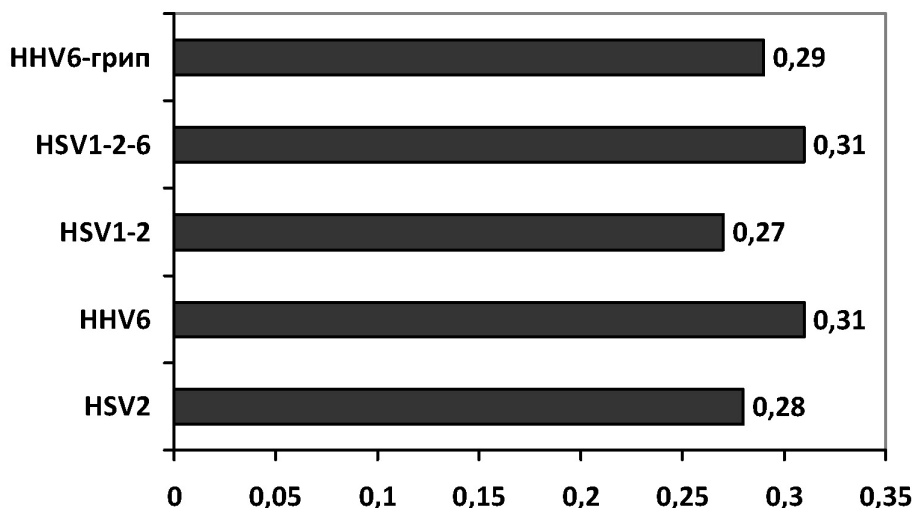


Рис. 5. Абсолютна величина коефіцієнта кореляції (у разі його статистично значимої величини, $p < 0,05$) між наявністю вірусної персистенції та відсотком зниження балів *NIHSS* на 21 добу.

вано стенози церебральних та прецеребральних судин. Причому у 58 % хворих до атеросклеротичного процесу були залучені два судинних басейни. З числа хворих, у яких діагностовано стенотичне ураження судин, гемодинамічно позначений стеноз хоча б однієї судини мали 48 (63,2 %) хворих, або більше половини (53,9 %) випадків від загальної кількості хворих. Встановлено, що наявність стенозу, їх кількість та наявність гемодинамічно значимих стенозів корелювали з виявленою вірусною інфекцією, або асоціацією вірусів, і сила цього зв'язку відрізнялась залежно від виду вірусної персистенції. Отримані дані вочевидь є свідченням не тільки зв'язку вірусної інфекції з активністю атеросклеротичного процесу у хворих, загострення якого призводило до виникнення ТІА-інсульту, але й ймовірно відображають своєрідність впливу певного вірусного агента на перебіг церебрального атеросклерозу.

Існує точка зору про більшу тяжкість перебігу та гірші наслідки ішемічного інсульту, коли йому передують інфекції, в тому числі вірусна [23, 26, 27, 31, 41, 42]. Як засвідчив аналіз отриманих даних, відсоток зниження балу неврологічного дефіциту за *NIHSS* на 7 добу та на 21 (відносно до значень на першу добу) від'ємно корелював з наявністю деяких вірусів та їх асоціацій: HSV1,2; HHV6-HHV5; HHV6-вірус грипу. Це означає, що наявність певних вірусів або їх асоціацій погіршувала регрес неврологічного дефіциту в гострому періоді інсульту.

ВИСНОВКИ

Найчастіше в хворих з ішемічним інсультом та клінічною маніфестацією персистуючої вірусної інфекції в анамнезі (протягом 1-90 діб до розвитку симптомів) виявлялись ДНК вірусів HSV1, HSV2, HHV4, HHV5, HHV6.

Наявність стенозу магістральних судин в екстракраніальному відділі, кількість стенозів та наявність гемодинамічно значимих стенозів корелювали з наявністю вірусної персистенції HHV6 та/або асоціації HHV6 та грипу.

Наявність HSV1, HSV2, HHV6 вірусів та/або їх асоціацій погіршувала відновлення неврологічних функцій в динаміці гострого післяінсультного періоду.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Абакумова Ю.В., Ардаматский Н.А. Морфологические, функциональные, инфекционные аспекты атерогенеза // Международный медицинский журнал. – 2000. – № 6. – С. 522-524.
2. Виничук С.М., Черенько Т.М. Ишемический инсульт: эволюция взглядов на стратегию лечения. – К.: Изд-во ООО “Космополис”, 2003. – 120 с.
3. Гафуров Б.Г., Рахманова Ш.П. Некоторые клиникопатогенетические характеристики первого и повторного мозговых инсультов // Международный неврологический журнал. – 2011. – № 1 (39). – С. 59-62.
4. Гірина О.М. Імунопатогенетичні та ендокринні зміни при різних формах ішемічної хвороби серця в умовах вірусної інфекції і їх терапевтична корекція: автореф. дис... д-ра мед. наук: 14.01.11 / НМУ ім. О.О. Богомольця. – К., 1995. – 46 с.
5. Жукова Ю.В., Масычева В.И., Никитин Ю.П. Влияние острых респираторных вирусных инфекций на течение ишемической болезни сердца // Бюллетень СО РАМН. – 2008. – № 84 (132). – С. 56-59.
6. Практичний посібник з імуноферментного аналізу. Іванська Н.В., Кислих О.М., Максименко О.В. та ін. / Під ред. А.Л. Гураля та О.М. Співака. – К.: Діапрофмед ДМП Полімед. – 2003. – 51 с.
7. Кузнецова С.М. Факторы риска и профилактика инсульта // Лікування та діагностика. – 1998. – № 3. – С. 22-27.
8. Ленева И.А., Фадеева Н.И., Федякина И.М. и др. Применение иммуноферментной индикации вирусспецифических антигенов в изучении нового противирусного препарата арбидола. – ХФЖ. – 1994. – № 9. – С. 4-8.
9. Лосева М.И., Масычева В.И., Бельцова А.И., Космачёва Т.А. Опыт применения ридостина для лечения гриппа и ОРВИ // Материалы круглого стола “Применение ридостина для лечения вирусных и бактериальных инфекций и перспективы его использования при заболеваниях инфекционной природы”. – Бердск, 1998. – С. 64-67.
10. Мальцев Д.В. Герпесвірусні нейроінфекції людини. – К.: ЦУЛ, 2013. – 366 с.
11. Маричев И.Л. Герпесвіруси 1 та 2 типу – поширеність та діагностика. – Лабораторна діагностика. – 2008. – № 3. – С. 18-21.
12. Яковлева Л.М., Перемот Я.О., Перемот С.Д. та ін. Перспективність використання противірусних засобів у комплексній терапії хворих на гострий коронарний синдром з персистуючою герпесвірусною інфекцією // Аналітичний Мечниковського інституту. – 2011. – № 4. – С. 293-297.
13. Ярулина Д.Р., Ильинская О.Н., Силкин Н.И. и др. Инфекционная природа атеросклероза: факты и гипотезы // Учёные записки Казанского государственного университета. – 2010. – Т. 152, кн. 1. – С. 136-154.
14. Auer J., Berent R., Weber T., Eber B. Influenza Virus Infection, Infection Burden, and Atherosclerosis // Stroke. – 2002. – Vol. 33, No. 6. – P.1454-1455.
15. Bobrychev Y.V., Andreeva E.R., Michailova L.A. et al. Correlation between lipid deposition, immune in Amatory cell content and MNC class II expression in diffuse intimal thickening of the human aorta // Atherosclerosis. – 2011. – Vol. 219. – No. 1. – P.171-183.
16. Breuer J., Pacou M., Gauthier A., Brown M.M. Herpes zoster as a risk factor for stroke and TIA: a retrospective cohort study in the UK. // Neurology. – 2014. – Vol. 82, No. 3. – P. 206-212.
17. Chapman N., Huxley R., Anderson C. et al. Effects of a perindopril – based pressure – lowering regimen on the risk of recurrent stroke according to stroke subtype and medical history. The PROGRESS Trail // Stroke. – 2004. – Vol. 35. – P. 116-121.
18. Elkind M.S.V., Ramakrishnan P., Moon Y.P. et al. Infectious Burden and Risk of Stroke: The Northern Manhattan Study // Arch Neurol. 2010. – Vol. 67, No. 1. – P. 33-38.
19. Finn A.F., Nakado M., Norula J. et al. Concert of vulnerable/unstable plaque // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. – 2010. – Vol. 30. – P. 1282-1292.
20. Flamand L., Lautenschlager I., Krueger G., Dharam A. Human herpesvirus HHV-6A, HHV-6B & HHV-7: Diagnosis and clinical management. Elsevier Science, 2014.
21. Graham F.L., van der Eb A.J. A new technique for the assay of infectivity of humn adenovirus 5DNA // Virology. – 1973. – Vol. 52, No. 2. – P. 456-467.
22. Gomes E., Laures A., Balter JM. et al. Cytomegalovirus replication and “herpesvirus burden” as risk factor of cardiovascular events in the first year after real transplantation // Transplant Proc. 2005. – Vol. 37, No. 9. – P. 3760-3763.
23. Grau A. J., Becher H., Ziegler C.M. et al. Periodontal disease as risk factor for ischemic stroke // Stroke. – 2004. – Vol. 35, No. 2. – P. 496-501.
24. Growther S.R. The Elisa guidebook Humana Press. – 2009. – XV. – 566 p.
25. Hansson G. K., Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease // N. Engl. J. Med. – 2005. – Vol. 352, No. 16. – P.1685-1695.
26. Emsley H.C., Hopkins S.J. Acute ischaemic stroke and infection: recent and emerging // Lancet Neurol. – 2008. – Vol. 7, No. 4. – P. 341-353.

27. Hennerici M.G. The unstable plaque // *Cerebrovasc Dis.* – 2004. – Vol. 17, Suppl 3. – P. 17-22.
28. Hosseinipour M.C., Smith N.H., Simpson E.P. Middle Cerebral Artery Vasculitis and Stroke After Varicella in a Young Adult // *Southern Medical Journal.* 1998. – Vol. 91, No.11. – P. 1070-1072.
29. Hug A., Dalpke A., Wieczorec N. Infarct volume is a major determiner of post-stroke immune cell function and susceptibility to infection // *Stroke.* – 2009. – Vol. 40, No. 10. – P. 3226-3232.
30. Kutleza M., Тельовић G., Knezoviћ I. et al. Ischemic stroke associated with adenoviral infection in a 4-year-old boy // *Wien Klin Wochenschr.* – 2009. – Vol. 121, No. 23-24. – P. 776-779.
31. Macko R.F., Ameriso S.F., Gruber A. et al. Impairments of the protein C system and fibrinolysis in infection-associated stroke // *Stroke.* – 1996. – Vol. 27, No. 11. – P. 2005-2011.
32. Manousakis G., Jensen M.B., Chacon M.R., et al. The interface between stroke and infectious disease: infectious diseases leading to stroke and infections complicating stroke // *Current Neurology and Neuroscience Reports.* – 2009. Vol. 9, No. 1. – P. 28-34.
33. Montalescot G., Sechtem U. et al. 2013 ESC guidelines on the management of stable coronary artery disease: the Task Force on the management of stable coronary artery disease of the European Society of Cardiology // *Eur Heart J.* – 2013. – Vol. 34, No. 38. – P. 2949-3003.
34. Nagel M.A., Cohrs R.J., Mahelingam R. et al. The varicella zoster virus vasculopathies: clinical, CSF, imaging, and virologic features // *Neurology.* – 2008. Vol. 70, No. 11. – P. 853-860.
35. Nagel M.A., Traktinskij Y., Azarkh et al. Varicella zoster virus vasculopathies. Analysis of virus-infected arteries // *Neurology.* – 2011. – Vol. 77, No. 4. – P. 364-370.
36. Nagel M.A., Choe A., Khmeleva N. et al. Search for varicella zoster virus and herpes simplex virus-1 in normal human cerebral arteries // *J. Neurovirol.* – 2013. – Vol. 19, No. 2. – P. 181-185.
37. Nagel M.A., Gilden D. The Relationship Between Herpes Zoster and Stroke // *Curr Neurol Neurosci Rep.* – 2015. – Vol. 15, No. 4. – P. 16.
38. Niessner A., Sato K., Chaikof E.L. et al. Pathogen-sensing plasmacytoid dendritic cells stimulate cytotoxic T-cell function in the atherosclerotic plaque through interferon-alpha // *Circulation.* – 2006. – Vol. 114, No. 23. – P. 2482-2489.
39. O'Connor S., Taylor C., Cambell L.A. et al. Potential infectious etiologies of atherosclerosis: a multifactorial perspective // *Emerg. Infect. Dis.* – 2001. – Vol. 7, No. 5. – P. 780-788.
40. PCR:DIOS Essential techniques / Ed. S. Burke. – New York: John Wiley & Sons, 1996. – 153 p.
41. Paganini-Hill A., Lozano E., Fischberg G. et al. Infection and risk of ischemic stroke differences among stroke subtypes // *Stroke.* – 2003. – Vol. 34, No. 2. – P. 452-457.
42. Palasik W., Fiszer U., Lechowicz W. et al. Assessment of relations between clinical outcome of ischemic stroke and activity of inflammatory processes in the acute phase based on examination of selected parameters // *Eur Neurol.* – 2005. – Vol. 53, No. 4. – P. 188-193.
43. Puskas L.G., Tizlavicz L., Razga Z. et al. Detection of nanobacteria-like particles in human atherosclerosis plaques // *Acta Biol. Hung.* – 2005. – Vol. 56, No. 3-4. – P. 233-245.
44. Span A.M., Dam-Mieras V., Mullers W. et al. The effect of virus infection on the adherence of leukocytes or platelets to endothelial cells // *Eur. J. Clin. invest.* – 1991. – Vol. 21, No. 3. – P. 331-333.
45. Sreenivasan N., Basit S., Wohlfahrt J. et al. The Short- and Long-Term Risk of Stroke after Herpes Zoster-A Nationwide Population-Based Cohort Study // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8, Issue 7. – e69156.
46. Stacey L.K., Lemon S.M., Najafi M. Editors The Infectious Etiology of Chronic Disease: Defining the Relationship, Enhancing the Research, and Mitigating the Effects. – Washington, D.C.: The National Academic Press, 2004. – 215 p.
47. Stassen F.R., Vainas T., Cathrien A. Bruggeman Infection and atherosclerosis. An alternative view on an outdated hypothesis // *Pharmacol. Reports.* – 2008. – Vol. 60, No. 1. – P. 85-92.
48. Virok D., Kis Z., Kari L. Chlamydia pneumoniae and cytomegalovirus in atherosclerotic carotid plaques-combined presence and possible interactions // *Acta Microbiol. Immunol. Hung.* – 2006. – Vol. 53, No. 1. – P. 35-50.
49. Yasuda C., Okada K., Ohnari N., Akamatsu N., Tsuji S. Cerebral infarction and intracranial aneurysm related to the reactivation of varicella zoster virus in a Japanese acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) patient // *Rinsho Shinkeigaku.* – 2013. – Vol. 53, No. 9. – P. 701-705.

Отримано 23.06.2017

КЛИНИКО-НЕВРОЛОГИЧЕСКИЕ И УЗДГ КОРРЕЛЯЦИИ В ОСТРОМ ПЕРИОДЕ ИНСУЛЬТА У БОЛЬНЫХ С РАЗНЫМИ ВИДАМИ МАНИФЕСТНОЙ ВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ В АНАМНЕЗЕ

Турчина Н.С., Черенько Т.М.

Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Хотя факт ассоциации инфекций и атеросклероза сегодня доказан, но в патогенезе остается много неясного. Недостаточно освещены вопросы о роли и удельном весе определенных видов вирусной инфекции в реализации и ускорении атеросклеротического процесса. Практически ничего не известно о влиянии вируса герпеса человека 6, 7 и 8 типов. До сих пор не выяснен промежуток времени между признаками клинической манифестации вирусной инфекции и развитием ишемического инсульта. Не изучен вопрос о восстановлении неврологических функций после инсульта в зависимости от вида вирусной персистенции.

Цель: изучение структуры вирусной и невирусной инфекции у больных с ишемическим инсультом, а также степени неврологического восстановления и атеросклеротического стенозирования церебральных сосудов при разных видах вирусного агента.

Материалы и методы В исследование вошло 89 больных с острым нарушением мозгового кровообращения по типу ишемии с анамнестическими клиническими проявлениями вирусной инфекции на протяжении 3 месяцев до сосудистой катастрофы. Среди больных было 39 (44,9 %) мужчин и 50 (55,1 %) женщин в среднем возрасте $62,08 \pm 1,29$ года (от 36 до 92 лет). У 61 (68,5 %) больного выявлен ишемический инсульт, у 28 (31,5 %) диагностированы транзиторные ишемические атаки. Диагноз верифицировался при помощи магнитно-резонансной томографии, тяжесть неврологического статуса оценивалась по шкале *NIHSS* (*National Institute of Health Stroke Scale*) в 1, 7 и 21 сутки. Сыворотка крови больных исследовалась на наличие ДНК вирусов простого герпеса (HSV), герпеса человека (HHV), гриппа, аденовирусов, энтеровирусов, вирусов острой респираторной инфекции, а также распространенных невирусных инфекций: микоплазмы, уроплазмы, токсоплазмы, хламидий. Использовались метод полицитомеразной цепной реакции для определения ДНК вирусов в сыворотке крови и метод определения вирусных антигенов в культуре клеток при помощи иммуноферментного анализа. Степень церебрального атеросклероза оценивалась по данным дуплексного сканирования брахиоцефальных артерий. Для статистической обработки результатов использовали пакет *IBM SPSS Statistics 22*.

Результаты. В остром периоде инсульта чаще определялся HSV1 – у 57,3 % больных, $p < 0,05$; персистенция HSV2 и HHV6 – у 38,2 % и 32,6 % больных, соответственно. У 84 (89,9 %) больных наблюдалась комбинация двух разных вирусов HSV2 и HHV6. Чаще наблюдалась комбинация HSV1/ HSV2 29 – у 32,6 % больных, $p < 0,05$. Коэффициенты корреляции между наличием определенных видов вирусов, количеством стенозов и количеством гемодинамически значимых стенозов колебались от 0,19 при острой респираторной вирусной инфекции до 0,33 в случае сочетания HHV6-грипп. Не выявлено достоверной связи между тяжестью неврологического дефицита в первые сутки после инсульта и видом вирусной инфекции или её комбинации, за исключением аденовируса ($r = 0,27$, $p = 0,01$). Процент снижения балла *NIHSS* на 7 и 21 сутки отрицательно коррелировал с наличием некоторых вирусов и их объединений, таких как герпесвирусы или их ассоциации HSV1, HSV1,2; HSV1,2-HHV6.

Выводы. Чаще всего у больных с ишемическим инсультом и клинической манифестацией персистирующей вирусной инфекции в анамнезе (на протяжении 1-90 суток до развития симптомов) определялись ДНК вирусов HSV1, HSV2, HHV4, HHV5, HHV6. Наличие стеноза магистральных сосудов в экстракраниальном отделе, количество стенозов и наличие гемодинамически значимых стенозов коррелировало с наличием вирусной персистенции HHV6 и/или ассоциации HHV6 и гриппа. Наличие HSV1, HSV2, HHV6 вирусов и/или их ассоциаций ухудшает восстановление неврологических функций в динамике острого послепериодического периода.

Ключевые слова: ишемический инсульт, HSV1, HSV2, HHV6, восстановление неврологических функций.

CLINICAL-NEUROLOGICAL AND ULTRASOUND CORRELATIONS IN THE ACUTE PERIOD OF A STROKE IN PATIENTS WITH VARIOUS TYPES OF MANIFESTED VIRAL INFECTION IN HISTORY

Turchyna N.S., Cherenko T.M.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Relevance. Although the fact of association of infections and atherosclerosis has been proved today, but in the pathogenesis remains much unclear. Insufficient attention is being paid to the role and specific weight of certain types of viral infection in the implementation and acceleration of the atherosclerotic process. Practically nothing is known about the effects of human herpesvirus 6, 7 and 8 types. Uncertain time interval between signs of clinical manifestation of viral infection and the development of ischemic stroke. The issue of restoring neurological functions after a stroke, depending on the type of viral persistence, has not been studied.

The aim: to study the structure of viral and widespread nonviral infection in patients with ischemic stroke, as well as the relationship between neurological recovery and severity of cerebral atherosclerosis, depending on the type of infectious agent.

Materials and methods. 89 patients participated in a study. All of them had an acute cerebrovascular accident on the type of ischemia with anamnestic clinical manifestations of viral infection within 3 months before the vascular catastrophe. Among the patients, 39 (44,9%) were men and 50 (55,1%) were women, aged $62,08 \pm 1,29$ years old (from 36 to 92 years old). The ischemic stroke was determined in 61 (68,5%) patients, it was diagnosed as transient ischemic attacks in 28 (31,5 %) of them. The diagnosis was

verified using magnetic resonance imaging, and the severity of the neurological status was assessed on the National Institute of Health Stroke Scale (*NIHSS*) on the first, 7th and 21st day. Blood serum of patients was investigated for the presence of DNA of herpes viruses, influenza, adenoviruses, enteroviruses, acute respiratory infections viruses, and also common non-viral infections: mycoplasma, ureaplasma, toxoplasma, chlamydia. Polymerase chain reaction was used to extract viral DNA from blood serum, also the method of detecting viral antigens in cell culture using ELISA. The degree of cerebral atherosclerosis was determined according to the data from duplex scans of brachiocephalic arteries. The statistical processing of the obtained results was performed using the statistical analysis packages of IBM SPSS Statistics 22.

Results. The average period from the clinical manifestation of the infection to the development of stroke in patients with viral persistence was $11,8 \pm 2,5$ days (from 1 day to 90 days). Up to 7 days 32 (36,0 %) – patients, from 7 days to 14 days inclusive – 44 (49,4%), more than 14 days – 13 (14,6%). Between the term of the viral manifestation and the severity of the acute cerebrovascular accident, there was a weak but authentic feedback ($r = 0,237$, $p = 0,025$). HSV1 (51) was detected most often in the acute period of stroke in 57% of patients, ($p < 0,05$). The persistence of HSV2 and HHV6 was 38,2% and 32,6% respectively. A combination of two different HSV2 and HHV6 viruses was observed in 84 (89,9%) patients. The combination of HSV1 / HSV2 is most commonly observed in 29 (32,6%) patients, $p < 0,05$. Correlation coefficients between the presence of certain types of viruses, the number of stenoses, and the number of hemodynamically labeled stenoses ranged from 0,19 with ARI to 0,33 in the case of a combination of HHV6. There was no detectable association between the severity of the neurological deficiency on the first day after the stroke and the type of viral infection or its combination except for adV ($r = 0,27$, $p = 0,01$). The reduction in the *NIHSS* score in the 7th and 21st day negatively correlated with the presence of some viruses and their combinations, in particular herpesviruses or their associations HSV1, HSV1,2; HSV1,2-HHV6.

Conclusion. The DNA of the HSV1, HSV2, HHV6, HHV4, HHV5 was most often in patients with ischemic stroke and a clinical manifestation of persistent viral infection in history (within 1-90 days before the development of symptoms). The presence of major vessels stenosis in the extracranial unit, the number of stenoses, and the presence of hemodynamically significant stenoses correlated with the presence of viral persistence of HHV6 and / or the association of HHV6 and influenza. The presence of HSV1, HSV2, HHV6 viruses and / or their associations worsens the restoration of neurological functions in the dynamics of the acute post-ischemic period.

Key words: ischemic stroke, HSV1, HSV2, HHV6, restoration of neurological functions.

ПЕРСИСТУЮЧА ЕНТЕРОВІРУСНА ІНФЕКЦІЯ У ХВОРИХ НА ГОСТРЕ ПОРУШЕННЯ МОЗКОВОГО КРОВООБІГУ

*Андріюшкова Н.Г., Турчина Н.С., Понятовський В.А., Долінчук Л.В.,
Мельник В.В., Ширококов В.П., Чекалюк Є.М.*

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна
andriushkovan@yandex.ua*

Рецензенти: проф. Кондратюк В.Є., д.мед.н. Бисюк Ю.А.

Актуальність. Ентеровіруси є етіопатогенетичними чинниками інфаркту міокарду, міокардиту, перикардиту, атеросклерозу та інших захворювань.

Мета: визначення тригерної ролі ентеровірусів у розвитку гострого порушення мозкового кровообігу.

Матеріали та методи. У 72 хворих на гостре порушення мозкового кровообігу (основна група) та 35 хворих з неврологічною патологією без судинної патології (група порівняння) визначались ентеровіруси та їх геноми у сироватці крові за допомогою вірусологічного і молекулярно-генетичного методів та IgM і IgG до ентеровірусів у сироватці крові за допомогою імуноферментного аналізу.

Результати. У хворих на гостре порушення мозкового кровообігу в сироватці крові геноми ентеровірусів визначались достовірно частіше ($23,6 \pm 5,9\%$), ніж у пацієнтів групи порівняння ($2,9 \pm 2,8\%$), $p < 0,05$. З 17 позитивних (за результатами полімеразної ланцюгової реакції) сироваток крові основної групи у 11 випадках виділено віруси, ідентифіковані як віруси Коксаки В (серотипи 2, 3, 4) та віруси ЕСНО (серотипи 6, 9, 27 (два штами), 29), у трьох пробах вірус не вдалося ідентифікувати. У сироватці крові хворих обох груп IgM до ентеровірусів не виявлено. У основній групі IgG до ентеровірусів виявлені у 17 хворих ($23,6 \pm 5,9\%$), з яких у 8 осіб також в сироватці крові було виявлено геном ентеровірусів. У сироватці крові пацієнтів групи порівняння IgG було виявлено лише у 2 осіб ($5,7 \pm 3,9\%$). Виявлення у сироватці крові хворих основної групи геномів ентеровірусів та IgG до них ($11,1 \pm 3,7\%$) за відсутності IgM свідчить про персистуючий характер ентеровірусної інфекції. Частка хворих з виявленими IgG до ентеровірусів у сироватці крові, у яких ентеровіруси та їх геноми не виділялись, достовірно вища в основній групі ($12,5 \pm 3,9\%$), ніж у групі порівняння ($5,7 \pm 3,9\%$).

Висновки. Персистуюча ентеровірусна інфекція відіграє можливу тригерну роль у розвитку гострого порушення мозкового кровообігу, для діагностики якого у таких хворих доцільно застосовувати полімеразну ланцюгову реакцію для виявлення геномів ентеровірусів та імуноферментний аналіз для виявлення IgG до ентеровірусів.

Ключові слова: хворі на гостре порушення мозкового кровообігу, ентеровіруси, геном ентеровірусів, імуноглобуліни G та M.

Актуальність. Перше місце серед причин смертності населення в Україні припадає на серцево-судинні захворювання, питома вага яких в Україні у 2013 р. склала 66,5 %. У 2010–2012 рр. поширеність хвороб системи кровообігу зросла на 1,9 %, серед яких відмічався найбільший ріст поширеності ішемічної хвороби серця на 2,7 %, гіпертонічної хвороби на 1,9 % і інсультів на 5,5 % [9, 15]. Поширеність захворювань системи кровообігу у 2014 р. становила 30,99 % всього населення України [15]. За прогнозами ВООЗ на 2020 рік, ішемічна хвороба серця та цереброваскулярні хвороби увійдуть до десяти основних причин тягаря хвороб у країнах з ринковою економікою та колишніх соціалістичних країнах, складаючи, відповідно, 11,2 % та 6,2 % від загального тягаря хвороб [15]. Тому дослідження щодо етіології, патогенезу, діагностики та профілактики цих хвороб є вкрай актуальними.

В наш час з'ясовано безперечну етіопатогенетичну роль ентеровірусів при виникненні ряду соматичної патології. Низка досліджень ряду авторів доводять патогенетичну роль ентеровірусів при інфаркті

міокарду, міокардиті, перикардиті, дилатаційній кардіоміопатії, атеросклерозі, гострому коронарному синдромі [1, 2, 3, 5, 6, 7, 8, 10, 12]. Ріст захворюваності на ентеровірусну інфекцію, а також численні вірусологічні дослідження вчених доводять інтенсивну циркуляцію ентеровірусів в різноманітних об'єктах навколишнього середовища [4, 16, 17, 18]. При цьому не з'ясовано особливості циркуляції різноманітних серотипів ентеровірусів, механізмів змін домінуючих в циркуляції серотипів ентеровірусів та причин виникнення епідемічних спалахів [7, 19].

Метою роботи стало визначення ролі ентеровірусів у розвитку гострого порушення мозкового кровообігу (ГПМК). Для досягнення даної мети було поставлено наступні задачі: визначення наявності ентеровірусів та їх геномів у сироватці крові хворих на ГПМК за допомогою вірусологічного та молекулярно-генетичного методів дослідження; визначення імуноглобулінів класів M та G до ентеровірусів у сироватці крові хворих на ГПМК за допомогою імуноферментного аналізу (ІФА).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

До дослідження було залучено хворих, які перебували на стаціонарному лікуванні у неврологічному відділенні та відділенні церебро-васкулярної патології Олександрівської клінічної лікарні м. Києва в 2009–2016 роках. До основної групи увійшли 72 хворих з різними формами ГПМК, що відповідали критеріям включення, а саме: вік старше 18 років, верифікований діагноз ГПМК, відсутність критеріїв виключення. Критеріями виключення були: тривалість перебування у стаціонарі менше двох тижнів або неможливість взяття сироватки крові з інтервалом у два тижні. Групу порівняння у кількості 35 осіб склали хворі, які проходили стаціонарне лікування з приводу неврологічних хвороб, не пов'язаних з судинною патологією.

Вік хворих основної групи коливався від 31 року до 86 років, і в середньому склав $62,6 \pm 12,0$ роки. До вибірки увійшли 41 жінка (56,9 %) і 31 чоловік (43,1 %). Група порівняння включала 35 осіб віком від 18 до 88 років, середній вік становив $56,4 \pm 19,3$ роки. До вибірки увійшли 22 жінки (62,9 %) і 13 чоловіків (37,1 %).

Молекулярно-генетичні, вірусологічні та серологічні дослідження проводили на базі кафедри мікробіології, вірусології та імунології НМУ імені О.О. Богомольця. Досліджування проводилось відповідно до вимог *Good Clinical Practice (GCP)*, належна клінічна практика). Усі хворі були проінформовані про умови проведення вірусологічних, генетичних та імунологічних досліджень та після отримання відповідної згоди пацієнта на участь у дослідженні (діагностиці) підписували інформовану згоду, один примірник якої залишався у хворого. Дослідження було схвалено Комісією з біоетики Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Матеріалом для дослідження у хворих обох груп була венозна кров з ліктьової вени, взята натщесерце у перші години після госпіталізації та через 10–14 днів, для отримання сироватки.

З метою встановлення можливої наявності геному ентеровірусів в сироватці хворих було застосовано полімеразну ланцюгову реакцію (ПЛР) у варіанті зворотної транскрипції (ЗТ-ПЛР). Для цього було використано комерційну тест-систему “АмплиСенс” (ФГУН “ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора”, Росія). Виділення ентеровірусної РНК з сироватки крові проводилось шляхом афінної сорбції на частинках силікагелю за допомогою набору реагентів “РИБО-сорб” (“Ампли-Сенс”, Росія). Ампліфікація вірусної кДНК була проведена на багатоканальному ампліфікаторі “*Parkin Elmer 2400*” (США) з застосуванням реактивів тест-системи “АмплиСенс *Enterovirus-207*”. Виявлення продуктів ампліфікації проводилось методом горизонтального електрофорезу

у 1,5 % агарозному гелі з етидієм бромідом. Здійснення обліку результатів було візуальним, за допомогою УФ-транслюмінатора (з довжиною хвилі 254 нм) з використанням червоного світлофільтру.

Виділення вірусів з сироватки крові, взятої у перші години після госпіталізації, та їх ідентифікацію проводили водночас на трьох культурах клітин: *RD* (клітини рабдоміосаркоми людини), як найбільш чутливих до вірусів *ECHO*; *HEp-2 (Cincinnati)*, похідні епідермальної карциноми людини), в яких добре розмножуються поліовіруси та віруси Коксаки В, та *HeLa* (клітини карциноми шийки матки) за загальноприйнятими методами, що рекомендовані ВООЗ [20, 21].

Культури клітин вирощували в полістеролових флакончиках з використанням середовищ 199 та *RPMI-1640*, яке містило 10 % ембріональної телячої сироватки (*Sigma*, Німеччина). Наявність ентеровірусів визначалась за 100 % цитопатичною дією на культурах клітин. Оскільки в клінічному матеріалі віруси виявлялись у низькому титрі, з метою накопичення вірусу робили “сліпі” пасажі вірусу на культурах клітин до 100 % цитопатичної дії.

Ідентифікація ентеровірусів проводилась мікротомом з використанням стерильних 96-лункових планшетів за допомогою реакції віруснейтралізації за загальноприйнятою методикою з полівалентними та моновалентними ентеровірусними сироватками виробництва Інституту поліомієліту і вірусних енцефалітів імені М. П. Чумакова РАМН (Росія). На кожне десятикратне розведення вірусомісного матеріалу було взято по чотири лунки [13, 14].

Серологічний метод діагностики проводили методом імуноферментного аналізу (ІФА) з використанням тест-системи *Enterovirus ELISA (IgG Teskit / IgA Teskit / IgM Teskit)* для визначення імуноглобулінів класу G та M (виробник *Sekisui Virotech GmbH*, Німеччина), за допомогою якого визначали наявність антитіл (імуноглобулінів класу M та класу G) у парних сироватках крові хворих дослідної та контрольної груп. Облік результатів здійснено на імуноферментному аналізаторі *HumaReader (Human GmbH, Німеччина)*. Отримані результати інтерпретувались за запропонованою шкалою виробника: як негативні при значенні менше 9,0 VE (*Virotech Units*), сумнівні – при значенні 9,0-11,0 VE, позитивні – більше 11,0 VE.

Достовірність отриманих результатів оцінювали з використанням програми *Statistica 6.0*.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Ентеровірусний генотип було виявлено у сироватці крові 17 хворих з 72 осіб основної групи ($23,6 \pm 5,1$ %), і лише у сироватці крові 1 хворого з 35 осіб групи порівняння ($2,9 \pm 2,8$ %).

З 17 ПЛР-позитивних проб крові хворих з основної групи на трьох лініях культур клітин (*RD*, *HEp-2* та *HeLa*) вірусні агенти було виділено у 11 випадках. Виділені штами вірусів були ідентифіковані як віруси Коксаки В (серотипи 2, 3, 4) та віруси *ECHO* (серотипи 6, 9, 27 (два штами), 29), у трьох пробах виділений штам вірусу не вдалося ідентифікувати. З 6 ПЛР-позитивних проб хворих основної групи віруси виділити не вдалося. З однієї ПЛР-позитивної сироватки крові хворого контрольної групи також не було виділено вірус (табл. 1).

У результаті проведеного дослідження парних сироваток крові хворих на наявність IgM та IgG до ентеровірусів за допомогою ІФА було виявлено наступне. У жодній сироватці хворих з основної групи та групи порівняння не було виявлено IgM до ентеровірусів. У основній групі IgG до ентеровірусів були виявлені у обох сироватках крові у 17 хворих (23,6±5,1 %). При цьому серед 17 осіб, у яких було в сироватці крові виявлено геном ентеровірусів, IgG до ентеровірусів мали 8 осіб, з яких у 5 осіб було виділено ентеровіруси (табл. 2).

Таблиця 1
Результати молекулярно-генетичного та вірусологічного досліджень, проведених з метою виявлення персистуючої ентеровірусної інфекції у хворих на гостре порушення мозкового кровообігу (основна група)

Результати вірусологічного дослідження	Результати молекулярно-генетичного дослідження				Разом хворих основної групи	
	ПЛР +		ПЛР -		абс.	%
	абс.	%(M±m)	абс.	%(M±m)		
Виділено ентеровіруси	11	15,3±4,2	0	0	11	15,3±4,2
Не виділено ентеровірусів	6	8,3±3,3	55	76,4±5,1	61	84,7±4,2
Всього	17	23,6±5,1	55	76,4±5,1	72	100

Таблиця 2
Результати молекулярно-генетичного та серологічного досліджень, проведених з метою виявлення персистуючої ентеровірусної інфекції у хворих на гостре порушення мозкового кровообігу (основна група)

Результати серологічного дослідження	Результати молекулярно-генетичного дослідження				Разом хворих основної групи	
	Виявлено РНК EB (ПЛР +)		Не виявлено РНК EB (ПЛР -)		абс.	%
	абс.	%(M±m)	абс.	%(M±m)		
Виявлено Ig G (серо+)	8	11,1±3,7	9	12,5±3,9	17	23,6±5,9
Не виявлено Ig G (серо-)	9	12,5±3,9	46	63,9±5,7	55	76,4±5,9
Всього	17	23,6±5,9	55	76,4±5,9	72	100

У сироватці крові пацієнтів групи порівняння IgG було виявлено лише у 2 осіб (5,7±3,9 %), що були ПЛР-негативними (табл. 3).

Таблиця 3
Результати молекулярно-генетичного та серологічного дослідження, проведених з метою виявлення персистуючої ентеровірусної інфекції у хворих з неврологічною патологією без судинної патології (група порівняння)

Результати серологічного дослідження	Результати молекулярно-генетичного дослідження				Разом пацієнтів групи порівняння	
	Виявлено РНК EB (ПЛР +)		Не виявлено РНК EB (ПЛР -)		абс.	%
	абс.	%(M±m)	абс.	%(M±m)		
Виявлено Ig G (серо+)	0	0	2	5,7±3,9	2	5,7±3,9
Не виявлено Ig G (серо-)	1	2,9±2,8	32	91,4±4,7	33	94,3±4,7
Всього	1	2,9±2,8	34	97,1±2,8	35	100

Інтерпретуючи отримані результати, варто зауважити, що виявлення ентеровірусів у дослідній групі хворих є достовірно вищим, ніж у контрольній ($p < 0,05$). Виявлення у сироватці крові цієї групи хворих водночас геномів ентеровірусів та IgG до них, за відсутності IgM, свідчить про можливий персистуючий характер ентеровірусної інфекції [22]. Водночас, достовірно вищий рівень IgG до ентеровірусів у сироватці крові хворих, у яких ентеровіруси та їх геноми не виділялись, був у дослідній групі, ніж у контрольній ($p < 0,05$).

Отже, отримані нами дані свідчать про персистенцію ентеровірусів та їх можливу тригерну роль у розвитку такої патології як ГПМК [11].

ВИСНОВКИ

У 23,6±5,9 % хворих на ГПМК з сироватки крові виділено геноми ентеровірусів, що є достовірно вище, ніж в групі порівняння: 2,9±2,8 % ($p < 0,05$).

З 17 ПЛР-позитивних сироваток крові хворих на ГПМК у 11 випадках виділено ентеровіруси, які були ідентифіковані як віруси Коксаки В (серотипи 2, 3, 4) та віруси *ECHO* (серотипи 6, 9, 27 (два штами), 29), у трьох пробах виділений штам вірусу не вдалося ідентифікувати.

Виявлення у сироватці крові у 11,1±3,7 % хворих основної групи водночас геномів ентеровірусів та IgG до них за відсутності IgM свідчить про персистуючий характер ентеровірусної інфекції. Водночас, вищий рівень IgG до ентеровірусів у сироватці крові хворих, у яких ентеровіруси та їх геноми не виділялись, було достовірно вище у основній групі (12,5±3,9 %), ніж у групі порівняння (5,7±3,9 %). Отримані дані свідчать про можливу тригерну роль

персистентної ентеровірусної інфекції у розвитку ГПМК.

Для діагностики персистентної ентеровірусної інфекції у хворих на ГПМК доцільно застосовувати поєднання ПЛР для виявлення геномів ентеровірусів та виявлення IgG до ентеровірусів.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організацій.

ЛІТЕРАТУРА

- Амосова Е.Н. Дилатационная кардиомиопатия (клиника, особенности, дифференциальная диагностика с ревматическими пороками сердца, лечение): Автор. дис... д-ра мед. наук: (14.00.06) / Киев НИИ кардиологии им. Н.Д. Стражеско. – Киев. – 1996. – 44 с.
- Андрюшкова Н.Г. Значення ентеровірусів у серцево-судинній патології / Н.Г. Андрюшкова // Медична наука України. Київ. – 2015. – Т.11, № 1-2. – С. 105-109.
- Анохин В.А. Энтеровирусные инфекции: современные особенности / В.А. Анохин, А.М. Сабитов, И.Э. Кравченко, Т.М. Мартынова // Практическая медицина. Педиатрия. – 2014. – № 09 (85). – С. 58-67.
- Бичурина М.А. Сезонный подъем заболеваемости энтеровирусным менингитом в Новгородской области / М.А. Бичурина, В.А. Пьяных, Н.А. Новикова [и др.] // Инфекция и иммунитет. – 2012. – Т.2, № 4. – С.747-752.
- Бондаренко В.І. Сучасні погляди на роль ентеровірусів у патології серцево-судинної системи / В. І. Бондаренко, В. І. Задорожна, Н. Л. Зубкова [та ін.] // Профілактична медицина. – 2008. – № 3. – С. 57-62.
- Гиріна О.М. Імунопатогенетичні та ендокринні зміни при різних формах ішемічної хвороби серця в умовах вірусної інфекції та їх терапевтична корекція // Автореф. дис... д-ра мед. наук: (14.01.11) / Нац. мед. ун-т ім. О.О. Богомольця. – К., 1996. – 45 с.
- Задорожна В.І. Сучасний погляд на ентеровіруси та фактори їх передачі (огляд літератури та власних досліджень) / В.І. Задорожна // Environment & Health. – 2012. – № 4. – С.49-54.
- Ентеровіруси та серце / В.П. Ширококов, К.М. Амосова, О.М. Гиріна [та ін.] // В зб.: “Актуальні питання медичної мікробіології та вірусології” (До 100-річчя народження С.С. Дяченка), Київ, 1998. – С. 82-91.
- Корнацкий В.М. Проблема болезней системы кровообращения и пути ее минимизации в Украине / В.М. Корнацкий // Кардиология: от науки к практике. – 2013. – № 5. – С. 22-24.
- Кротенко О.В. Зміни ліпідного метаболізму у хворих на нестабільну стенокардію на фоні Коксаки В вірусної інфекції та їх терапевтична кореляція / Кротенко О.В. Дис... канд. мед. наук. – 2001. – 224 с.
- Можливість персистенції ентеровірусної інфекції в шахтарів, хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / Л.В. Долінчук, В.П. Ширококов, А.В. Басанець, В.А. Понятовський // Укр. журн. з проблем медицини праці. – 2014. – № 1 (38). – С. 11-17.
- Плоткин В.Я. Энтеровирусы и острый коронарный синдром / В.Я. Плоткин, В.Л. Воронель, М.А. Тимошина [и др.] // Вестник Санкт-Петербургского университета. – 2009. – № 3. – С. 38-44.
- Про затвердження методичних вказівок “Вірусологічний моніторинг у системі епідеміологічного нагляду за ентеровірусними інфекціями та шляхи його удосконалення”: наказ МОЗ України від 18 лютого 2008 р. № 86.
- Руководство по вирусологическим исследованиям полимиелита. ВООЗ, Женева. 4-е издание. – М., 2005. – 112 с.
- Щорічна доповідь про стан здоров'я населення, санітарно-епідемічну ситуацію та результати діяльності системи охорони здоров'я України. 2014 рік / За ред. Квіташвілі О.; МОЗ України, ДУ “УІСД МОЗ України”. – К., 2015. – 460 с.
- Caserta T. Overview of Enterovirus Infections. Last full review / T. Caserta. – Mode access: www.merckmanuals.com/professional/infectious-diseases/enteroviruses/overview-of-enterovirus-infections
- Detection and identification of coxsackievirus B3 from sera of an Indonesian patient with undifferentiated febrile illness / A. Wiyatno, U. Antonjaya, C.N. Ma'roef [et al.] // J. Infect. Dev. Ctries. – 2016. – № 10 (8). – P. 880-883.
- Laboratory surveillance of polio and other enteroviruses in high-risk populations and environmental samples / V. Pogka, S. Labropoulou, M. Emmanouil [et al.] // Appl. Environ. Microbiol. – 2017. – Vol. 83, No. 5. – e02872-16. – Mode access: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=18.%09Laboratory+
- Sporadic isolation of sabin-like polioviruses and high-level detection of non-polio enteroviruses during sewage surveillance in seven Italian cities, after several years of inactivated poliovirus vaccination / A. Battistone, G. Buttinelli, S. Fiore [et al.] // Appl Environ Microbiol. – 2014. – Vol. 80, No. 15. – P. 4491-4501.

Отримано: 15.03.2017

ПЕРСИСТИРУЮЩАЯ ЭНТЕРОВИРУСНАЯ ИНФЕКЦИЯ У БОЛЬНЫХ С ОСТРЫМ НАРУШЕНИЕМ МОЗГОВОГО КРОВООБРАЩЕНИЯ

Андрюшкова Н.Г., Турчина Н.С., Понятовський В.А., Долінчук Л.В., Мельник В.В., Ширококов В.П., Чекалюк Є.М.

Національний медичинський університет імені А.А. Богомольця, Київ, Україна

Актуальность. Энтеровирусы являются этиопатогенетическими факторами инфаркта миокарда, миокардита, перикардита, атеросклероза и других заболеваний.

Цель: определение триггерной роли энтеровирусов в развитии острого нарушения мозгового кровообращения.

Материалы и методы. У 72 больных с острым нарушением мозгового кровообращения (основная группа) и 35 больных с неврологической патологией без сосудистой патологии (группа сравнения) определялись энтеровирусы и их геномы в сыворотке крови при помощи вирусологического метода и полимеразной цепной реакции, IgM и IgG к энтеровирусам в сыворотке крови с помощью иммуноферментного анализа.

Результаты. У больных с острым нарушением мозгового кровообращения в сыворотке крови геномы энтеровирусов обнаруживались достоверно чаще ($23,6 \pm 5,9\%$), чем у пациентов группы сравнения ($2,9 \pm 2,8\%$), $p < 0,05$. Из 17 положительных (по результатам полимеразной цепной реакции) сывороток крови основной группы выделены вирусы в 11 пробах, идентифицированные как вирусы Коксаки В (серотипы 2, 3, 4) и вирусы ECHO (серотипы 6, 9, 27 (два штамма), 29), в трех пробах вирус не удалось идентифицировать. В сыворотке крови больных обеих групп IgM к энтеровирусам не обнаружено. В основной группе IgG к энтеровирусам обнаружены у 17 больных ($23,6 \pm 5,9\%$), из которых у 8 человек также в сыворотке крови было обнаружено геном энтеровирусов. В группе сравнения IgG в сыворотке крови были обнаружены только у 2 пациентов ($5,7 \pm 3,9\%$). Выявление в сыворотке крови больных основной группы геномов энтеровирусов и IgG к ним ($11,1 \pm 3,7\%$) при отсутствии IgM свидетельствует о персистирующем характере энтеровирусной инфекции. Доля больных с выявленными IgG к энтеровирусам в сыворотке крови, в которых энтеровирусы и их геномы не выделялись, достоверно выше в основной группе ($12,5 \pm 3,9\%$), чем в группе сравнения ($5,7 \pm 3,9\%$).

Выводы. Персистирующая энтеровирусная инфекция играет возможную триггерную роль в развитии острого нарушения мозгового кровообращения, для диагностики которой у таких больных целесообразно применять полимеразную цепную реакцию для выявления геномов энтеровирусов и ИФА для выявления IgG к энтеровирусам.

Ключевые слова: больные с острым нарушением мозгового кровообращения, энтеровирусы, геном энтеровирусов, иммуноглобулины G и M.

PERSISTENT ENTEROVIRUS INFECTION IN PATIENTS WITH ACUTE STROKE

Andriushkova N.G., Turchina N.S., Poniatovskiy V.A., Dolinchuk L.V., Melnyk V.V., Shyrobokov V.P., Chekaliuk E.M.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Relevance. Enteroviruses (EVs) are the etiopathogenetic factors of myocardial infarction, myocarditis, pericarditis, atherosclerosis and other diseases.

The aim. To determine the possible role of EVs as a trigger in the development of acute stroke (AS).

Materials and methods. The serums of 72 patients with stroke (study group) and 35 patients with neurological disorders without vascular disease (control group) were studied to detect EVs and enteroviral genomes by using virological and molecular-genetic methods. IgM and IgG to EVs in the serum were detected by the ELISA.

Results. The EV genomes were detected authentically more often ($p < 0,05$) in the serum of patients with stroke ($23,6 \pm 5,9\%$) than in control group ($2,9 \pm 2,8\%$). The viruses were isolated in 11 cases from 17 PCR-positive sera basic group. These viruses were identified as Coxsackie B (serotypes 2, 3, 4) and ECHO (serotypes 6, 9, 27 (two strains), 29), while three samples of the viruses have not been identified. IgM to EW were not found in the sera of both groups of patients. IgG to the EVs were detected in 17 patients of the study group ($23,6 \pm 5,9\%$), eight patients of them had EVs genome in the serum. IgG were found in the serum of 2 patients in the control group ($5,7 \pm 3,9\%$). The presence of EVs genomes and IgG and absence of IgM in sera of patients of control group in $11,1 \pm 3,7\%$ cases indicates the persistence of EVs. The proportion of patients with IgG to EVs in sera, which indicated that the EVs and their genomes have not been detected, is significantly higher in the study group ($12,5 \pm 3,9\%$) than in the control group ($5,7 \pm 3,9\%$).

Conclusions. The persistent enterovirus infection can play a possible triggering role in the development of stroke. The polymerase chain reaction to identify genomes EV and ELISA to detect IgG antibodies to the ER is expedient to use to diagnose of enterovirus infection in patients with stroke.

Keywords: patients with acute stroke, enteroviruses, enterovirus genome, immunoglobulins G and M.

РОЛЬ ПРО- ТА АНТИАТЕРОГЕННИХ ІМУННИХ ФАКТОРІВ В ПЕРЕБІГУ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ

Бичкова Н.Г., Кондратюк В.Є., Бичков О.А., Тарасюк А.П., Таран Г.А., Сидорук Т.М.

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна
oleg_bichkov@yahoo.com*

Рецензенти: проф. Братусь В.В., проф. Курченко А.І.

Актуальність. В Україні 23 % населення хворіють на артеріальну гіпертензію. Тому розробка нових підходів до розуміння її патогенезу залишаються предметом дослідження.

Мета: вивчити роль про- та антиатерогенних імунних факторів в перебігу артеріальної гіпертензії.

Матеріали та методи. Обстежено 86 хворих на артеріальну гіпертензію II стадії; до контрольної групи ввійшло 33 здорових особи, рандомізованих за віком та статтю. 86 хворих розподілили на основну групу (n=48) та групу порівняння (n=38). Пацієнти основної групи, поряд з призначеною медикаментозною терапією, протягом 6 місяців змінили спосіб життя: дієта, лікувальна фізкультура, ходьба по 20-30 хвилин на день, відмова від алкоголю та нікотину.

Методи дослідження: клінічні, антропометричні, біохімічні (ліпідний профіль крові), імунологічні (субпопуляції лімфоцитів), імуоферментні (цитокіни), анкетування за опитувальниками, статистичні.

Результати. У хворих на артеріальну гіпертензію збільшені рівні загального холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів низької та дуже низької щільності при зниженні ліпопротеїдів високої щільності. Спостерігається гіперпродукція проатерогенних цитокінів ІЛ-6, ІЛ-8 та зниження кількості антиатерогенного ІЛ-10, підвищення вмісту sICAM та експресії активаційних молекул CD95+ та CD54+. Дані зміни мають високий кореляційний зв'язок із порушеннями ліпідного профілю крові та призводять до зростання апоптозу клітин та розвитку дисфункції ендотелію.

Висновки. Дотримання рекомендацій з модифікації способу життя разом із застосуванням медикаментозних препаратів сприяє вірогідному покращенню показників якості життя, ліпідного обміну, імунного та цитокінового статусу у хворих на АГ, достовірному зниженню показників артеріального тиску до цільових значень та індексу маси тіла.

Ключові слова: артеріальна гіпертензія, модифікація способу життя, цитокіни, ліпідний профіль, якість життя.

Актуальність. Артеріальна гіпертензія (АГ) є основним фактором ризику розвитку серцево-судинних захворювань, таких як ішемічна хвороба серця (ІХС), інфаркт міокарда, хронічна серцева недостатність, а також церебро-васкулярних захворювань (ішемічний або геморагічний інсульт, транзиторна ішемічна атака) та хронічної хвороби нирок, суттєво погіршуючи якість життя пацієнтів [2, 10, 12]. У поєднанні з такими поширеними факторами ризику, як дисліпідемія, надлишкова маса тіла, паління, гіподинамія, АГ є причиною не менше 70-75 % всіх інсультів і 80-90 % випадків ІХС. Проте наявність самої АГ спричиняє ускладнення перебігу даного захворювання, а також сприяє виникненню надлишкової маси тіла та ожиріння, порушенню ліпідного та вуглеводного обмінів, які є складовими метаболічного синдрому (МС) [5].

Всі компоненти метаболічного синдрому – це великі фактори ризику розвитку серцево-судинних захворювань та ускладнень [1, 5]. Наявне нерозривне хибне коло порушень, які діють один на одного як пусковий механізм. В результаті поєднання патологічних процесів відбувається пошкодження ендотелію, який втрачає протизапальні, антиоксидантні, антитромбогенні властивості, внаслідок чого порушується перфузія крові та розвивається гіпоксія тканин.

Однією з причин тяжкого перебігу АГ у поєднанні з захворюваннями, які асоційовані з атеросклерозом, є порушення стану імунної системи [3, 4]. Порушення в імунній системі при всіх захворюваннях, які проявляються явищами атеросклеротичного запалення, характеризуються значними змінами функціонального стану імунокомпетентних клітин, зокрема, дисба-лансом імунних факторів захисту та агресії, в тому числі, про- та протизапальних цитокінів, які сприяють розвитку атеросклерозу судин, погіршенню перебігу захворювання та розвитку вторинної імунної недостатності [4].

Дисліпідемія, яка являє собою порушення функції та складу ліпідів та ліпопротеїдів крові, може бути наслідком багатьох причин та здатна самостійно або у взаємодії з іншими факторами ризику спричинити маніфестацію атеросклеротичного процесу [5]. Найбільше значення серед порушень ліпідного фону має так звана атерогенна ліпідна тріада, що характеризується зростанням ліпопротеїдів дуже низької щільності (ЛПДНЩ) та пов'язаним з цим підвищенням рівня тригліцеридів (ТГ) і рівня холестерину ліпопротеїдів низької щільності (ХС ЛПНЩ) та зменшенням рівня холестерину ліпопротеїдів високої щільності (ХС ЛПВЩ).

Мета: вивчення ролі про- та антиатерогенних імунних факторів в перебігу артеріальної гіпертензії.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для вирішення поставленої мети було обстежено 86 хворих на АГ II стадії, віком від 44 до 68 років (середній вік – 55,4±0,87 років). До контрольної групи ввійшло 33 здорових особи, рандомізованих за віком та статтю.

Діагноз АГ та її стадія встановлювався згідно до Наказу № 436 від 03.07.2006 року та Наказу № 384 від 24.05.2012 року [6]. Ступінь підвищення артеріального тиску (АТ), рівень ризику розвитку серцево-судинних ускладнень встановлювався згідно рекомендацій Асоціації кардіологів України 2008 та 2010 року [8]. Лікування хворих на АГ проводилось згідно Настанови та клінічного протоколу надання допомоги хворим з артеріальною гіпертензією та включало призначення інгібітора ангіотензинперетворюючого ферменту (еналапріл) у добовій дозі 10–20 мг в поєднанні з антагоністом кальцію (амлодипіном) в добовій дозі 10 мг. Після дослідження ліпідного профілю крові додатково до антигіпертензивної терапії пацієнтам призначалися статини (симвастатин) по 20 мг 1 раз на добу [6].

Дослідження ліпідного профілю включало визначення вмісту загального холестерину (ХС), ТГ, ХС ЛПВЩ, ХС ЛПНЩ, ХС ЛПДНЩ, коефіцієнту атерогенності (КА). Для визначення показників використовували набори рідких реагентів “Холестерин Liquid C”, “HDL-холестерин осаджуючий розчин”, “Тригліцериди Liquid C” (Пліва-Лаксма, Чехія). Кількісну оцінку проводили фотометричним методом на колориметрі КФК-3 за інструкцією виробника.

Імунологічне обстеження включало в себе визначення та кількісну оцінку активованих субпопуляцій лімфоцитів, їх функціональної активності та цитокинового статусу [7]. Визначення фенотипу лімфоїдних клітин проводилося непрямим імунофлюоресцентним методом з використанням моноклональних антитіл виробництва ЗАТ “Сорбент-сервіс” (Москва, Росія). Рівень про- та антиатерогенних інтерлейкінів ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10 визначали за допомогою сертифікованих в Україні наборів реагентів для імуноферментного аналізу Pro Con ТОВ “Протеиновый контур” (Росія).

Після проведення первинного обстеження пацієнти з АГ II стадії були розподілені на основну групу – 48 хворих (55,8 %) та групу порівняння – 38 хворих

(44,2 %). Пацієнтам основної групи поряд з призначеною медикаментозною терапією було запропоновано ретельно дотримувалися рекомендацій з модифікації способу життя протягом 6 місяців. Дані рекомендації включали DASH-дієту (*Dietary Approaches to Stop Hypertension*), комплекси вправ з лікувальної фізкультури, щоденну ходьбу протягом 20–30 хвилин на день, зменшення або повну відмову від вживання алкоголю та нікотину. Після 6 місяців лікування було проведено повторне обстеження, а отримані результати були порівняні з контрольною групою та групою порівняння.

Статистичну обробку даних проводили з використанням пакету прикладних програм *Microsoft XP “Excel”*, а також за допомогою програмного пакету *Statistica 6.1*.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз показників ліпідного профілю, представлених в таблиці 1, показав, що у групі хворих на АГ II стадії спостерігаються порушення ліпідного профілю крові, які проявляються підвищенням на 43,14 % ($p<0,05$) вмістом загального холестерину (ЗХС) відносно даних у здорових осіб. Також було виявлено підвищення вмісту високопатогенних ХС ЛПДНЩ на 22,17 % ($p<0,05$), тригліцеридів (ТГ) – на 58,33 % ($p<0,05$) та ХС ЛПНЩ – на 67,92 % ($p<0,05$) при зниженні вмісту ХС ЛПВЩ на 24,27 % ($p<0,05$).

Внаслідок вищенаведених порушень основних фракцій ХС коефіцієнт атерогенності (КА) був вищим порівняно з контрольною групою на 52,23 % ($p<0,05$).

Отримані дані свідчать про єдині патогенетичні механізми формування атеросклерозу та АГ, вказують на роль атеросклеротичних процесів у механізмах підвищення АТ. Висока частота порушень ліпідного обміну у хворих на АГ II стадії може бути обумовлена більшою частотою обмінних порушень у даних хворих та виявляється у високому відсотку осіб із надлишковою масою тіла та ожирінням I-II ступеня.

Аналіз даних, отриманих при дослідженні показників імунного та цитокинового статусу, виявив зміни вмісту активованих субпопуляцій лімфоцитів у хворих на АГ II стадії (табл. 2).

Таблиця 1

Вміст загального холестерину та його фракцій у хворих на артеріальну гіпертензію II стадії

Показник, (M±m)	Хворі на АГ (n=86)	Контрольна група (n=33)
ЗХС, ммоль/л	6,95±0,23*	4,90±0,41
ТГ, ммоль/л	1,86±0,11*	1,18±0,12
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	4,76±0,22*	2,81±0,35
ХС ЛПВЩ, ммоль/л	1,12±0,07*	1,49±0,21
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,62±0,07*	0,51±0,07
КА	4,64±0,16*	3,14±0,24

Примітки: * – вірогідність різниці показника з контрольною групою ($p<0,05$); n – кількість хворих

Так, відносна кількість CD25+ лімфоцитів у периферичній крові достовірно перевищувала дані здорових осіб на 53,72 % (p<0,05). Поява клітин з раннім маркером активації у периферичній крові може свідчити про розвиток імунної відповіді внаслідок дії як прозапальних цитокінів (ІЛ-1), так і СРП, який є також біологічно активним маркером. Аналогічна тенденція спостерігалася і для HLA-DR+лімфоцитів, відносний вміст яких перевищував дані у здорових осіб на 82,75 %.

Порушення процесів активації Т-лімфоцитів, які експресують б-ланцюг рецептора ІЛ-2, та Т-лімфоцитів із маркерами пізньої активації супроводжувалося зростанням вмісту CD95+ лімфоцитів, відносна кількість яких у хворих на АГ II стадії перевищувала дані здорових осіб на 425,0 % (або в 5,25 разів) відносно даних здорових осіб.

Збільшення відсоткового вмісту активованих лімфоцитів з *FAS-R*, які готові вступити в апоптоз, може бути обумовлено підвищеним рівнем у сироватці крові прозапальних та проатерогенних цитокінів у даних хворих.

Серед активованих субпопуляцій лімфоцитів слід відзначити і зростання кількості клітин, які експресують молекулу адгезії *ICAM-1*, – CD54+ лімфоцитів, вміст яких у хворих на АГ II стадії перевищував норму на 142,28 %.

Враховуючи виявлені зміни ліпідного профілю у хворих на АГ, було проведено аналіз сироваткових маркерів запалення, який показав виражений дисбаланс цитокінового статусу за рахунок переважання прозапальних та проатерогенних інтерлейкінів. Так, сироватковий вміст ІЛ-6 в 6,33 рази (p<0,05) перевищував значення здорових осіб; ІЛ-8 – в 2,19 рази (p<0,05). Також у даних пацієнтів було виявлено компенсаторне зниження протизапального та антиатерогенного ІЛ-10 в 2,36 рази (p<0,05) у порівнянні з його рівнем у здорових осіб та встановлено вірогідно вищу концентрацію розчинної молекули адгезії *sICAM-1* – 399,4±12,7 нг/мл, рівень якої перевищував значення здорових осіб на 44,9 % (p<0,05).

Для встановлення взаємозалежності між виявленими порушеннями був проведений кореляційний аналіз між показниками ліпідного профілю та імун-

ного статусу. Так, встановлено високий позитивний кореляційний зв'язок між рівнем ЗХС та ІЛ-6 (r=0,78), ІЛ-8 (r=0,74), CD54+лімфоцитів (r=0,73) та *sICAM-1* (r=0,78); між вмістом ТГ та ІЛ-6 (r=0,76), ІЛ-8 (r=0,79), CD54+лімфоцитів (r=0,71) та *sICAM-1* (r=0,78); встановлено від'ємну кореляцію між вмістом ІЛ-10 та ЗХС (r=-0,81), ХС ЛПНЩ (r=-0,79), ТГ (r=-0,74).

Отримані дані показують високу роль про- та антиатерогенних цитокінів в розвитку дисліпідемії у хворих на АГ, таких як ІЛ-6 (один з найважливіших факторів, який викликає дисфункцію ендотелію та стимулює синтез білків гострої фази запалення), ІЛ-8 (стимулює неоангіогенез та здатен викликати дестабілізацію атеросклеротичної бляшки за рахунок металопротеїназної активності) та ІЛ-10 (знижує активність запалення у зрілій атеросклеротичній бляшці).

Як указувалося вище, пацієнти з АГ II стадії були розподілені на основну групу та групу порівняння. Пацієнти основної групи дещо змінили спосіб життя: дієта, лікувальна фізкультура, ходьба по 20–30 хвилин на день, відмова від алкоголю та нікотину.

При проведенні антропометричних досліджень було встановлено, що дотримання даних рекомендацій призвело до зниження індексу маси тіла (ІМТ) у хворих основної групи на 3,2±0,7 кг/м² (p<0,05) та зменшення об'єму талії на 3,4±0,6 см (p<0,05).

При контрольному обстеженні показників ліпідного профілю, проведеному через 6 місяців від початку лікування, встановлено позитивну динаміку основних показників ліпідограми (табл. 3).

Так, рівень ЗХС в основній групі хворих зменшився на 32,2 % (p<0,05); ТГ – на 27,4 % (p<0,05), що було вище норми на 14,4 %; ХС ЛПНЩ – на 43,1 % (p<0,05); КА – на 23,9 % (p<0,05), що перевищувало дані у здорових осіб на 12,4 %; при цьому спостерігалася достовірне зростання кількості ХС ЛПВЩ на 16,9 % (p<0,05), не сягаючи норми на 12,1 %.

При цьому рівні ЗХС, ТГ та ХС ЛПНЩ у пацієнтів основної групи були достовірно нижчими за аналогічні показники групи порівняння (p<0,05).

При аналізі даних імунного та цитокінового статусу в процесі лікування у хворих основної групи

Таблиця 2

Показники імунного та цитокінового статусу у хворих на АГ II стадії

Показник, (M±m)	Хворі на АГ (n=86)	Контрольна група (n=33)
CD25+лімфоцити, %	21,35 ± 0,75 *	13,80 ± 1,12
HLA-DR+лімфоцити, %	22,53 ± 1,03 *	12,30 ± 1,27
CD95+лімфоцити, %	15,96 ± 0,78 *	3,04 ± 0,02
CD54+лімфоцити, %	26,82 ± 1,47 *	11,07 ± 1,15
ІЛ-6, пг/мл	65,3±3,6 *	10,31±2,3
ІЛ-8, пг/мл	27,8±1,4*	12,7±1,5
ІЛ-10, пг/мл	14,7±1,8 *	34,65±2,3
sICAM-1, нг/мл	399,4±12,7*	275,5±17,3

Примітки: * – вірогідність різниці показника з даними контрольної групи (p<0,05); n – кількість хворих

встановлено вірогідне зменшення відносної кількості активованих лімфоцитів, які експресують б-ланцюг рецептора ІЛ-2 (CD25⁺лімфоцити) на 25,2 % (p<0,05) до значень, які перевищували рівень здорових осіб на 15,7 % (p>0,1) (табл. 4).

Відсоткова кількість HLA-DR⁺ лімфоцитів через 6 місяців теж вірогідно знизилась на 31,25 % до значень, які перевищували дані контрольної групи на 25,9 % (p<0,05). Відносний вміст активованих CD54⁺лімфоцитів, які експресують молекулу адгезії ICAM-1, вірогідно зменшився на 31,4 % до значень, які перевищували аналогічні показники у здорових осіб на 66,31 % (p<0,05). За рахунок вірогідного зменшення сироваткової концентрації прозапальних цитокінів відносний вміст активованих лімфоцитів, які експресують FAS-рецептор, вірогідно зменшився на 54,8 %, проте їх рівень все ще перевищував дані контрольної групи на 137,2 %.

Аналіз показників цитокінового статусу показав зменшення вмісту ІЛ-6 на 59,42 % (p<0,05), проте він залишався вище показника контрольної групи на 157,1 %. Рівень ІЛ-8 знизився на 47,84 % (p<0,05) до значень, що достовірно не відрізнялись від даних у здорових осіб. Аналогічну тенденцію мав і рівень циркулюючої молекули адгезії sICAM-1, який в процесі лікування достовірно знизився на 25,68 % до значення, що перевищувало норму на 7,5 % (p>0,1). Вміст протизапального ІЛ-10, навпаки, в процесі

лікування зріс у 2,1 рази (p<0,05) до значень, що достовірно не відрізнялися від норми.

Підсумовуючи вищенаведені дані щодо показників імунного та цитокінового статусу, слід зазначити, що рівні ІЛ-6, ІЛ-8, ІЛ-10, циркулюючої молекули адгезії sICAM-1 та активованих CD54⁺лімфоцитів в основній групі мали достовірні відмінності від аналогічних показників у групі порівняння.

ВИСНОВКИ

У хворих на артеріальну гіпертензію спостерігається збільшення рівня загального холестерину, тригліцеридів, ліпопротеїдів низької та дуже низької щільності при зниженні ліпопротеїдів високої щільності, обумовлені єдиними патогенетичними механізмами формування атеросклерозу та артеріальної гіпертензії та роллю атеросклеротичних процесів у механізмах підвищення артеріального тиску.

В імунній системі хворих на артеріальну гіпертензію спостерігаються порушення імунозапального та аутоімунного характеру, обумовлені розвитком імунного запалення в клітинах ендотелію, які призводять до гіперпродукції проатерогенних цитокінів ІЛ-6, ІЛ-8 та зниження кількості антиатерогенного ІЛ-10, підвищення вмісту sICAM та експресії активаційних молекул CD95⁺ та CD54⁺. Дані зміни

Таблиця 3

Динаміка вмісту загального холестерину та його фракцій у хворих на артеріальну гіпертензію II стадії

Показник, (M±m)	Хворі на АГ II стадії			Контрольна група (n=33)
	До лікування (n = 86)	Після лікування		
		Основна група (n=48)	Група порівняння (n=38)	
ЗХС, ммоль/л	6,95±0,23	4,71±0,10* @	5,03±0,12*	4,90±0,41
ТГ, ммоль/л	1,86±0,11	1,35±0,09* @	1,73±0,10*	1,18±0,12
ХС ЛПНЩ, ммоль/л	4,76±0,22	2,71±0,09* @	2,99±0,10*	2,81±0,35
ХС ЛПВПЩ, ммоль/л	1,12±0,07	1,31±0,05*	1,23±0,03	1,49±0,21
ХС ЛПДНЩ, ммоль/л	0,62±0,07	0,56±0,05	0,57±0,04	0,51±0,07
КА	4,64±0,16	3,53±0,11*	3,65±0,12*	3,14±0,24

Примітки: * – вірогідність різниці показників в динаміці лікування (p<0,05); @ – вірогідність різниці показників між основною групою та групою порівняння (p<0,05); n – кількість хворих

Таблиця 4

Динаміка показників імунного та цитокінового статусу у хворих на АГ II стадії

Показник, (M±m)	Хворі на АГ II стадії			Контрольна група (n=33)
	До лікування (n = 86)	Після лікування		
		Основна група (n=48)	Група порівняння (n=38)	
CD25 ⁺ лімфоцити, %	21,35 ± 0,75	15,97 ± 0,59*	16,12±0,64*	13,80±1,12
HLA-DR ⁺ лімфоцити, %	22,53 ± 1,03	15,49 ± 0,86 *	15,81±0,92 *	12,30±1,27
CD95 ⁺ лімфоцити, %	15,96 ± 0,78	7,21±0,08 *	7,84±0,12 *	3,04±0,02
CD54 ⁺ лімфоцити, %	26,82 ± 1,47	18,41±1,03*@	21,93±1,12*	11,07±1,15
ІЛ-6, пг/мл	65,3±3,6	26,5±1,31 * @	31,8±1,45 *	10,31±2,3
ІЛ-8, пг/мл	27,8±1,4	14,5±0,69 * @	17,4±0,87 *	12,7±1,5
ІЛ-10, пг/мл	14,7±1,8	30,8±1,17 * @	25,2±1,11 *	34,65±2,3
sICAM-1, пг/мл	399,4±12,7	296,3±12,5*@	335,2±13,4*	275,5±17,3

Примітки: * – вірогідність різниці показників в динаміці лікування (p<0,05); @ – вірогідність різниці показників між основною групою та групою порівняння (p<0,05); n – кількість хворих

мають високий кореляційний зв'язок із порушеннями ліпідного профілю крові та призводять до зростання апоптозу клітин та розвитку дисфункції ендотелію.

Дотримання рекомендацій з модифікації способу життя разом із застосуванням медикаментозних препаратів сприяє вірогідному покращенню показників ліпідного обміну, імунного та цитокинового статусу у хворих на АГ, достовірному зниженню показників артеріального тиску до цільових значень та індексу маси тіла, що відіграє важливу роль у первинній та вторинній профілактиці серцево-судинних ускладнень у хворих на артеріальну гіпертензію.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття виконана в рамках фундаментальної НДР (№ Держ. реєстрації 0116U004902), що фінансується за рахунок коштів державного бюджету України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Артериальная гипертензия у особых категорий больных / под ред. В.Н. Коваленко, Е.П. Свищенко. – Киев: Морион, 2009. – 376 с.
2. Динаміка стану здоров'я народу України та регіональні особливості (Аналітично-статистичний посібник) / під ред. В.М. Коваленка, В.М. Корнацького. – Київ, 2012. – 211 с.
3. Ковалева О.Н. Фактор некроза опухолей – б. Клиническое исследование активности при артериальной гипертензии / О.Н. Ковалева, Т.В. Ащеулова // Иммунология та алергологія. – 2002. – № 4. – С. 64-66.

4. Кулішов С.К. Значення прозапальних факторів для ускладненого перебігу гіпертонічної хвороби / С.К. Кулішов, Є.О. Воробйов, Л.В. Соломатіна // Укр. Мед. Часопис. – 2007. – № 4 (60). – С. 53-55.
5. Мітченко О.І. Дисліпідемія: діагностика, профілактика та лікування. Методичні рекомендації асоціації кардіологів України / О.І. Мітченко, М.І. Лутай. – К., 2011. – 48с.
6. Настанова та клінічний протокол надання медичної допомоги “Артеріальна гіпертензія”. – Київ, 2012. – 107с.
7. Передерий В.Г. Иммунный статус, принципы его оценки и коррекции иммунных нарушений / [В.Г. Передерий, А.М. Земсков, Н.Г. Бычкова, В.М. Земсков]. – К.: Здоров'я, 1995. – 211с.
8. Пересмотр Европейских рекомендаций по ведению артериальной гипертензии: документ рабочей группы Европейского общества гипертензии. – Донецк: Заславский, 2010. – 80 с.
9. Поливода С.Н. Поражение органов-мишеней при гипертонической болезни: практическое руководство / С.Н. Поливода, Ю.М. Колесник, А.А. Черепок – К.: Четверта хвиля, 2005. – 800 с.
10. Сизова Л.В. Оценка качества жизни в современной медицине / Л.В. Сизова // Науч. - практ. ревматология. – 2003. – № 2. – С. 38-46.
11. Association of target organ damage with three arterial stiffness indexes according to blood pressure dipping status in untreated hypertensive patients / Triantafyllidi H., Tzortzis S., Lekakis J. [et al.] // Blood Vessels. – 2010. – Vol. – 23. – P.1265-1272.
12. Frohlich E.D. Hypertension: an atlas of investigation and management / E.D. Frohlich, H.O. Ventura. – Oxford: Clinical publishing, 2009. – 134 p.

Отримано: 25.02.2017

РОЛЬ ПРО- И АНТИАТЕРОГЕННЫХ ИММУННЫХ ФАКТОРОВ В ТЕЧЕНИИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Бычкова Н.Г., Кондратюк В.Е., Бычков О.А., Тарасюк А.П., Таран А.А., Сидорук Т.Н.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. В Украине 23% населения болеют артериальной гипертензией. Поэтому разработка новых подходов к пониманию ее патогенеза остаются предметом исследования.

Цель: изучить роль про- и антиатерогенных иммунных факторов в течении артериальной гипертензии.

Материалы и методы. Обследовано 86 больных артериальной гипертензией II стадии; в контрольную группу вошло 33 здоровых человека, рандомизированных по возрасту и полу. 86 больных разделили на основную группу (n=48) и группу сравнения (n=38). Пациенты основной группы, наряду с назначенной медикаментозной терапией, в течение 6 месяцев изменили образ жизни: диета, лечебная физкультура, ходьба по 20-30 минут в день, отказ от алкоголя и никотина.

Методы исследования: клинические, антропометрические, биохимические (липидный профиль крови), иммунологические (субпопуляции лимфоцитов), иммуноферментные (цитокины), анкетирование по опроснику, статистические.

Результаты. У больных артериальной гипертензией увеличены уровни общего холестерина, триглицеридов, липопротеидов низкой и очень низкой плотности при снижении липопротеидов высокой плотности. Наблюдается гиперпродукция проатерогенных цитокинов ИЛ-6, ИЛ-8 и снижение количества антиатерогенного ИЛ-10, повышение содержания sICAM и экспрессии активационных молекул CD95 + и CD54 +. Данные изменения должны высокая корреляционная связь с нарушениями липидного профиля крови и приводят к росту апоптоза клеток и развития дисфункции эндотелия.

Выводы. Соблюдение рекомендаций по модификации образа жизни вместе с применением медикаментозных препаратов способствует достоверному улучшению показателей качества жизни, липидного обмена, иммунного и цитокинового статуса у больных АГ, достоверному снижению показателей артериального давления до целевых значений и индекса массы тела.

Ключевые слова: артериальная гипертензия, модификация образа жизни, цитокины, липидный профиль, качество жизни.

THE ROLE OF PRO- AND ANTIATHEROGENIC IMMUNE FACTORS IN THE COURSE OF ARTERIAL HYPERTENSION

Bychkova N.G., Kondratiuk V.E., Bychkov O.A., Tarasiuk A.P., Taran A.A., Sydoruk T.M.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Relevance. In Ukraine, 23% of the population suffers from arterial hypertension. Therefore, the development of new approaches to understanding its pathogenesis remains the subject of research.

The aim: to research the role of pro- and antiatherogenic immune factors in the course of arterial hypertension.

Materials and methods. To achieve this goal 86 patients with second stage of arterial hypertension were examined, the control group included 33 healthy individuals randomized by age and sex. 86 patients were divided into the main group (n = 48) and the comparison group (n = 38). Patients in the main group, along with the prescribed medical therapy, have changed their lifestyle for 6 months: diet, medical physical training, walking for 20-30 minutes per day, abandonment of alcohol and nicotine.

Methods of research: clinical, anthropometric, biochemical (lipid profile of blood), immunological (subpopulations of lymphocytes), immune enzymes (cytokines), questionnaires on questionnaires, statistical.

Results. In patients with arterial hypertension, levels of total cholesterol, triglycerides, low and very low density lipoprotein have been increased with a decrease in high density lipoprotein. Hyperproduction of proatherogenic cytokines IL-6, IL-8 and reduction of anti-atherogenic IL-10, increase of sICAM content and expression of activation molecules CD95 + and CD54 + are observed. These changes have a high correlation with violations of the lipid profile of the blood and lead to an increase in apoptosis of the cells and the development of endothelial dysfunction.

Conclusions. Compliance with the recommendations for modification of lifestyle along with the use of medicines helps to improve the quality of life, lipid metabolism, immune and cytokine status in patients with hypertension, a significant decrease in blood pressure indicators to target values and body mass index.

Keywords: arterial hypertension, lifestyle modification, cytokines, lipid profile, quality of life.

ЭНДОТЕЛИАЛЬНЫЕ ПРОГЕНИТОРНЫЕ КЛЕТКИ У ПАЦИЕНТОВ С ХРОНИЧЕСКОЙ СЕРДЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ: ВЗАИМОСВЯЗЬ С УРОВНЕМ МОЧЕВОЙ КИСЛОТЫ В КРОВИ

Кремзер А.А., Березин А.Е.

*Запорожский государственный медицинский университет, Запорожье, Украина
dr_berezin@mail.ru*

Рецензенты: проф. Яременко О.Б., проф. Курченко А.И.

Актуальность. Мочевая кислота в сыворотке рассматривается как маркер прогрессирования хронической сердечной недостаточности. Такая прогрессия ассоциируется с уменьшением циркулирующих эндотелиальных клеток-предшественников.

Цель: оценить ассоциации между содержанием мочевой кислоты в крови и уровнем циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток у пациентов с хронической сердечной недостаточностью ишемического генеза.

Материалы и методы. В исследовании приняли участие 126 больных с хронической сердечной недостаточностью, для которых на основе ретроспективного анализа был подтвержден ишемический генез. Содержание N-терминального фрагмента мозгового натрийуретического пептида и мочевой кислоты в крови было измерено иммуноэлектрохемолуминисцентным и энзиматическим методами, соответственно, в начале исследования однократно. Фенотипирование популяций эндотелиальных прогениторных клеток осуществлялось методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител, меченных флуорохромами FITC (флуоресцеин изотиоцианат) или двойной меткой FITC/PE (фикоэритрин) по методологии *High-Definition Fluorescence Activated Cell Sorter*.

Результаты. Концентрации мочевой кислоты были распределены на квартили (*Me*; межквартильный интервал), ммоль/л: квартиль I = 20,11 (19,06; 22,33); квартиль II = 27,53 (23,2; 31,10); квартиль III = 35,80 (32,0; 39,0); квартиль IV = 44,9 (40,00; 49,60). Установлена ассоциация мочевой кислоты в крови с количеством циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток с фенотипами $CD14^+CD309^+$ ($r = -0,388$; $P=0,001$) и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ ($r = -0,414$; $P=0,001$). При использовании пропорциональной модели Кокса установлено, что пациенты с верхним квартилем концентрации мочевой кислоты, по сравнению с низкими квартилями, имеют более высокий риск снижения уровня циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$. При этом точка разделения концентрации мочевой кислоты с оптимальным соотношением чувствительности и специфичности в отношении снижения эндотелиальных прогениторных клеток с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ составляет 31,5 ммоль/л.

Вывод. Уровень проангиогенных циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ у пациентов с хронической сердечной недостаточностью снижается пропорционально повышению концентрации мочевой кислоты в крови.

Ключевые слова: хроническая сердечная недостаточность; мочевая кислота; циркулирующие эндотелиальные прогениторные клетки; предсказующая ценность.

Актуальность. Хроническая сердечная недостаточность (ХСН) продолжает оставаться потенциально фатальной стадией любого кардиоваскулярного заболевания [10]. Повышение содержания мочевой кислоты в крови рассматривается как независимый предиктор неблагоприятных клинических исходов, как в общей популяции, так и у больных с документированной ХСН, метаболическим синдромом, сахарным диабетом 2 типа, субклиническим атеросклерозом, хронической болезнью почек [9, 13]. Несмотря на то, что между гиперурикемией и смертностью от ХСН существует тесная прямая ассоциация [14], патогенетическая роль мочевой кислоты в модуляции негативной эволюции последней до сих пор четко не установлена [17]. Предполагается, что мочевая кислота является так называемым “фенотипическим” биологическим маркером, отражающим напряженность репаративных процессов и состояние

функции эндотелия [4]. В меньшей мере известно о влиянии мочевой кислоты на количество и функциональную активность эндотелиальных прогениторных клеток (ЭПК) различных субпопуляций (МРСs), также принимающих непосредственное участие в неангиогенезе, ревазуляризации и репарации тканей [24]. К настоящему времени установлено, что ЭПК могут быть рекрутированы из костного мозга и периферических депо при участии ряда провоспалительных цитокинов, избыточная продукция которых свойственна пациентам с ХСН различной этиологии [11, 26]. Известно, что уровень циркулирующих $CD34^+$ ЭПК с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ прогрессивно снижается в зависимости от тяжести дисфункции миокарда [3, 16, 30] и тесно ассоциируется с ухудшением клинических исходов [5, 8], тогда как характер взаимосвязи между ЭПК и содержанием мочевой кислоты в крови не вполне ясен.

Целью исследования явилась оценка ассоциации между содержанием мочевой кислоты в крови и уровнем циркулирующих эндотелиальных прогениторных клеток у пациентов с ХСН ишемического генеза.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследовании приняли участие 126 больных с ишемическим генезом ХСН, подтвержденным с учетом критериев действующих клинических рекомендаций [21]. Все пациенты дали письменное информированное согласие на участие в исследовании. В качестве критериев исключения использовались Q-инфаркт миокарда или нестабильная стенокардия на протяжении 30 суток до включения в исследование, стенокардия напряжения IV функционального класса (ФК), острая или хроническая сердечная недостаточность IV ФК, декомпенсированный сахарный диабет, необходимость в проведении инсулинотерапии, тяжелые заболевания печени и почек, онкологические заболевания, индекс массы тела (ИМТ) более 30 кг/м² и менее 15 кг/м², инфекционные заболевания в течение 3 недель до скрининга, перенесенный мозговой инсульт, черепно-мозговая травма в течение 3 месяцев; уровень креатинина плазмы крови более 440 мкмоль/л, СКФ менее 35 мл/мин/м², а также любые другие нарушения, которые, по мнению исследователей, могли препятствовать участию пациентов в исследовании, а также отказ от участия в исследовании по любым причинам.

Исследователи строго придерживались всех требований, предъявляемых к клиническим испытаниям, в соответствии с Хельсинской декларацией прав человека (1964), Конференцией по гармонизации надлежащей клинической практики (GCP-ICH), Конвенции Совета Европы о защите прав и достоинства человека в связи с использованием достижений биологии и медицины, Конвенцией о правах человека и биомедицине, включая Дополнительный протокол к Конвенции о биомедицинских исследованиях и законодательства Украины.

Оценка показателей систолической и диастолической функции осуществлялась с помощью трансторакальной эхокардиографии по общепринятому методу на аппарате ACUSON (Siemens, Германия) в В-режиме эхолокации и режиме тканевой доплерографии. Конечно-диастолический и конечно-систолический объемы левого желудочка (ЛЖ) измерялись методом Симпсона [25]. Тканевая доплерография проводилась в 4-, 3- и 2-камерной проекциях в каждом из 16 сегментов ЛЖ и в 4 точках митрального кольца: у основания заднеперегородочной, боковой, нижней и передней стенок ЛЖ [23]. Изменялись пиковые систолическая (*Sm*), ранняя (*Em*) и поздняя диастолические (*Am*) миокардиальные скорости митрального кольца с последующим расчетом отноше-

ния скорости раннего диастолического наполнения ЛЖ (*E*) к *Am* (*E/Am*) и *Em* (*E/Em*).

Вычисление скорости клубочковой фильтрации (СКФ) проводилось с использованием формулы MDRD-6 [17].

Образцы крови для последующего определения уровней биологических маркеров отбирались однократно в начале исследования в утренние часы (7⁰⁰–8⁰⁰), в охлажденные силиконовые пробирки с добавлением 2 мл 5% раствора трилона Б и центрифугировались при постоянном охлаждении со скоростью 6 тыс. оборотов в минуту в течении 15 минут. После этого плазма крови немедленно замораживалась, а затем хранилась при температуре -70°С.

Содержание мочевой кислоты в крови было измерено энзиматическим методом с помощью биохимического анализатора Beckman Synchron LX20. Диапазон анализируемых значений мочевой кислоты в крови составлял 0,5–82 ммоль/л.

Содержание N-терминального фрагмента мозгового натрийуретического пептида (*NT-pro-MHVP*) было измерено иммуноэлектрохемолуминисцентным методом с использованием наборов фирмы R&D Systems (США) на анализаторе Elecsys 1010 (Roche, Mannheim, Германия). Концентрация общего холестерина (ХС) и ХС липопротеинов высокой плотности (ХС ЛПВП) измерялись ферментативным методом. Содержание липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) рассчитывали по формуле Friedewald W.T. (1972) [7].

Фенотипирование популяций мононуклеарных клеток осуществлялось методом проточной цитофлуориметрии с помощью моноклональных антител, меченных флуорохромами FITC (флуоресцеин изотиоцианат) или двойной меткой FITC/PE (фикоэритрин) (BD Biosciences, США), к антигенам CD45, CD34, CD14, Tie-2 и CD309(VEGFR2) по методологии HD-FACS (High-Definition Fluorescence Activated Cell Sorter) с обязательным удалением эритроцитов лизирующим буфером в соответствии с протоколом гейтирования ISHAGE [29]. Для каждой из проб анализировалось 500 тыс. событий. Циркулирующие ЭПК определялись как CD45–CD34+. Для идентификации субпопуляций ЭПК, коэкспрессирующих антиген CD14, дополнительно определяли антигены CD309(VEGFR2) и Tie-2. Результаты скатерограмм, полученные при продольном и поперечном рассеивании лазерного луча в проточном цитофлуометре, подвергались анализу с использованием принципа Булина для двойных или тройных позитивных событий. Общее количество идентифицированных клеток стандартизировалось по отношению к концентрации циркулирующих CD45+ мононуклеаров.

Статистическую обработку результатов проводили в системе SPSS для Windows, версия 20. Все данные представлены как среднее (*M*) и ошибка сред-

ней ($\pm m$) или 95% доверительный интервал (ДИ); медиана (Me) и межквартильный интервал (МКИ). Гипотезу о нормальности распределения исследуемых показателей проверяли с использованием критерия Шапиро–Уилка и Колмогорова–Смирнова. При сравнении групп больных по основным показателям (в зависимости от типа распределений анализируемых показателей) использовали непарный t -критерий Стьюдента или U -критерий Манна–Уитни. При проведении парных сравнений уровней показателей внутри групп применяли парный критерий Вилкоксона. Сравнения категориальных переменных между группами проводили с использованием χ^2 теста и точного критерия Фишера F . Концентрации циркулирующих ЭПК, *NT-pro-MHUP* не имели нормального распределения, тогда как распределение содержания общего холестерина и его фракций отличалось нормальным характером (оценено с помощью теста Колмогорова–Смирнова). Содержание мочевого кислоты в крови было распределено на квартили (Me ; МКИ): $QI=20,11$ (19,06; 22,33) ммоль/л; $QII=27,53$ (23,2; 31,10) ммоль/л; $QIII=35,80$ (32,0; 39,0) ммоль/л; $QIV=44,9$ (40,00; 49,60) ммоль/л. Для оценки различий между медианами показателей в соответствующих квартилях концентрации мочевого кислоты использовался тест Крускала–Уоллиса. Потенциальные факторы, которые могли бы быть связаны с концентрацией циркулирующих ЭПК, первоначально были определены с помощью однофакторного дисперсионного анализа (*ANOVA*), а затем все идентифицированные факторы с уровнем $P < 0,1$ были дополнительно изучены в многофакторном дисперсионном анализе. *ROC (Receive Operation Curve)* анализ был проведен для идентификации оптимальных точек разделения величины фракции выброса левого желудочка (ФВ ЛЖ), отношения E/Em и концентрации *NT-pro-MHUP*, оказывающих наиболее серьезное влияние в отношении снижения циркулирующих ЭПК. Величина отношения шансов (ОШ) и 95 % ДИ были рассчитаны для всех независимых предикторов снижения концентрации циркулирующих ЭПК с помощью модели Кокса. Результаты считались достоверными при уровне $P < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице 1 представлены основные данные о пациентах, включенных в исследование. Среди всех включенных больных I ФК ХСН, II ФК ХСН и III ФК ХСН встречались в 30,2 %; 38,1 % и 31,7 % случаев, соответственно. Более 44 % имели дислипидемию, 66,7 % – артериальную гипертензию и 36,5 % – сахарный диабет 2 типа. Все пациенты, входящие в состав сформированных когорт, в зависимости от квартиля концентрации мочевого кислоты в крови, не различались по возрасту и гендерной принадлежности; ФК ХСН; частоте встречаемости ос-

новных факторов кардиоваскулярного риска; индексу массы тела; гемодинамическим показателям; содержанию глюкозы натощак и *HbA1c*; концентрации *NT-pro-MHUP* и липидов. Исключение составили только СКФ и уровень креатинина крови. Вместе с тем, у пациентов с верхним квартилем концентрации мочевого кислоты достоверно чаще регистрировались случаи преждевременной ишемической болезни сердца (ИБС) в семье, чем у лиц с I–III квартилями этого биомаркера ($P < 0,05$).

Основные ангиографические характеристики пациентов, включенных в исследование, представлены в таблице 2. Одно-, двух- и многососудистое атеросклеротическое поражение коронарных артерий встречалось в 36,5 %; 33,3 % и 20,2 % случаев, соответственно. Существенных различий между когортами исследуемых пациентов, в зависимости от количества пораженных коронарных артерий, обнаружено не было. Все пациенты с ХСН получали лечение, соответствующее действующему клиническому соглашению (табл. 2). Обращает на себя внимание, что ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (АПФ), антагонисты рецепторов к ангиотензину-2 и аспирин назначались пациентам различных когорт в относительно равных пропорциях. Напротив, частоты назначения бета-адреноблокаторов, антагонистов минералкортикоидных рецепторов и диуретиков были выше, а ивабрадина и статинов ниже у лиц с II–IV квартилями концентрации мочевого кислоты, по сравнению с I квартилем ($P < 0,05$ для всех случаев).

Для всех пациентов с ХСН медиана концентрации мочевого кислоты в крови составила 31,00 ммоль/л (95 % ДИ 22,76–41,89 ммоль/л). В соответствии с дизайном исследования уровень мочевого кислоты в крови был представлен в виде квартилей (Me ; 95 % ДИ), в соответствии с которыми все пациенты были распределены на четыре когорты. При этом не было получено существенных различий между содержанием мочевого кислоты в крови пациентов различной гендерной принадлежности (для мужчин $Me = 26,40$ ммоль/л; 95 % ДИ 23,51–38,70 ммоль/л и для женщин $Me = 28,70$ ммоль/л; 95 % ДИ 24,31–39,20 ммоль/л; $P=0,46$).

В таблице 3 показано распределение $CD34^+$ ЭПК различных фенотипов у пациентов, включенных в исследование. Обращает на себя внимание, что не было получено достоверных статистических различий между содержанием ЭПК у пациентов с соседними квартилями концентраций мочевого кислоты в крови. Однако у пациентов с ХСН с верхними квартилями концентраций этого биологического маркера, по сравнению с его нижними квартилями, содержание ЭПК было снижено статистически достоверно.

В целом в общей когорте пациентов с ХСН была установлена ассоциация между $CD45^+CD34^+$ ЭПК и ФВ ЛЖ ($r=0,686$; $P=0,001$), E/Am ($r=-0,566$;

Таблица 1

Общая характеристика пациентов, включенных в исследование

	Все пациенты с ХСН (n=126)	Содержание мочевой кислоты в крови, квартили (95 ДИ)				P
		Квартиль I (19,06 – 22,33 ммоль/л)	Квартиль II (23,2 – 31,10 ммоль/л)	Квартиль III (32,0 – 39,0 ммоль/л)	Квартиль IV (40,00 – 49,60 ммоль/л)	
Возраст, годы	58,34±9,60	57,70±6,10	57,40±6,76	60,30±4,20	62,60±6,22	0,42
Мужчины, n (%)	74 (58,7%)	17 (44,7%)	21 (65,6%)	18 (66,7%)	18 (62,0%)	0,28
I ФК ХСН, n (%)	38 (30,2%)	11 (29,0%)	9 (28,1%)	8 (29,6%)	10 (34,4%)	0,42
II ФК ХСН, n (%)	48 (38,1%)	14 (36,8%)	12 (37,5%)	10 (37,0%)	12 (41,4%)	0,44
III ФК ХСН, n (%)	40 (31,7%)	13 (34,2%)	11 (34,4%)	9 (33,3%)	7 (24,1%)	0,48
АГ, n (%)	84 (66,7%)	25 (65,8%)	22 (68,8%)	18 (66,7%)	19 (65,5%)	0,86
Дислипидемия, n (%)	56 (44,4%)	17 (44,7%)	15 (46,9%)	12 (44,4%)	12 (41,3%)	0,79
СД 2 типа, n (%)	46 (36,5%)	14 (36,8%)	12 (37,5%)	10 (37,0%)	10 (34,5%)	0,80
Отягощенный семейный анамнез по преждевременной ИБС, n (%)	12 (9,5%)	3 (7,9%)	3 (9,3%)	2 (7,40%)	4 (13,9%)	<0,01
Приверженность к курению, n (%)	26 (20,6%)	8 (21,0%)	6 (18,8%)	5 (18,5%)	7 (24,1%)	0,42
ИМТ, кг/м ²	24,1 (95% ДИ = 21,6 – 28,7)	23,3 (95% ДИ = 20,1 – 25,1)	25,0 (95% ДИ = 20,8 – 27,2)	24,6 (95% ДИ = 19,4 – 25,9)	25,2 (95% ДИ = 19,5 – 25,5)	0,58
АД сист, мм рт. ст	130,90±8,41	127,30±5,98	133,80±6,12	129,20±6,34	128,10±4,93	0,44
ЧСС, уд. в 1 мин	70,52±3,34	68,56±5,11	70,44±5,68	71,36±4,66	70,16±5,12	0,52
ФВ ЛЖ, %	43,80±0,77	44,10±0,94	43,50±0,97	43,60±0,79	43,10±0,85	0,28
Е/Ам, Ед.	16,6±0,94	16,3±0,82	16,5±0,76	16,5±0,82	17,1±0,72	0,48
Е/Em, Ед.	16,6±1,00	16,2±0,89	16,6±0,72	17,2±0,55	17,0±0,56	0,46
СКФ, мл / мин / м ²	82,3 (95% ДИ = 68,7 – 102,6)	93,5 (95% ДИ = 88,3 – 100,3)	86,1 (95% ДИ = 68,3 – 104,1)	83,5 (95% ДИ = 68,3 – 112,6)	76,2 (95% ДИ = 61,1 – 98,3)	0,045
НбА1с, %	6,8 (95% ДИ = 4,1–9,5)	6,8 (95% ДИ = 3,9–8,9)	6,9 (95% ДИ = 3,5–9,6)	6,8 (95% ДИ = 3,7–8,9)	6,9 (95% ДИ = 3,8–9,2)	0,86
Глюкоза натощак, ммоль/л	5,20 (95% ДИ = 3,3–9,7)	5,11 (95% ДИ = 3,2–8,5)	5,28 (95% ДИ = 3,1–8,9)	5,21 (95% ДИ = 3,0–9,5)	5,17 (95% ДИ = 3,2–9,0)	0,87
Креатинин, мкмоль/л	72,3 (95% ДИ = 58,7 – 92,6)	70,7 (95% ДИ = 53,1 – 98,5)	71,1 (95% ДИ = 55,7 – 108,2)	73,7 (95% ДИ = 53,8 – 109,5)	88,1 (95% ДИ = 63,0 – 134,2)	0,048
ОХ, ммоль/л	5,1 (95% ДИ = 3,9 – 6,1)	5,0 (95% ДИ = 3,7 – 6,4)	5,1 (95% ДИ = 3,8 – 6,3)	5,0 (95% ДИ = 3,9 – 6,0)	5,0 (95% ДИ = 3,7 – 6,2)	0,12
ХС ЛПВП, ммоль/л	0,91 (95% ДИ = 0,89 – 1,12)	0,95 (95% ДИ = 0,92 – 1,14)	0,94 (95% ДИ = 0,88 – 1,12)	0,91 (95% ДИ = 0,86 – 1,13)	0,90 (95% ДИ = 0,83 – 1,10)	0,12
ХС ЛПНП, ммоль/л	3,23 (95% ДИ = 3,11 – 4,4)	2,95 (95% ДИ = 2,84 – 4,6)	3,15 (95% ДИ = 2,90 – 4,6)	3,24 (95% ДИ = 3,01 – 4,7)	3,265 (95% ДИ = 2,98 – 4,64)	0,64
NT-pro-MHUP, пг/мл	1533,6 (95% ДИ = 644,5 – 2560,6)	1263,9 (95% ДИ = 688,2 – 2120,4)	1446,2 (95% ДИ = 612,6 – 2873,5)	1590,6 (95% ДИ = 622,4 – 2710,2)	1873,5 (95% ДИ = 711,2 – 2790,4)	0,22

Примечание: результаты представлены как медиана и 95% ДИ, ДИ – доверительный интервал, АГ – артериальная гипертензия, СД – сахарный диабет, СКФ – скорость клубочковой фильтрации, ХС – холестерин, ОХ – общий ХС, НбА1с – гликолизированный гемоглобин, ИМТ – индекс массы тела, ЛПНП – липопротеиды низкой плотности, ЛПВП – липопротеиды высокой плотности, АД – артериальное давление, ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка, Em – ранняя диастолическая миокардиальная скорость, Ам – поздняя диастолическая миокардиальная скорость, E – пиковая скорость раннего диастолического наполнения левого желудочка, MHUP – мозговой натрийуретический пептид.

Таблица 2

Ангиографические характеристики и медикаментозная терапия у больных ХСН с различным содержанием мочевой кислоты в крови

Показатели	Все пациенты с ХСН (n=126)	Квартиль I (19,06 – 22,33 ммоль/л)	Квартиль II (23,2 – 31,10 ммоль/л)	Квартиль III (32,0 – 39,0 ммоль/л)	Квартиль IV (40,00 – 49,60 ммоль/л)	P
Количество пораженных коронарных артерий						
Одно сосудистое поражение, n (%)	46 (36,5%)	12 (31,6%)	13 (40,6%)	11 (40,7%)	10 (34,5%)	0,66
Двух сосудистое поражение, n (%)	42 (33,3%)	13 (34,2%)	10 (31,3%)	9 (33,3%)	10 (34,5%)	0,72
Много сосудистое поражение, n (%)	38 (30,2%)	13 (34,2%)	9 (28,1%)	7 (25,9%)	9 (31,0%)	0,73
Медикаментозное лечение						
Ингибиторы АПФ /АРА, n (%)	126 (100%)	38 (100%)	32 (100%)	27 (100%)	29 (100%)	0,52
Ацетилсалициловая кислота, n (%)	98 (77,8%)	31 (81,6%)	25 (65,8%)	22 (81,5%)	20 (69,0%)	0,54
Другие антиагреганты, n (%)	6 (4,8%)	2 (5,2%)	1 (3,1%)	1 (3,7%)	2 (6,9%)	0,86
Бета-адреноблокаторы, n (%)	104 (82,5%)	16 (42,1%)	32 (100%)	27 (100%)	29 (100%)	<0,05
Ивабрадин, n (%)	37 (29,4%)	22 (57,9%)	12 (37,5%)	2 (7,4%)	1 (3,4%)	<0,05
Антагонисты минералкортикоидных рецепторов, n (%)	52 (41,3%)	4 (10,5%)	19 (59,4%)	14 (51,9%)	15 (51,7%)	<0,05
Диуретики, n (%)	106 (84,1%)	19 (50,0%)	25 (78,1%)	27 (100%)	29 (100%)	<0,05
Статины, n (%)	94 (74,6%)	33 (86,8%)	28 (87,5%)	22 (81,5%)	11 (37,9%)	<0,05
Метформин, n (%)	41 (32,5%)	9 (23,7%)	11 (34,3%)	12 (44,4%)	9 (31,0%)	0,054

Примечание: ДИ – доверительный интервал, АПФ ангиотензин-превращающий фермент, АРА – антагонист рецепторов к ангиотензину-2.

$P=0,001$), E/Em ($r=-0,568$; $P=0,001$), СКФ ($r=-0,561$; $P=0,025$), содержанием мочевой кислоты в крови ($r=-0,482$; $P=0,001$), $NT-pro$ -МНУП ($r=-0,353$; $P=0,001$).

Циркулирующий уровень $CD45^+CD34^+$ ЭПК ассоциировался с сахарным диабетом 2 типа ($r=-0,614$; $P=0,001$), $NT-pro$ -МНУП ($r=-0,605$; $P=0,002$), содержанием мочевой кислоты в крови ($r=-0,466$; $P=0,001$), СКФ ($r=-0,423$; $P=0,012$).

Содержание $CD45^+CD34^+$ ЭПК ассоциировалось с ФВ ЛЖ ($r=0,723$; $P=0,001$), E/Am ($r=0,52$; $P=0,0024$) и E/Em ($r=0,60$; $P=0,001$).

Содержание субпопуляции ЭПК с фенотипом $CD14^+CD309^+$ позитивно ассоциировалось с ФВ ЛЖ ($r=0,785$; $P=0,001$), E/Em ($r=0,52$; $P=0,001$), E/Am ($r=0,48$; $P=0,001$) и негативно с ФК ХСН ($r=-0,622$; $P=0,001$), сахарным диабетом 2 типа ($r=-0,521$; $P=0,001$), содержанием мочевой кислоты в крови ($r=-0,508$; $P=0,001$), $NT-pro$ -МНУП ($r=-0,362$; $P=0,001$), артериальной гипертензией ($r=-0,320$; $P=0,005$).

Количество ЭПК с фенотипом $CD14^+CD309^+Tie2^+$ позитивно ассоциировалось с ФВ ЛЖ ($r=0,639$; $P=0,001$), E/Em ($r=0,52$; $P=0,001$), СКФ ($r=0,486$; $P=0,002$) и негативно с ФК ХСН ($r=-0,657$; $P=0,001$), содержанием мочевой кислоты в крови ($r=-0,628$; $P=0,001$), сахарным диабетом 2 типа ($r=-0,610$; $P=0,001$), $NT-pro$ -МНУП ($r=-0,373$; $P=0,001$), холестерином ЛПНП ($r=-0,354$; $P=0,001$), концентрацией общего холестерина крови ($r=-0,258$; $P=0,043$), приверженностью к курению ($r=-0,285$; $P=0,042$), индексом массы тела ($r=-0,272$; $P=0,046$).

Проведение унивариантного регрессионного анализа позволило выявить существование взаимосвязи между содержанием мочевой кислоты в крови и ЭПК с фенотипами $CD45^+CD34^+$, $CD45^+CD34^+$, $CD14^+CD309^+$, $CD14^+CD309^+Tie2^+$, концентрацией $NT-pro$ -МНУП, ФК ХСН, ФВ ЛЖ, наличием сахарного диабета 2 типа, СКФ. Позитивная ассоциация была обнаружена между концентрацией мочевой кислоты и ФК СН ($r=0,612$; $P=0,001$); сахарным диабетом 2 типа ($r=0,462$; $P=0,001$), $NT-pro$ -МНУП

($r=0,612$; $P=0,001$), использованием диуретиков ($r=0,37$, $P<0,01$), индексом массы тела ($r=0,34$, $P<0,05$), дислипидемией ($r=0,32$, $P<0,05$), возрастом ($r=0,30$, $P<0,01$), мужским полом ($r=0,29$, $P<0,05$). Негативная ассоциация устойчиво регистрировалась между уровнем мочевой кислоты в крови и СКФ ($r=-0,476$; $P=0,002$), ФВ ЛЖ ($r=-0,42$; $P=0,001$), $CD45^+CD34^+$ ЭПК ($r=-0,388$; $P=0,001$); $CD45^+CD34^+$ ЭПК ($r=-0,41$; $P=0,001$); $CD14^+CD309^+$ ЭПК ($r=-0,397$; $P=0,001$); $CD14^+CD309^+Tie2^+$ ЭПК ($r=-0,442$; $P=0,001$). Мультивариантный регрессионный анализ показал наличие взаимосвязи между содержанием $CD34^+$ ЭПК, скорректированных по СКФ, ФВ ЛЖ, ФК ХСН, использованию диуретиков и наличию сахарного диабета 2 типа. Так, после выполнения коррекции устойчивая ассоциация сохранилась между концентрацией мочевой кислоты в крови и $CD14^+CD309^+$ ЭПК ($r=-0,388$; $P=0,001$) и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ ЭПК ($r=-0,414$; $P=0,001$), тогда как статистическая значимость взаимосвязи с $CD45^+CD34^+$ ЭПК ($r=-0,214$; $P=0,22$) и $CD45^+CD34^+$ ЭПК ($r=-0,16$; $P=0,16$) оказалась утраченной.

Использование пропорциональной модели Кокса показало достоверное повышение шансов к снижению уровней ЭПК с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ для пациентов с ХСН с верхними квартилями уровня мочевой кислоты, по сравнению с I-II квартилями (табл. 4). Предсказуемая ценность уровня мочевой кислоты в крови в отношении содержания ЭПК с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ у пациентов с ХСН была оценена с помощью ROC-анализа, результаты которого представлены на рисунке. Анализ полученных данных позволил установить высокую степень надёжности модели, основанной на измерении уровня мочевой кислоты в крови в отношении снижения $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ клеток у больных с ХСН (площадь под ROC кривой 0,631 и 0,687, соответственно, при чувствительности 63,9 % и 72,2 % и специфичности 56,2 % и 52,9 %, соответственно). Для обоих случаев точка разделения концентрации мочевой кислоты с оптимальным

Таблица 3

Содержание циркулирующих ЭПК в зависимости от уровня мочевой кислоты в крови

Фенотип ЭПК	Все пациенты с ХСН (n=126)	Содержание мочевой кислоты в крови, квартили (95 % ДИ)				P
		Квартиль I (19,06 – 22,33 ммоль/л)	Квартиль II (23,2 – 31,10 ммоль/л)	Квартиль III (32,0 – 39,0 ммоль/л)	Квартиль IV (40,00 – 49,60 ммоль/л)	
$CD45^+CD34^+$, % (Me; МКИ)	1,282 (1,21 – 1,528)	1,77 (1,58 – 1,93)	1,72 (1,53 – 1,91)	1,45 (1,21 – 1,68)	1,05 (0,80 – 1,17)	<0,01
$CD45^+CD34^+ \times 10^{-4}$, % (Me; МКИ)	0,727 (0,54 – 0,913)	1,01 (0,91 – 1,15)	0,91 (0,81 – 1,01)	0,83 (0,72 – 0,93)	0,63 (0,33 – 0,86)	<0,01
$CD14^+CD309^+ \times 10^{-4}$, % (Me; МКИ)	29,18 (15,00 – 34,50)	43,9 (33,7 – 54,12)	37,2 (28,8 – 45,59)	28,0 (17,48 – 37,2)	14,0 (11,1 – 19,86)	0,02
$CD14^+CD309^+Tie2^+ \times 10^{-4}$, % (Me; МКИ)	0,67 (0,21 – 1,10)	0,86 (0,74 – 0,98)	0,82 (0,73 – 0,92)	0,67 (0,58 – 0,76)	0,37 (0,29 – 0,56)	0,01

Примечание: ЭПК – эндотелиальные прогениторные клетки, Me – медиана, МКИ – межквартильный интервал.

Таблица 4

Корригированные отношения шансов в отношении снижения циркулирующего уровня ЭПК с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ в зависимости от концентрации мочевой кислоты в крови

Квартили концентрации мочевой кислоты	Мочевая кислота, ммоль/л		Коррегированное ОШ*	95% ДИ	P
	Me	95 % ДИ			
Для $CD14^+CD309^+$ ЭПК					
Q1	20,11	19,06 – 22,33	1,00	–	–
Q2	27,53	23,20 – 31,10	1,02	0,88–1,11	0,24
Q3	35,80	32,00 – 39,0	1,18	1,06–1,29	0,001
Q4	44,9	40,00 – 49,60	1,24	1,12–1,46	0,002
Для $CD14^+CD309^+Tie2^+$ ЭПК					
Q1	20,11	19,06 – 22,33	1,00	–	–
Q2	27,53	23,20 – 31,10	1,08	1,00–1,20	0,054
Q3	35,80	32,00 – 39,00	1,22	1,11–1,34	0,001
Q4	44,9	40,00 – 49,60	1,38	1,20–1,55	0,001

Примечание: * – ОШ представлены как значения, корригированные по величине скорости клубочковой фильтрации, фракции выброса левого желудочка, функциональному классу ХСН, сахарному диабету 2 типа и назначению диуретиков; ОШ – отношение шансов, Me – медиана, ДИ – доверительный интервал, Q – квартиль, ЭПК – эндотелиальные прогениторные клетки.

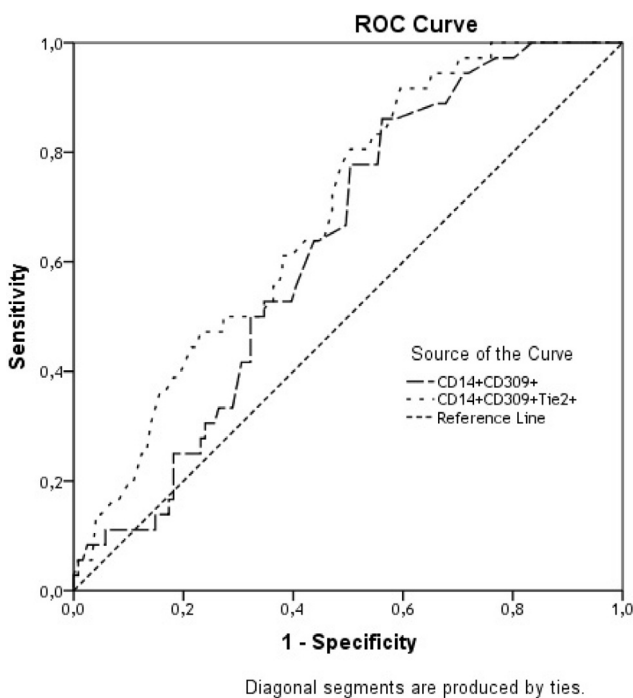


Рис. Надежность модели, основанной на предсказывающей ценности уровня мочевой кислоты как предиктора снижения ЭПК с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ у пациентов с ХСН, по результатам ROC (Receive Operation Curve) анализа

соотношением чувствительности и специфичности в отношении снижения ЭПК составляла 31,5 ммоль/л. Таким образом, полученные данные поддерживают гипотезу о том, что у пациентов с ХСН циркулирующий уровень мочевой кислоты может рассматриваться как предиктор снижения содержания проангиогенных моноклеарных прогениторных клеток.

Существует достаточно большое количество клинических исследований и мета-анализов, посвящен-

ных изучению взаимосвязи между уровнем мочевой кислоты и клиническими исходами, сердечно-сосудистой и общей смертностью у пациентов с ХСН [12, 18, 19, 26]. Кроме того, ассоциация между гиперурикемией и сердечно-сосудистой смертностью была установлена для содержания мочевой кислоты, превышающего 0,70 ммоль/л [27]. С другой стороны, существуют сведения о цитопротекторных и антиоксидантных качествах мочевой кислоты, прогностическая роль которых не вполне ясна [1]. В настоящем исследовании удалось установить наличие негативной ассоциации между концентрацией мочевой кислоты в крови, распределенной по квартилям, и содержанием проангиогенных ЭПК. Оказалось, что у пациентов с ХСН наблюдается прогрессивное снижение циркулирующих ЭПК в зависимости от квартиля концентрации мочевой кислоты при отсутствии клинически значимой гиперурикемии, требующей назначения аллопуринола. При этом коррекция содержания циркулирующих ЭПК в зависимости от других сердечно-сосудистых факторов риска не оказывала влияния на существование отмеченной ранее взаимосвязи. Вероятно, эти сведения могут быть приняты во внимание при интерпретации результатов исследований, посвященных анализу причин влияния уровня мочевой кислоты в крови, включая мягкое ее повышение, на клинические исходы пациентов с ХСН. Действительно, в некоторых исследованиях у больных с ХСН отмечалось наличие ассоциации между уровнем мочевой кислоты и рядом биологических маркеров (*NT-pro-MHUP*), гемодинамических показателей (*E/Ea* и *ФВ ЛЖ*) даже при отсутствии существенного снижения СКФ [11, 27]. Показано, что мягкое увеличение уровня мочевой кислоты в крови больных с ХСН и сниженной *ФВ ЛЖ* ассоциируется с ухудшением клинических исходов, формированием не-

благоприятного гемодинамического профиля и может быть использовано как неинвазивный индикатор увеличения внутрижелудочкового давления [2]. Проведена оценка независимого влияния уровня мочевого кислоты в крови больных (мужчин) с ХСН в отношении клинического статуса (компенсация и декомпенсация) [22]. Оказалось, что мягкая элевация концентрации мочевого кислоты ассоциируется с повышением риска декомпенсации ХСН у мужчин (относительный риск = 1,67; 95 % ДИ 1,21–2,32). Необходимо отметить, что у пациентов, принявших участие в настоящем исследовании, не было обнаружено существенных гендерных различий в отношении уровня мочевого кислоты. Кроме того, мягкое повышение содержания последней не требовало использования аллопуринола. Предполагается, что повышение уровня мочевого кислоты при ХСН оказывает негативное влияние в отношении клинических исходов путем модуляции дисфункции эндотелия, а также опосредованно через интенсификацию катаболических процессов, индуцированных повреждением тканей вследствие ишемии, гипоксии или апоптоза [6]. При этом абсолютный клиренс мочевого кислоты может не играть существенной роли в механизмах возникновения гиперурикемии [6, 15, 32]. С другой стороны, среди пациентов с избыточной массой тела повышение уровня мочевого кислоты не является редкостью. Однако мы не обнаружили существенной ассоциации между ИМТ и уровнем мочевого кислоты у пациентов с ХСН, тогда как в исследованиях других авторов [6] подобная взаимосвязь была установлена. Можно предположить, что широкое назначение диуретиков пациентам с ХСН могло бы способствовать гиперурикемии за счет стимуляции реабсорбции мочевого кислоты в проксимальном отделе канальцев нефрона и тем самым оказывать неблагоприятное влияние в отношении уровня циркулирующих ЭПК. Однако результаты настоящего исследования не подтверждают существование прямого и опосредованного влияния диуретиков на уровень ЭПК. Мы полагаем, что повышение концентрации мочевого кислоты у пациентов с ХСН в большей мере отражает тяжесть нарушения микроциркуляции. Действительно, ишемии периферических тканей детерминирует повышение экспрессии ксантиноксидазы, являющейся основной причиной избыточной продукции мочевого кислоты, и через супрессию активности внутриклеточных систем *Akt* / *STAT* / *MAP*-киназ приводит к снижению моббинга, дифференцировки и транспорта проангиогенных ЭПК с фенотипами $CD14^+CD309^+$ *MPCs* и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ [28, 31]. Таким образом, влияние мочевого кислоты на популяцию проангиогенных ЭПК может быть обусловлено различными механизмами, значение которых для эволюции ХСН еще придется установить.

ВЫВОДЫ

У пациентов с ХСН ишемического генеза циркулирующий уровень эндотелиальных прогениторных клеток прогрессивно снижается в зависимости от квартилей концентрации мочевого кислоты в крови.

Для пациентов с ХСН предсказующая ценность уровня мочевого кислоты в крови в отношении содержания ЭПК с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$ характеризуется высокой надежностью (площадь под *ROC* кривой 0,631 и 0,687, соответственно) и чувствительностью (63,9 % и 72,2 %) при умеренном уровне специфичности (56,2 % и 52,9 %, соответственно).

Концентрация мочевого кислоты, превышающая 31,5 ммоль/л, может быть рассмотрена как независимый предиктор снижения пула проангиогенных эндотелиальных прогениторных клеток с фенотипами $CD14^+CD309^+$ и $CD14^+CD309^+Tie2^+$.

Конфликт интересов. Авторы заявляют, что не имеют конфликта интересов, который может восприниматься таким, что может нанести вред беспристрастности статьи.

Источники финансирования. Эта статья не получила финансовой поддержки от государственной, общественной или коммерческой организации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Alcanno H. The role of uric acid in heart failure. Rev. / H. Alcanno, D. Greig, P. Castro [et al.] // Med. Chil. – 2011. – Vol. 139, No. 4. – P. 505-515.
2. Amin A. Serum uric acid levels correlate with filling pressures in systolic heart failure / A. Amin, F. Vakilian, M. Maleki // Congest. Heart Fail. – 2011. – Vol. 17, No. 2. – P. 80-84.
3. Bakogiannis C. Circulating endothelial progenitor cells as biomarkers for prediction of cardiovascular outcomes / C. Bakogiannis, D. Tousoulis, E. Androulakis [et al.] // Curr. Med. Chem. – 2012. – Vol. 19, No. 16. – P. 2597-2604.
4. Berezin A.E. Serum uric Acid as a marker of coronary calcification in patients with asymptomatic coronary artery disease with preserved left ventricular pump function / A.E. Berezin, A.A. Kremzer // Cardiol Res Pract. – 2013. – 2013: 129369.
5. Fadini G.P. Circulating progenitor cell count for cardiovascular risk stratification: a pooled analysis / G.P. Fadini, S. Maruyama, T. Ozaki [et al.] // PLoS ONE. – 2010. – Vol. 5, No. 7. – e11488.
6. Filippatos G.S. Hyperuricaemia, chronic kidney disease, and outcomes in heart failure: potential mechanistic insights from epidemiological data / G.S. Filippatos, M.I. Ahmed, J.D. Gladden [et al.] // Eur. Heart J. – 2011. – Vol. 32, No. 6. – P. 712-720.
7. Friedewald W.T. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge / W.T. Friedewald,

- R.I. Levy, D.S. Fredrickson // *Clin Chem.* – 1972. – Vol. 18, No. 6. – P. 499-502.
8. Fritzenwanger M. Differential number of cd34+, cd133+ and cd34+/cd133+ cells in peripheral blood of patients with congestive heart failure / M. Fritzenwanger, F. Lorenz, C. Jung [et al.] // *Eur. J. Med. Res.* – 2009. – Vol. 14. – P. 113-117.
 9. Gustafsson D. The pathophysiology of hyperuricaemia and its possible relationship to cardiovascular disease, morbidity and mortality / D. Gustafsson, R. // *Unwin // BMC Nephrol.* – 2013. – 14 : 164.
 10. Hartupee J. Positioning of Inflammatory Biomarkers in the Heart Failure Landscape / J. Hartupee, D.L. Mann // *J. Cardiovasc. Transl. Res.* – 2013. – Vol. 6, No. 4. – P. 485-492.
 11. Hill J.M. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk / J.M. Hill, G. Zalos, J.P. Halcox [et al.] // *N. Engl. J Med.* – 2003. – Vol. 348. – P. 593-600.
 12. Hsieh M.C. Significant correlation between left ventricular systolic and diastolic dysfunction and decreased glomerular filtration rate / M.C. Hsieh, H.M. Su, S.Y. Wang [et al.] // *Ren. Fail.* – 2011. – Vol. 33, No. 10. – P. 977-982.
 13. Huang H. Uric acid and risk of heart failure: a systematic review and meta-analysis / H. Huang, B. Huang, Y. Li [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2014. – Vol. 16, No. 1. – P. 15-24.
 14. Jeemon P. Does uric acid qualify as an independent risk factor for cardiovascular mortality? / P. Jeemon, D. Prabhakaran // *Clin. Sci. (Lond).* – 2013. – Vol. 124, No. 4. – P. 255-257.
 15. Kim H. Uric Acid as prognostic marker in advanced nonischemic dilated cardiomyopathy: comparison with N-terminal pro B-type natriuretic peptide level / H. Kim, H.W. Shin, J. Son [et al.] // *Congest. Heart Fail.* – 2010. – Vol. 16, No. 4. – P. 153-158.
 16. Kissel C.K. Selective functional exhaustion of hematopoietic progenitor cells in the bone marrow of patients with postinfarction heart failure / C.K. Kissel, R. Lehmann, B. Assmus [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2007. – Vol. 49, No. 24. – P. 2341-2349.
 17. Kuo C.F. Significance of serum uric acid levels on the risk of all-cause and cardiovascular mortality / C.F. Kuo, L.C. See, K.H. Yu [et al.] // *Rheumatology. (Oxford).* – 2013. – Vol. 52, No. 1. – P. 127-134.
 18. Levey A.S. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate / A.S. Levey, L.A. Stevens, C.H. Schmid [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 2009. – Vol. 150, No. 9. – P. 604-612.
 19. Málek F. Uric acid, allopurinol therapy, and mortality in patients with acute heart failure-results of the Acute HEart FAilure Database registry / F. Málek, P. Ošťádal, J. Pařenica [et al.] // *J. Crit. Care.* – 2012. – Vol. 27, No. 6. – P. 737. e11-24.
 20. Manzano L. Predictors of clinical outcomes in elderly patients with heart failure / L. Manzano, D. Babalis, M. Roughton [et al.] // *Eur. J. Heart Fail.* – 2011. – Vol. 13, No. 5. – P. 528-536.
 21. McMurray J.J.V. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012 / J.J.V. McMurray, S. Adamopoulos, S.D. Anker [et al.] // *Eur Heart J.* – 2012. – Vol. 33, No. 14. – P. 1787-1847.
 22. Misra D. The independent impact of congestive heart failure status and diuretic use on serum uric acid among men with a high cardiovascular risk profile: a prospective longitudinal study / D. Misra, Y. Zhu, Y. Zhang, H.K. Choi // *Semin. Arthritis Rheum.* – 2011. – Vol. 41, No. 3. – P. 471-476.
 23. Pellerin D. Tissue Doppler, strain, and strain rate echocardiography for the assessment of left and right systolic ventricular function / D. Pellerin, R. Sharma, P. Elliott, C. Veyrat // *Heart.* – 2003. – Vol. 89, Suppl. 3. – iii9-17.
 24. Rehman J. Peripheral blood “endothelial progenitor cells” are derived from monocyte/macrophages and secrete angiogenic growth factors / J. Rehman, J. Li, C.M. Orschell, K.L. March // *Circulation.* – 2003. – Vol. 107, No. 8. – P. 1164-1169.
 25. Schiller N.B. Recommendations for quantitation of the left ventricle by two-dimensional echocardiography. American Society of Echocardiography Committee on Standards, Subcommittee on Quantitation of Two-Dimensional Echocardiograms / N.B. Schiller, P.M. Shah, M. Crawford [et al.] // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* – 1989. – Vol. 2, No. 5. – P. 358-367.
 26. Schmidt-Lucke C. Reduced number of circulating endothelial progenitor cells predicts future cardiovascular events: proof of concept for the clinical importance of endogenous vascular repair / C. Schmidt-Lucke, L. Roessig, S. Fichtlscherer [et al.] // *Circulation.* – 2005. – Vol. 111, No. 22. – P. 2981-2987.
 27. Tamariz L. Uric acid as a predictor of all-cause mortality in heart failure: a meta-analysis / L. Tamariz, A. Harzand, A. Palacio [et al.] // *Congest Heart Fail.* – 2011. – Vol. 17, No. 1. – P. 25-30.
 28. Trachtenberg B.H. Biomarkers of oxidative stress in heart failure / Trachtenberg B.H., Hare J.M. // *Heart Fail Clin.* – 2009. – Vol. 5, No. 4. – P. 561-577.
 29. Tung J.W. New approaches to fluorescence compensation and visualization of FACS data / J.W. Tung, D.R. Parks, W.A. Moore [et al.] // *Clin. Immunol.* – 2004. – Vol. 110, No. 3. – P. 277-283.
 30. Valgimigli M. CD34+ and endothelial progenitor cells in patients with various degrees of congestive heart failure / M. Valgimigli, G.M. Rigolin, A. Fucili [et al.] // *Circulation.* – 2004. – Vol. 110, No. 10. – P. 1209-1212.
 31. Waring W.S. Effect of local hyperuricemia on endothelial function in the human forearm vascular bed / W.S. Waring, D.J. Webb, S.R.J. Maxwell // *Br. J. Clin. Pharmacol.* – 2000. – Vol. 49. – P. 511.
 32. Wu A.H. Uric acid level and allopurinol use as risk markers of mortality and morbidity in systolic heart failure / A.H. Wu, J.K. Ghali, G.W. Neuberger [et al.] // *Am. Heart J.* – 2010. – Vol. 160, No. 5. – P. 928-933.

Отримано: 19.05.2017

ЕНДОТЕЛІАЛЬНІ ПРОГЕНІТОРНІ КЛІТИНИ У ПАЦІЄНТІВ З ХРОНІЧНОЮ СЕРЦЕВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ: ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК З РІВНЕМ СЕЧОВОЇ КИСЛОТИ В КРОВІ

Kremzer A.A., Berezin A.E.

Zaporizhkyi derzhavnyi medychny universitet, Zaporizhzhya, Ukraine

Актуальність. Сечова кислота у сироватці розглядається як маркер прогресування хронічної серцевої недостатності. Таке прогресування асоційоване зі зниженням циркулюючих ендотеліальних клітин-попередників.

Мета: оцінити асоціацію між вмістом сечової кислоти в крові і рівнем циркулюючих ендотеліальних прогениторних клітин у пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю ішемічного генезу.

Матеріали та методи. У дослідженні взяли участь 126 хворих з хронічною серцевою недостатністю, для яких на основі ретроспективного аналізу було підтверджено ішемічний генез. Вміст N-термінального фрагменту мозкового натрійуретичного пептиду і сечової кислоти в крові було виміряно імуноелектрохемолюмінисцентним і ензиматичними методами, відповідно, на початку дослідження одноразово. Фенотипування популяції ендотеліальних прогениторних клітин здійснювалося методом точної цитофлуориметрії за допомогою моноклональних антитіл, міченими флуорохромами FITC (флуоресцеїн ізоціанат) або подвійною міткою FITC/PE (фікоеритрин) за методологією High-Definition Fluorescence Activated Cell Sorter.

Результати. Концентрації сечової кислоти були розподілені на квартилі (Me; міжквартильний інтервал), ммоль/л: квартиль I = 20,11 (19,06; 22,33); квартиль II = 27,53 (23,2; 31,10); квартиль III = 35,80 (32,0; 39,0); квартиль IV = 44,9 (40,00; 49,60). Встановлена асоціація сечової кислоти в крові з кількістю циркулюючих ендотеліальних прогениторних клітин з фенотипами CD14⁺ CD309⁺ ($r = -0,388$; $P = 0,001$) і CD14⁺ CD309⁺ Tie2⁺ ($r = -0,414$; $P = 0,001$). При використанні пропорційної моделі Кокса встановлено, що пацієнти з верхнім квартилем концентрації сечової кислоти, в порівнянні з низькими квартилями, мають більш високий ризик зниження циркулюючого рівня ендотеліальних прогениторних клітин з фенотипами CD14⁺ CD309⁺ і CD14⁺ CD309⁺ Tie2⁺. При цьому точка поділу концентрації сечової кислоти з оптимальним співвідношенням чутливості і специфічності щодо зниження ендотеліальних прогениторних клітин з фенотипами CD14⁺ CD309⁺ і CD14⁺ CD309⁺ Tie2⁺ становить 31,5 ммоль/л.

Висновок. Рівень проангіогенних циркулюючих ендотеліальних прогениторних клітин з фенотипами CD14⁺ CD309⁺ і CD14⁺ CD309⁺ Tie2⁺ у пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю знижується пропорційно підвищенню концентрації сечової кислоти в крові.

Ключові слова: хронічна серцева недостатність; сечова кислота; циркулюючі ендотеліальні прогениторні клітини; передбачувальна цінність.

ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS IN CHRONIC HEART FAILURE PATIENTS: THE INTERRELATIONSHIP WITH SERUM URIC ACID

Kremzer A.A., Berezin A.E.

Zaporozhye State Medical University, Zaporozhye, Ukraine

Actuality. Serum uric acid (SUA) is considered as a marker of nature progression of chronic heart failure (CHF) mediated cardiovascular remodelling. Progression of CHF associates with declining of circulating endothelial progenitor cells (EPCs) in the peripheral circulation.

The objective of this study was to evaluate the interrelationship between SUA concentrations and proangiogenic MPCs in ischemic CHF patients.

Methods: The study population was structured retrospectively after determining the coronary artery disease (CAD) by contrast-enhanced spiral computed tomography angiography in 126 subjects (54 male), aged 48 to 62 years, with mild-to-severe ischemic CHF. CAD was considered to be diagnosed upon availability of previous angiographic examinations carried out not later than 6 months ago provided no new cardiovascular events occurred for this period, and the procedure are available for assay. Transthoracic ultrasonic echocardiography was performed according to a conventional procedure on ACUSON scanner, SIEMENS, Germany, in B-mode regimen and tissue Doppler echocardiography regimen from parasternal, subcostal, and apical positions over the short and long axis with sensor P of 5 MHz. Venous blood samples were drawn in the fasting state in the morning (at 7-8 a.m.) at baseline. SUA level was measured by enzymatic methods, NT-pro-BNP level was examined by immunoelectrochemiluminescence method. EPCs were determined as CD 34⁺ cells by the flowcytometric technique using High-Definition Fluorescence Activated Cell Sorter methodology. All biomarkers were measured at baseline. The study was approved by an institutional review committee.

Results. Concentrations of SUA were distributed by quartiles (Me; IQR): QI=20.11 (19.06; 22.33) mmol/l; QII=27.53 (23.2; 31.10) mmol/l; QIII=35.80 (32.0; 39.0) mmol/l; and QIV=44.9 (40.00; 49.60) mmol/l. We found an independent impact of SUA on counts of CD14⁺CD309⁺ EPCs ($r=-0.388$; $P=0.001$) and CD14⁺CD309⁺Tie2⁺ MPCs ($r=-0.414$; $P=0.001$), but on CD45⁺CD34⁺ EPCs ($r=-0.214$; $P=0.22$) and CD45⁺CD34⁺ MPCs ($r=-0.16$; $P=0.16$) did not.

Cox proportional adjusted Odds Ratios analyses for CD14⁺CD309⁺ and CD14⁺CD309⁺Tie2⁺ EPCs by SUA Quartiles (Q) has showed that high Q (Q3 and Q4) of SUA versus low Q (Q1 and Q2) associated with increased risk of depletion of both CD14⁺CD309⁺ and CD14⁺CD309⁺Tie2⁺ EPCs. The ROC analysis has been showed that there was the cut-off point for the SUA level with the best prognostic potential on the risk of decreasing EPCs in both models equal 31.5 mmol/l.

Conclusion. Circulating level of proangiogenic EPCs phenotyped as CD14⁺CD309⁺ and CD14⁺CD309⁺Tie2⁺ is declined progressively depended on quartiles of SUA level in CHF subjects.

Key words: chronic heart failure; serum uric acid; circulating endothelial progenitor cells; predictive value.

ОЦІНКА ІМУННОГО СТАТУСУ В УЧАСНИКІВ АТО З ВАЖКИМИ ПОШКОДЖЕННЯМИ НИЖНІХ КІНЦІВОК

¹Мальцев Д.В., ²Мездин В.І

¹Інститут експериментальної і клінічної медицини НМУ імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

²Військово-медичний клінічний центр Західного регіону, Київ, Україна
dmaltsev@ukr.net

Рецензенти: проф. Бичкова Н.Г., доц. Бісюк Ю.А.

Актуальність. Посттравматична імуносупресія в гострий період після травми є незалежним чинником ризику розвитку ускладнень і смертельного наслідку.

Мета: оцінити імунний статус в учасників АТО з важкими пошкодженнями нижніх кінцівок в перші дні після поранення.

Матеріали та методи. У 10 бійців АТО вивчали показники загального аналізу крові, субпопуляційного складу лімфоцитів із застосуванням лазерної проточної цитофлуориметрії і методу непрямой імунофлуоресценції з моноклональними антитілами до CD-маркерів з двома або трьома мітками. Фагоцитоз оцінювали за даними латекс-тесту з визначенням показника фагоцитозу, фагоцитарного індексу, кількості активних фагоцитів і фагоцитарної ємності крові, а також за вмістом мієлопероксидази в нейтрофілах (проточна цитофлуориметрія). Сироваткові концентрації імуноглобулінів М, G, А визначали за результатами простої радіальної імунодифузії за Манчіні. Концентрацію IgE, IgD, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) вимірювали за допомогою твердофазного імуноферментного аналізу. Статистичну обробку здійснювали за допомогою методів порівняльного і структурного аналізів з розрахунком середніх величин параметрів імунного статусу і їх похибок.

Результати. У 5 пацієнтів відзначалася анемія, у 5 – лейкоцитоз, у 1 – лейкопенія. Лейкоцитоз поєднувався з високою ШОЕ 30-60 мм/год. Гіперзапальна реакція розцінена як перший етап імунореактивності на важке поранення, а лейкопенія – як ознака імуносупресії. 4 пацієнти перебували у проміжній фазі переходу від гіперзапальної фази до імунного паралічу. Імунна дизрегуляція є компонентом дезадаптаційного синдрому. Кількість лімфоцитів, CD3+ Т-клітин знизена у 6 осіб. Серед субпопуляцій Т-лімфоцитів уражалися як CD4+ Т-хелпери, так і CD8+ цитотоксичні Т-лімфоцити. Кількість природних кілерів з фенотипом CD3-CD16+CD56+ знизена у 5 осіб, причому таке порушення не корелювало з дефіцитом Т-клітин. Кількість В-лімфоцитів нормальна. Не виявлено ознак дефіциту фагоцитозу. Послаблено фагоцитарне перетравлення у 5 осіб з малою кількістю Т-лімфоцитів. Фагоцитарна дисфункція поглиблювала супресію клітинної ланки природженого і набутого імунітету і підвищувала сприйнятливості до умовнопатогенної бактеріальної і грибової мікрофлори. Дефіцит мієлопероксидази нейтрофілів нівелював компенсаторний ефект нейтрофілозу. Збільшені IgA у 5 осіб, IgG – у 4. Вміст субкласів IgG (IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4) підвищений у 3 пацієнтів. Концентрація IgM нормальна.

Висновки. Травма індукує імуносупресію, в основі якої дефіцити Т-лімфоцитів, мієлопероксидази нейтрофілів, природних кілерів і природних кілерних Т-лімфоцитів. Імуносупресія супроводжується компенсаторною гіперпродукцією імуноглобулінів, особливо IgA та IgG, що зменшує ризик важких інфекційних ускладнень, однак може бути асоційовано з підвищеним ризиком алергії та імунокомплексних уражень.

Ключові слова: вогнепальні поранення, імуносупресія, імунотерапія.

Актуальність. Завдяки дослідженням останніх десятиріч описано і вивчено феномен посттравматичної імуносупресії у пацієнтів в гострий період після травматичного пошкодження, що є незалежним чинником ризику розвитку ускладнень і смертельного наслідку. Патогенез вторинного імунодефіциту у пацієнтів з важкими травмами складний і включає вплив крово- і лімфовтрати, реактивного запалення у рані, перекисного окислення ліпідів, мікробної контамінації, болю, стресу, токсемії, медикаментозної терапії. Показано, що нестача аргініну, задіяного в синтезі оксиду азоту, може бути важливим предиктором розвитку імуносупресії у пацієнтів з важкими травмами, включаючи великі хірургічні операції [21].

Запропоновано термін “індукована травмою імуносупресія” (*injury-induced immunosuppression*), який підтриманий більшістю дослідників з цієї проблеми. Крім того, існує конкуруючий термін “посттравматич-

на імуносупресія” (*post-traumatic immunosuppression*) [11]. Така імуносупресія описана після різних видів травм, включаючи переломи кісток, вогнепальні поранення, хірургічні операції й опіки. Основною умовою для формування вторинного імунодефіциту є важкість травми, однак наявність передіснуючої імунної дисфункції, наприклад первинного дефіциту маннозов’язуючого білку [15], може зумовлювати формування важкої імуносупресії навіть при порівняно незначних травматичних пошкодженнях.

Розвиток дисбалансу в імунній системі пов’язаний з поширенням місцевого запального процесу з рани до кровотоку з виникненням синдрому системної запальної відповіді (*SIRS, systemic inflammatory response syndrome*), в основі якого лежить гіперпродукція прозапальних цитокінів – так званий “цитокіновий шторм”. Системне запалення призводить до формування імунозапальних ускладнень, серед яких

слід виділити синдром поліорганної дисфункції (*multiple organ dysfunction syndrome, MODS*) та синдром персистуючого запалення і катаболізму, пов'язаний з імунною супресією (*persistent inflammation and immune suppression catabolism syndrome, PICS*), а також впливає на швидкість загоєння ран і больову перцепцію [10]. У відповідь на запалення зазвичай формується компенсаторна антизапальна реакція, при надмірній активності якої формується синдром компенсаторної протизапальної відповіді (*compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS*), який асоційований з імуносупресією й інфекційними ускладненнями [5].

Раніше нами розроблена і опублікована принципова схема впливу типу імунореактивності організму людини на перебіг післятравматичного періоду на прикладі важких опіків (рис.).

Запальна реакція в рані має реактивну природу і покликана посилити місцеву резистентність і пришвидшити очищення і загоєння рани. Показано посилення експресії генів інтерлейкіну 1альфа, інтерлейкіну 1бета та фактору некрозу пухлини альфа після субретинальної трансплантації пігментних клітин сітківки, що було асоційовано з пришвидшеним загоєнням ділянок нанесеного пошкодження [3]. Однак у разі масивного травматичного ураження місцева запальна реакція може зазнати вторинної генералізації у зв'язку з вичерпанням компенсаторних

антизапальних механізмів, що має несприятливе прогностичне значення, оскільки супроводжується не посиленням імунітету, а, навпаки, пригніченням функції лімфоцитів і моноцитів. Індукована травмою системна запальна реакція може бути посилена бактеріємією, однак системне запалення неодноразово описане без бактеріального зараження крові, оскільки може розвиватися як імунорегуляторний розлад, пов'язаний з виснаженням антизапальних механізмів, або надходженням до крові ліпополісахаридів клітинних стінок бактерій, тобто ендотоксинемією. Тому акцентується увага на так званій стерильній посттравматичній імуносупресії [11].

Основою індукованої травмою імуносупресії є набута дисфункція Т-лімфоцитів, однак можуть розвиватися й інші порушення імунного статусу. Продемонстровані ознаки пригнічення функціональної активності Т-хелперів 1 типу з порушенням балансу цитокінів Т-хелперів 1 і 2 типів у пацієнтів після конвенційної холецистектомії [6]. Зниження кількості Т-лімфоцитів і природних кілерів у крові в ранній післяопераційний період пов'язаний з активацією шляху PD-1/PD-L1 [20]. Продемонстроване й транзиторне зменшення сироваткової концентрації імуноглобулінів класу G після гострого пошкодження головного мозку [14]. Продемонстровано зниження проліферативної активності Т-лімфоцитів та експресії на їх поверхні рецептору до інтерлейкіну 2 у пацієнтів

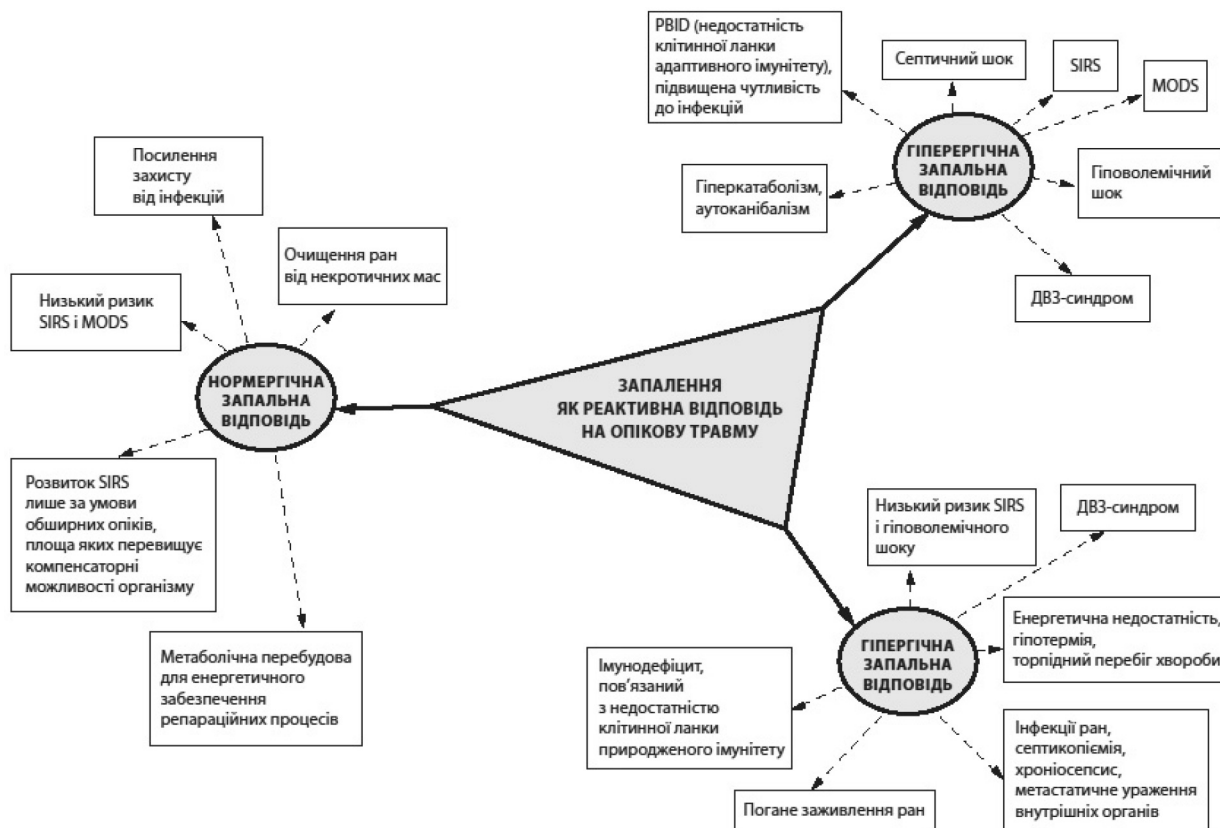


Рис. Клінічні наслідки при гіпер-, нормо- і гіпоергічній запальній відповіді у пацієнтів з тяжкими опіками [1]

з важкими опіками. Така імунна дисфункція призвела до подальшого пригнічення Т-залежного антигеногенезу, створюючи передумови до розвитку бактеріємії і сепсису [19]. У важких, прогностично несприятливих випадках формується феномен імунного паралічу, що проявляється ареактивністю імунної системи [17].

Показано, що скорочення обсягу травми при операції призводить до зменшення проявів посттравматичної імуносупресії. В такому разі відзначається більша кількість Т-лімфоцитів і природних кілерів в крові, вища оксидативна активність Т-клітин та концентрація імунохемокінів, включаючи 3 білок, що зв'язує інсуліновий фактор росту [16]. Акцентована увага на ролі моноцитів/макрофагів у розвитку індукованої травмою імуносупресії. Показано, що макрофаги рани важливі у процесах загоєння і профілактики інфекцій. У разі важких травм активність фагоцитозу, оксидативного вибуху та продукції цитокінів резидентними макрофагами виявляється порушеною, що може визначати подальший розвиток імуносупресії, зважаючи на участь цих клітин в антигенній презентації та імунорегуляції [12].

Імуносупресія може мати важливі клінічні наслідки у пацієнтів з травматичними пошкодженнями, зумовлюючи розвиток інфекційних та імунозапальних ускладнень. Так, повідомлено про розвиток загрозливого життя респіраторного дистрес-синдрому у пацієнта з компенсованим туберкульозом легень одразу ж після отримання травми голови [13].

Ряд наукових робіт присвячено пошуку біомаркерів системного запалення при травмі, окрім С-реактивного білку і прокальцитоніну, що застосовуються нині рутинно. Так, обстоюється доцільність визначення сироваткової концентрації *miRNA* у пацієнтів з політравмою як показника оксидативного стресу, що є наслідком процесів вільнорадикального окислення [4]. Раніше ми в контрольованому клінічному дослідженні вивчали інформативність використання сироваткової концентрації деяких про- і антизапальних цитокінів для оцінки важкості стану пацієнтів і прогнозування подальшого перебігу хвороби при важкій опіковій травмі. Показали, що гіперреактивність, пов'язана з надмірною продукцією фактору некрозу пухлини альфа, інтерлейкіну 1бета, інтерлейкіну 10 (більше 50 пг/мл), свідчить про підвищений ризик виникнення органних ускладнень, однак не асоційована з летальним наслідком, тоді як гіпо- і ареактивність (менше 10 і 5 пг/мл), за поширених і глибоких опіків, вказує на підвищений ризик летальності, інфекційних ускладнень, поганого загоєння ран і утворення рубців [2].

Якщо проблемі імуносупресії після переломів кісток, хірургічних операцій і опіків присвячено доволі багато наукових публікацій, то про вторинний імунодефіцит у пацієнтів з вогнепальними пораненнями існує обмаль інформації. Показано різке зростан-

ня сироваткової концентрації таких прозапальних цитокінів, як фактору некрозу пухлини альфа, інтерлейкіну 1бета та інтерлейкіну 6 вже через 75 хвилин після отримання вогнепального поранення. Якщо водночас відзначалася мікробна контамінація рани і пов'язана з цим експозиція ендотоксину, то сироваткова концентрація фактору некрозу пухлини альфа зростала в 100 разів, що було чинником ризику розвитку синдрому системної запальної відповіді [9]. Виявлені ознаки гіперреактивного запалення в цереброспінальній рідині, що спочатку призводило до імунної дисфункції та аллоїмунізації, а в подальшому – до імунного паралічу, у пацієнтів з вогнепальними пораненнями голови, включаючи пошкодження кісток черепа, мозкових оболонок, паренхіми мозку [18].

Було запропоновано ряд терапевтичних втручань для корекції вторинного імунодефіциту, зумовленого травмою, включаючи додавання аргініну до раціону для відновлення роботи аргініноксидази [21] і періоперативну інтерферонотерапію для модуляції функції Т-лімфоцитів [7]. В експериментальному рандомізованому контрольованому дослідженні на тваринах показана здатність гліцину знижувати надмірну активність запальної реакції у відповідь на важке вогнепальне поранення [8].

Мета: оцінити імунний статус у учасників АТО з важкими пошкодженнями нижніх кінцівок в перші дні після поранення.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досягнення поставленої мети ми провели ретроспективний аналіз результатів лабораторних імунологічних досліджень 10 бійців АТО, що отримали важкі пошкодження нижніх кінцівок в ході бойових дій. Клінічною базою було травматологічне відділення Львівської обласної лікарні.

Імунологічне дослідження включало вивчення показників загального аналізу крові, субпопуляційного складу лімфоцитів із застосуванням лазерної проточної цитофлуориметрії (цитофлуориметр *Epics XL*, США) і методу непрямої імуофлуоресценції з моноклональними антитілами до CD-маркерів з двома або трьома мітками (CD3+, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3–CD19+, CD3–CD16+CD56+, CD3+CD16+CD56+) (реактиви *Beckman Coulter*, США). Фагоцитоз оцінювали за даними латекс-тесту з визначенням показника фагоцитозу, фагоцитарного індексу, кількості активних фагоцитів і фагоцитарної ємності крові, а також – за вмістом мієлопероксидази в нейтрофілах (проточна цитофлуориметрія). Сироваткові концентрації імуноглобулінів основних класів (M, G, A) визначали за результатами простої радіальної імунодифузії за Манчіні. Концентрацію класів IgE, IgD та субкласів IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) в сироватці крові вимірювали за допомогою

твердофазного імуоферментного аналізу (реактиви ВекторБЕСТ, РФ).

Статистичну обробку отриманої інформації здійснювали за допомогою методів порівняльного і структурного аналізів з розрахунком середніх величин досліджуваних параметрів імунного статусу і їх похибок.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

За даними загального аналізу крові, у 5 із 10 обстежених пацієнтів відзначалася анемія, у 2 – з характеристиками залізодефіцитної (низький колірний показник, анізоцитоз, пойкилоцитоз), у 3 – з ознаками постгеморагічної (нормальний колірний показник за малої кількості еритроцитів і низької сироваткової концентрації гемоглобіну). Це була анемія легкого або середнього ступеня важкості, а не важка анемія, що відображало терапевтичні зусилля з лікування цього розладу. Таку анемію слід розцінювати не як виключно постгеморагічний або залізодефіцитний феномен, а як так звану анемію хронічного запалення, зважаючи на клінічну ситуацію та дані інших лабораторних тестів. У 5 пацієнтів відзначався лейкоцитоз, у одного – важка лейкопенія ($1,4 \times 10^9/\text{л}$), а в інших обстежених вміст лейкоцитів у периферичній крові на момент обстеження був нормальним. Лейкоцитоз зазвичай поєднувався з високою ШОЕ – на рівні 30–60 мм/год, що вказувало на реалізацію запального процесу у відповідь на травматичне пошкодження, інфікування, хірургічні втручання. Гіперзапальна реакція – перший етап імунореактивності на важке поранення. Лейкопенія, яка відзначалася у одного пацієнта, може бути розцінена як ознака імуносупресії, або імунного паралічу, що є відтермінованою фазою імунореактивності, яка відображає виснаження компенсаторних резервів організму. Інші 4 пацієнти, найбільш ймовірно, перебували у проміжній фазі переходу від гіперзапальної фази до імунного паралічу, хоча на результати досліджень могли вплинути застосовувані лікувальні втручання.

Оцінка імунного статусу вказує на ознаки імунної дизрегуляції у всіх обстежених пацієнтів, яку можна розцінити як компонент загального дезадапційного синдрому у пацієнтів, що отримали важке вогнепальне поранення. Нами оцінений фагоцитоз як основа природженого імунітету та клітинна і гуморальна ланка адаптивного імунітету. З-поміж досліджених ланок імунної системи найвиразніше ураження відзначалося саме в клітинній ланці адаптивного (набутого) імунітету, що відповідає іншим повідомленням, присвяченим посттравматичній імуносупресії [6, 20]. Кількість лімфоцитів, і відповідно, CD3+Т-клітин була зниженою у 6 із 10 обстежених. Підвищення абсолютної кількості Т-лімфоцитів, що могло бути розцінено як компенсаторна реакція у відповідь

на травму і мікробну контамінацію, не відзначалася в жодному випадку, навіть – у разі лейкоцитозу у формулі крові, що могло бути пов'язано з важкістю вогнепального поранення. Однак критично мала кількість Т-лімфоцитів відзначалася лише в одному випадку, тоді як в інших 5 пацієнтів мало місце помірне або легке зниження вмісту Т-лімфоцитів у периферичній крові. Серед субпопуляцій Т-лімфоцитів уражалися як CD4+ Т-хелпери, так і CD8+ цитотоксичні Т-лімфоцити, однак саме кілерні імунокомпетентні клітини, що під час імунної відповіді виконують здебільшого ефекторні, а не регуляторні функції, демонстрували виразніший дефіцит у порівнянні з Т-хелперами як у питомій вазі розладу (6 із 10 пацієнтів у порівнянні з 4 із 10 пацієнтів), так і в глибині дефіциту (30–40 % проти 10–20 % зниження від нижньої межі норми).

Природні кілери з фенотипом CD3-CD16+CD56+ є важливим компонентом клітинної ланки природженого імунітету. Природні кілерні Т-лімфоцити з фенотипом CD3-CD16+CD56+ є проміжним компонентом між природженим і набутим імунітетом. Ці клітини також наділені цитотоксичністю та імунорегуляторними функціями. Кількість природних кілерів виявилася зниженою у 5 із 10 обстежених, причому таке порушення не корелювало з дефіцитом Т-клітин. Мала кількість природних кілерних Т-лімфоцитів в периферичній крові відзначалася також у 5 із 10 обстежених осіб, однак – не обов'язково у комбінації з дефіцитом природних кілерів. Глибина дефіциту природних кілерів і природних кілерних Т-лімфоцитів у відносних величинах була більшою, ніж імунокомпетентних клітин (на 40–60 % від нижньої межі норми), однак в абсолютних величинах відзначалася виразніша нестача саме класичних CD3+ Т-лімфоцитів, оскільки і природні кілери, і природні кілерні Т-клітини є міноритарними субпопуляціями лімфоцитів людини. Таким чином, у пацієнтів з важкими вогнепальними пораненнями відзначається не тільки дефіцит пізньої клітинної адаптивної імунної відповіді, однак і порушення первинної ланки клітинного природженого імунітету, причому ці розлади не корелювали між собою і розвивалися у варіабельній манері. Кількість В-лімфоцитів була нормальною у переважній більшості пацієнтів, оскільки невелике зниження вмісту В-клітин відзначалося лише в 1 випадку.

Оцінка фагоцитозу за результатами латекс-тесту з розрахунком фагоцитарного числа, показника фагоцитозу, кількості активних фагоцитів і фагоцитарної ємності крові не виявила ознак дефіциту фагоцитозу в жодному випадку, однак здійснення функціонального дослідження, а саме – вивчення вмісту специфічного мікробіцидного ферменту мієлопероксидази, призвело до виявлення ознак послабленої перетравлювальної фази фагоцитарної реакції щонайменше у 5 із 10 обстежених осіб, причому – переважно у осіб з низькою кількістю Т-лімфоцитів, що відображає

уявлення про вторинний якісний розлад фагоцитозу при депресії клітинної ланки адаптивного імунітету через брак стимулюючих фагоцитоз імунних цитокінів, зокрема – гамма-інтерферону. Додаткова фагоцитарна дисфункція поглиблювала супресію клітинної ланки природженого і набутого імунітету в обстежених осіб і, найбільш ймовірно, підвищувала сприйнятливість до умовнопатогенної бактеріальної і грибової мікрофлори. Дефіцит мієлопероксидази нейтрофілів, очевидно, нівелював компенсаторний ефект нейтрофілозу у деяких пацієнтів.

При оцінці гуморального адаптивного імунітету відзначалися здебільшого протилежні зміни. Сироваткові концентрації основних класів і субкласів імуноглобулінів були підвищеними, а не зниженими, у ряду обстежених осіб. Так, найчастіше відзначалося збільшення кількості IgA у сироватці крові – у 5 із 10 пацієнтів, що могло відображати компенсаторне посилення місцевого імунітету дихальної системи і сечовивідних шляхів у виснажених, знерухомлених пацієнтів, у яких типовими ускладненнями є бронхіт, пневмонія, уроінфекція. У жодного пацієнта не виявили бодай щонайменшого зниження вмісту IgA у сироватці крові. Сироваткова концентрація загального IgG була вище норми у 4 із 10 пацієнтів і тісно корелювала зі зростанням вмісту гамма-фракції білку та рівня ШОЕ. У жодного з обстежених не виявлено дефіциту IgG, навіть у пацієнта з важкою лейкопенією. Гіперпродукція IgG, що призводить в подальшому до зростання ШОЕ, може бути розцінена, з одного боку, як прояв імунореактивності у відповідь на травматичне пошкодження і мікробну контамінацію рани, а з іншого – як компенсаторна реакція гуморальної ланки адаптивного імунітету у відповідь на супресію клітинного компонента природженого і набутого імунітету. Найбільш ймовірно, гіперпродукція імуноглобулінів зменшувала клінічні прояви клітин-

ного імунодефіциту, що відзначався у багатьох поранених. Однак такий дисбаланс міг мати і негативні наслідки. Так, наприклад, в контексті гіперімуноглобулінемії відзначалося щонайменше 4 випадки різкого зростання вмісту IgE в сироватці крові, що могло підвищити ризик алергічних реакцій за atopічним механізмом, включаючи гіперчутливість до медикаментів. Натомість ще у двох пацієнтів зареєстровано дуже малу сироваткову концентрацію IgE, що нагадувало фенотип первинного дефіциту IgE, однак відповідні генетичні тести не проводилися. Вміст субкласів IgG (IgG1, IgG2, IgG3 і IgG4) у сироватці крові був підвищеним у 3 із 7 пацієнтів, а в інших 7 осіб – відповідав нормативним значенням, що узгоджується з загальною тенденцією змін у гуморальному імунітеті обстежених пацієнтів. Концентрація IgM у сироватці крові була здебільшого нормальною. Підвищення вмісту IgM, так само як і зниження концентрації цього класу імуноглобулінів, відзначалося лише в одному випадку (табл.).

Отже, щонайменше у половини бійців АТО з важкими вогнепальними пораненнями нижніх кінцівок відзначаються ознаки індукованої травмою імуносупресії, основу якої складає дефіцит імунокомпетентних клітин – Т-лімфоцитів, який поєднується у тісній манері з функціональним розладом фагоцитозу – дефіцитом мієлопероксидази нейтрофілів, і у варіабельній манері – з дефіцитом цитотоксичних клітин природженого імунітету – природних кілерів і природних кілерних Т-лімфоцитів. Така імуносупресія супроводжується компенсаторною гіперпродукцією імуноглобулінів різних класів і субкласів, особливо – IgA та IgG, що, найбільш ймовірно, зменшує ризик важких інфекційних ускладнень, однак може бути асоційовано з підвищеним ризиком алергії та імунокомплексних уражень. Необхідні подальші клінічні дослідження з цієї проблеми для

Таблиця

Середні величини досліджуваних показників імунного статусу у пацієнтів з важкими вогнепальними пораненнями

Показник	X±m (n=10)	Референтні значення
CD3+ · 10 ⁹ /л	0,88±0,2	0,95–2,10
CD3+CD4+ · 10 ⁹ /л	0,55±0,2	0,60–1,34
CD3+CD8+ · 10 ⁹ /л	0,21±0,3	0,37–0,97
CD3-CD16+CD56 + · 10 ⁹ /л	0,13±0,09	0,20–0,37
CD3+CD16+CD56+ · 10 ⁹ /л	0,09±0,03	0,15–0,35
CD3-CD19+ · 10 ⁹ /л	0,24±0,07	0,11–0,38
IgM, г/л	1,1±0,3	0,8–1,6
IgG, г/л	17,3±5,1	6–15
IgG1, г/л	12,1±4,9	4,9–11,4
IgG2, г/л	6,6±2,2	1,5–6,4
IgG3, г/л	1,8±0,4	0,2–1,1
IgG4, г/л	1,7±0,4	0,08–1,4
IgA, г/л	3,6±0,7	0,6–2,5
IgE, МО/мл	112±7,8	30–100
ФЧ, у.о.	9,1±0,3	5–10
Мієлопероксидаза, %	72,4±5,9	>90%

уточнення попередніх даних. Отримані результати дозволяють рекомендувати апробацію пацієнтам з постравматичною імуносупресією додаткових імунотерапевтичних втручань із застосуванням препаратів рекомбінантних альфа- і гамма-інтерферонів людини, які потенційно можуть збільшити кількість і підвищити функціональну активність клітин природженого і набутого імунітету з посиленням експресії мієлопероксидази, забезпечивши належну компенсацію наявної імуносупресії. Результати раніше проведених досліджень вказують на користь від періопераційної інтерферонотерапії при індукованій травмою імуносупресії [7], тому є потреба у здійсненні подальших раціонально спланованих клінічних випробувань в цьому напрямці

ВИСНОВКИ

У половини бійців АТО з важкими вогнепальними пораненнями нижніх кінцівок відзначаються ознаки індукованої травмою імуносупресії, основу якої складає дефіцит імункомпетентних клітин – Т-лімфоцитів, який поєднується у тісній манері з функціональним розладом фагоцитозу – дефіцитом мієлопероксидази нейтрофілів, і у варіабельній манері – з дефіцитом цитотоксичних клітин природженого імунітету – природних кілерів і природних кілерних Т-лімфоцитів.

Така імуносупресія супроводжується компенсаторною гіперпродукцією імуноглобулінів різних класів і субкласів, особливо – IgA та IgG, що, найбільш ймовірно, зменшує ризик важких інфекційних ускладнень, однак може бути асоційовано з підвищеним ризиком алергії та імунотоксичних уражень.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Коваленко О.М., Мальцев Д.В., Казмірчук В.Є., Коваленко А.О. Вивчення динаміки цитокінів у потерпілих за тяжких опіків для оцінки тяжкості і прогнозу // *Клінічна хірургія*. – 2014. – № 2. – С. 49-53.
2. Мальцев Д.В., Коваленко О.М., Казмірчук В.Є. Цитокіни як біомаркери тяжкості стану хворих і прогнозування при опіках: нові терапевтичні можливості та переосмислення традиційних лікувальних підходів // *Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія*. – № 4 (73). – С. 27-36.
3. Abe T., Takeda Y., Yamada K. et al. Cytokine gene expression after subretinal transplantation. *Tohoku J. Exp. Med.* – 1999. – Vol. 189, No. 3. – P. 179–189.
4. Bedreag O.H., Sandesc D., Chiriac S.D. et al. The Use of Circulating miRNAs as Biomarkers for Oxidative Stress in Critically Ill Polytrauma Patients // *Clin. Lab.* – 2016. – Vol. 62, No. 3. – P. 263-274.
5. Binkowska A.M., Michalak G., Siotwieski R. Current views on the mechanisms of immune responses to trauma and infection. *Cent Eur J Immunol.* // 2015. – Vol. 40, No. 2. – P. 206-216.
6. Brune I.B., Wilke W., Hensler T. et al. Downregulation of T helper type 1 immune response and altered pro-inflammatory and anti-inflammatory T cell cytokine balance following conventional but not laparoscopic surgery // *Am. J. Surg.* – 1999. – Vol. 177, No. 1. – P. 55-60.
7. Bulava G.V., Abakumov M.M., Danielian Sh.N. et al. Immunoprophylaxis of postoperative inflammatory complications in thoracic and abdominal wounds // *Khirurgiia (Mosk)*. – 2002. – Vol. 7. – P. 4-10.
8. Gundersen Y., Vaagenes P., Os III., Pillgram-Larsen J. Capacity of glycine to modulate early inflammatory disturbances after serious gunshot injuries in the pig // *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* – 2007. – Vol. 67, No. 2. – P. 143-153.
9. Gundersen Y., Vaagenes P., Thrane I. et al. Response of circulating immune cells to major gunshot injury, haemorrhage, and acute surgery // *Injury*. – 2005 – Vol. 36, No. 8. – P. 949-955.
10. Hsing C.H., Wang J.J. Clinical implication of perioperative inflammatory cytokine alteration // *Acta Anaesthesiol Taiwan*. – 2015. – Vol. 53, No. 1. – P. 23-28.
11. Islam M.N., Bradley B.A., Ceredig R. et al. Sterile post-traumatic immunosuppression // *Clin. Transl. Immunology*. – 2016 – Vol. 5, No. 4. – e77.
12. Jedynak M., Siemiakowski A. The role of monocytes/macrophages and their cytokines in the development of immunosuppression after severe injury // *Pol Merkur Lekarski*. – 2002. – Vol. 13, No. 75. – P. 238–241.
13. Karapetsa M., Makris D., Mpaka M., Zakyntinos E. Acute respiratory failure from pulmonary tuberculosis due to head trauma immunosuppression // *Anaesth. Intensive Care*. – 2012. – Vol. 40, No. 2. – P. 361–362.
14. Liesz A., Roth S., Zorn M. et al. Acquired Immunoglobulin G deficiency in stroke patients and experimental brain ischemia // *Exp. Neurol.* – 2015. – Vol. 271. – P. 46-52.
15. Müller-Kristensen M., Ip W.K., Shi L., et al. Deficiency of mannose-binding lectin greatly increases susceptibility to postburn infection with *Pseudomonas aeruginosa* // *J. Immunol.* – 2006. – Vol. 176, No. 3. – P. 1769-1775.
16. Ng C.S., Lau K.K. Surgical trauma and immune functional changes following major lung resection // *Indian. J. Surg.* – 2015. – Vol. 77, No. 1. – P. 49-54.
17. Rouget C., Girardot T., Textoris J. et al. Biological markers of injury-induced immunosuppression // *Minerva Anesthesiol.* – 2016 [Epub ahead of print].
18. Starchenko A.A., Khil'ko V.A., Khlunovskii A.N. et al. The immune reactions of the cerebrospinal fluid in

- victims of gunshot wounds of the skull and brain in relation to the treatment procedure and outcome // Zh. Vopr. Neirokhir. Im. N. N. Burdenko. – 1994. – No. 1. – P. 23-26.
19. Teodorczyk-Injeyan J.A., Sparkes B.G., Mills G.B. et al. Impairment of T cell activation in burn patients: a possible mechanism of thermal injury-induced immunosuppression // Clin. Exp. Immunol. – 1986. – Vol. 65, No. 3. – P. 570-581.
20. Xu P., Zhang P., Sun Z. et al. Surgical trauma induces postoperative T-cell dysfunction in lung cancer patients through the programmed death-1 pathway // Cancer. Immunol. Immunother. – 2015. – Vol. 64, No. 11. – P. 1383-1392.
21. Zhu X., Herrera G., Ochoa J.B. Immunosuppression and infection after major surgery: a nutritional deficiency // Crit. Care Clin. – 2010. – Vol. 26, No. 3. – P. 491-500.

Отримано 09.04.2017

ОЦЕНКА ИММУННОГО СТАТУСА У УЧАСТНИКОВ АТО С ТЯЖЕЛЫМИ ПОВРЕЖДЕНИЯМИ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

¹Мальцев Д.В., ²Медзин В.И.

¹Институт экспериментальной и клинической медицины НМУ имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

²Военно-медицинский клинический центр Западного региона, Киев, Украина

Актуальность. Посттравматическая иммуносупрессия в острый период после травмы является независимым фактором риска развития осложнений и смертельного исхода.

Цель: оценить иммунный статус у участников АТО с тяжелыми повреждениями нижних конечностей в первые дни после ранения.

Материалы и методы. У 10 бойцов АТО изучали показатели общего анализа крови, субпопуляционного состава лимфоцитов с применением лазерной проточной цитофлуориметрии и метода непрямой иммунофлюоресценции с моноклональными антителами к CD-маркерам с двумя или тремя метками. Фагоцитоз оценивали по данным латекс-теста с определением показателя фагоцитоза, фагоцитарного индекса, количества активных фагоцитов и фагоцитарной емкости крови, а также по содержанию миелопероксидазы в нейтрофилах (проточная цитофлуориметрия). Сывороточные концентрации иммуноглобулинов М, G, А определяли по результатам простой радиальной иммунодиффузии по Манчини. Концентрацию IgE, IgD, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) измеряли с помощью твердофазного иммуноферментного анализа. Статистическую обработку осуществляли с помощью методов сравнительного и структурного анализа с расчетом средних величин параметров иммунного статуса и их погрешностей.

Результаты. У 5 пациентов отмечалась анемия, у 5 – лейкоцитоз, у 1 – лейкопения. Лейкоцитоз сочетался с высокой СОЭ 30–60 мм / ч. Гипервоспалительная реакция расценена как первый этап иммунореактивности на тяжелое ранение, а лейкопения – как признак иммуносупрессии. 4 пациента находились в промежуточной фазе перехода от гипервоспалительной фазы к иммунному параличу. Иммунная дисрегуляция является компонентом дезадаптационного синдрома. Количество лимфоцитов, CD3+ Т-клеток снижена у 6 человек. Среди субпопуляций Т-лимфоцитов поражались как CD4+ Т-хелперы, так и CD8+ цитотоксические Т-лимфоциты. Количество естественных киллеров с фенотипом CD3-CD16+ CD56+ снижено у 5 человек, причем такое нарушение коррелировало с дефицитом Т-клеток. Количество В-лимфоцитов нормальное. Не выявлено признаков дефицита фагоцитоза. Ослаблено фагоцитарное переваривание у 5 человек с малым количеством Т-лимфоцитов. Фагоцитарная дисфункция усугубляла супрессию клеточного звена врожденного и приобретенного иммунитета и повышала восприимчивость к условно-патогенной бактериальной и грибковой микрофлоре. Дефицит миелопероксидазы нейтрофилов нивелировал компенсаторный эффект нейтрофилёза. Увеличены IgA у 5 человек, IgG – у 4. Содержание субклассов IgG (IgG1, IgG2, IgG3 и IgG4) повышено у 3 пациентов. Концентрация IgM нормальная.

Выводы. Травма индуцирует иммуносупрессию, в основе которой дефициты Т-лимфоцитов, миелопероксидазы нейтрофилов, естественных киллеров и природных киллерных Т-лимфоцитов. Иммуносупрессия сопровождается компенсаторной гиперпродукцией иммуноглобулинов, особенно IgA и IgG, снижает риск тяжелых инфекционных осложнений, однако может быть ассоциирована с повышенным риском аллергии и иммунокомплексных поражений.

Ключевые слова: огнестрельные ранения, иммуносупрессия, иммунотерапия.

EVALUATION OF THE IMMUNE STATUS OF THE PARTICIPANTS ATO WITH SEVERE INJURIES OF THE LOWER EXTREMITIES

¹Maltsev D.V., ²Medzyn V.I.

¹Institute of Experimental and Clinical Medicine at the O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

²The Military Medical Clinical Center of the Western Region, Kyiv, Ukraine

Relevance. Post-traumatic immunosuppression in the acute period after injury is an independent risk factor for the development of complications and mortality.

The aim: To assess the immune status of ATO participants with severe damage to the lower extremities in the first days after injury.

Materials and methods. In 10 ATO fighters, indicators of general blood count, subpopulation composition of lymphocytes using laser flow cytometry and indirect immunofluorescence with monoclonal antibodies to CD-markers with two or three labels were studied. Phagocytosis was evaluated according to the latex test with the definition of the index of phagocytosis, phagocytic number, the number of active phagocytes and phagocytic blood volume, as well as the content of myeloperoxidase in neutrophils (flow cytometry). The serum concentrations of the immunoglobulins M, G, A were determined from the results of simple radial immunodiffusion according to Mancini. Concentration of IgE, IgD, IgG (IgG1, IgG2, IgG3, IgG4) was measured using a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay. Statistical processing was carried out using methods of comparative and structural analysis with the calculation of average values of immune status parameters and their errors.

Results. 5 patients had anemia, 5 – leukocytosis, 1 – leukopenia. Leucocytosis was combined with a high ESR of 30-60 mm / h. Hyperinflammatory reaction is considered as the first stage of immunoreactivity in severe injuries, and leukopenia is a sign of immunosuppression. 4 patients were in the intermediate phase of the transition from the hyperinflammatory phase to the immune paralysis. Immune dysfunction is a component of the disadaptation syndrome. The number of lymphocytes, CD3 + T cells decreased in 6 people. Among the sub-populations of T-lymphocytes, they were affected as CD4 + T-helper cells, as well as CD8 + cytotoxic T-lymphocytes. The number of natural killers with the CD3-CD16+CD56+ phenotype was reduced to 5, and this violation did not correlate with the deficiency of T cells. The number of B-lymphocytes is normal. Phagocytic digestion is weakened in 5 people with a small number of T-lymphocytes. Phagocytic dysfunction intensified the suppression of the cellular part of the inborn and acquired immunity and increased susceptibility to conditionally pathogenic bacterial and fungal microflora. The deficiency of myeloperoxidase of neutrophils is offset by the compensatory effect of neutrophilosis. Increased IgA was in 5, IgG in 4 patients. Content of IgG subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4) is elevated in 3 patients. Concentration of IgM is normal.

Conclusions. Injury induces immunosuppression, which is based on deficiencies of T-lymphocytes, myeloperoxidases of neutrophils, natural killers and natural killer T-lymphocytes. Immunosuppression is accompanied by compensatory overproduction of immunoglobulins, especially IgA and IgG, which reduces the risk of severe infectious complications, but may be associated with an increased risk of allergy and immunocomplex lesions.

Key words: firearms wound, immunosuppression, immunotherapy.

АНАЛІЗ ТРОМБОЦИТАРНИХ ПАРАМЕТРІВ ГЕМОГРАМИ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЇХ ІНФОРМАТИВНОСТІ

Черновол П.А., Натрус Л.В.

НДІ експериментальної та клінічної медицини НМУ імені О.О.Богомольця, Київ, Україна
lnatrus777@gmail.com

Рецензенти: проф. Зяблицев С.В., проф. Панова Т.І.

Актуальність. Поширення автоматичних цифрових гематологічних аналізаторів в клініках диктує необхідність повноцінної інтерпретації і зіставлення всіх численних показників гемограми, зокрема пошуку кореляції між тромбоцитарними індексами та станом тромбоцитарної ланки пацієнта з точки зору небезпеки виникнення порушень в системі гемостазу.

Мета: дослідити кореляційний зв'язок тромбоцитарних параметрів і його клінічну інформативність.

Матеріали та методи. Проведений ретроспективний аналіз тромбоцитарних параметрів гемограм дорослих пацієнтів (n=283). 1 група (скрінінгова) (n=197) – пацієнти поліпрофільної клініки з різними захворюваннями, але без гострої кровотечі чи невідкладного стану. 2 група (n=30) – хворі на цукровий діабет 2 типу тривалого строку лікування та наявністю мікроциркуляторних ускладнень. 3 група (n=26) – пацієнти стоматологічної клініки без порушень з боку системи гемостазу, прийому антикоагулянтів та нестероїдних протизапальних засобів, супутніх соматичних захворювань. 4 група (n=30) – здорові добровольці. Досліджували загальну кількість тромбоцитів (PLT), середній об'єм тромбоцитів (MPV), дисперсію розподілу тромбоцитів за об'ємом (PDW), тромбокрит (PCT). Середні значення PLT, MPV, PCT порівнювали відносно показників четвертої групи. Дані обробляли за допомогою програми MedCalc. Використовували критерій Ст'юдента та показник рангової кореляції Спірмена.

Результати. Статистично достовірно (за критерієм Ст'юдента) відрізнялися показники PLT та PCT в групі 2. Інші співставлення не виявили достовірної відмінності. Між показниками PLT і MPV був визначений кореляційний зв'язок з показником рангової кореляції Спірмена (r), на рівні значущості $<0,01$. В групі 1 він складав $r = -0,522$; в групі 2 $r = -0,579$; в групі 3 $r = 0,638$; в групі 4 $r = -0,666$. Існування негативного зв'язку відображає зворотну залежність між кількістю тромбоцитів і їх розмірами. У людей різного віку і стану здоров'я, які *a priori* мають різний стан активності тромбоцитарної ланки і суттєві порушення метаболізму, показник тромбокрити знаходиться в жорстких межах, а його зміна практично відсутня.

Висновок. Розвиток патологічного стану викликає мінімальне коливання тромбокрити. Відсутність значного коливання тромбокрити при різних захворюваннях характеризує даний показник як жорстку константу гомеостазу.

Ключові слова: тромбоцити, тромбокрит, кореляційний зв'язок, гомеостаз.

Актуальність. Тромбоцити відіграють найважливішу роль в забезпеченні цілісності судин, активно беруть участь в утворенні тромбів в місцях ушкодження судин, ініціюють подальший процес утворення нерозчинного фібрину для репарації судинної стінки. При відсутності ушкодження судин, ці елементи не менш важливі, тому що забезпечують фізіологічну регенерацію судинної стінки [2, 9, 15].

За рахунок особливої організації, тромбоцити легко вбудовуються в мембрану ендотеліальної клітини, виділяють активні речовини, в тому числі трансформуючий фактор росту бета (TGF- β), фактор росту ендотелію судин (VEGF), тромбоцитарний фактор росту (PDGF) та інші (IGF-1, FGF, EGF) [5, 6, 9, 12, 13]. Гранули тромбоцитів також є джерелом цитокінів, хемокінів та багатьох інших протеїнів, що стимулюють проліферацію та дозрівання клітин, модулюють запальну реакцію [11, 14].

В той же час зайва активність тромбоцитів, або тромбоцитоз, можуть викликати патологічне, спонтанне тромбоутворення і привести до тромбозу судин. Вважається, що тромбоцитоз є і фактором, і предиктором претромботичного стану, яке без належної антиагрегантної терапії може привести до

тромбозу [8, 11]. Також, є думка, що формування тромбів більшою мірою визначається не кількістю самих елементів, а функціональною активністю клітин, спроможністю їх до агрегації, особливістю експресії рецепторів, кількістю, вмістом гранул та ін. [2, 6, 12].

Серед методів оцінки функціональної активності тромбоцитів "золотим стандартом" залишається агрегатометрія [3, 10, 12]. Невисока популярність цього дослідження в більшості лабораторій пояснюється, перш за все, відсутністю стандартизації метода, що утруднює однозначну інтерпретацію отриманих результатів, а також значними витратами часу, вимогами для переданалітичної підготовки проб для дослідження. Однак, при виконанні дослідження крові на гематологічному аналізаторі в гемограмі визначається мінімум п'ять тромбоцитарних показників. На жаль, доводиться визнати, що сьогодні в клініці їх інтерпретація зводиться тільки до аналізу загальної кількості тромбоцитів (*platelets* – PLT). Інші параметри, які характеризують морфофункціональні особливості кров'яних пластинок, практично не використовуються в широкій практиці клініциста.

Поширення гематологічних аналізаторів в клініках диктує необхідність зіставлення всіх показ-

ників гемограми, виявлення кореляції між тромбоцитарними індексами та станом тромбоцитарної ланки пацієнта для повноцінної інтерпретації аналізу та інформованості клініциста про можливу загрозу виникнення порушень в системі гемостазу [1, 7, 8].

Аналіз літературних джерел показує, що сьогодні немає єдиної думки щодо інтерпретації тромбоцитарних показників гемограми. Більш того, зустрічаються і зовсім суперечливі висловлювання. Найбільш дискусійним питанням є кореляція між показниками анізоцитозу тромбоцитів – середнього об'єму тромбоцитів (*mean platelet volume* – MPV), дисперсії розподілу тромбоцитів за об'ємом (*platelet distribution width* – PDW), тромбокрити (*plateletcrit* – PCT) і активністю тромбоцитів, як основного фактора активзації коагуляції [15].

Проводилося визначення середніх значень показників тромбоцитів (MPV, PDW, PCT) з диференціюванням за статтю, віком пацієнтів із загальною кількістю тромбоцитів. Визначався вплив гіпертонії, цукрового діабету (ЦД), а також інгібіторів агрегації тромбоцитів, антикоагулянтів, антигіпертензивних і гіпоглікемічних препаратів на зміни параметрів тромбоцитів. Не виявилось очікуваних відмінностей тромбоцитарних параметрів у хворих із різноманітною патологією [4]. Суперечливі дані були отримані і відносно PCT.

Тромбокрит – показник, що характеризує сумарний об'єм тромбоцитів в загальному об'ємі крові. Обчислюється помноженням MPV на PLT, що, в свою чергу, повинно дорівнювати прямо вимірному об'єму тромбоцитів. Вірогідно, предиктором претромботичного стану є не тільки кількість тромбоцитів, а їх загальний об'єм.

Показано, що існує зворотна залежність між кількістю тромбоцитів і значенням MPV [1, 4, 7, 8]. Тобто, показник тромбокрити у здорової людини прагне залишитися стабільним: при зменшенні числа тромбоцитів посилюється тромбоеоз, в кровоток викидається більша кількість молодих, більш крупних за розміром – “макротромбоцитів”, що веде до тимчасового збільшення MPV. При збільшенні кількості циркулюючих тромбоцитів знижується продукція їх в кістковому мозку, тим самим зменшується відсоток великих тромбоцитів і відповідно зменшується MPV. Нормальні значення PCT варіюють в межах $(0,15-0,32) \times 10^{-2}/л$. До речі, PCT в деяких аналізаторах визначається через відсоток об'єму, але при цьому принцип розрахунку і межі референтного інтервалу залишаються – 0,15–0,32 %. Можна припустити, що при порушенні цієї рівноваги відбувається збільшення або зменшення PCT, що призводить до патології первинного гемостазу і ризику виникнення кровотечі або тромбозів.

Мета: дослідити кореляційний зв'язок тромбоцитарних параметрів і його клінічну інформативність.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Був проведений ретроспективний аналіз даних результатів клінічного аналізу крові 283 дорослих пацієнтів, які склали 4 групи.

У першу групу – скрінінгову – увійшли 197 пацієнтів поліпрофільної клініки за 2 місяці. Пацієнти за гендерною ознакою розподілилися наступним чином: 32 % чоловіки і 68 % жінки. Вік обстежених в межах 26–74 років (середній вік $49,3 \pm 3,67$ років). Розподіл на групи навмисне не проводився. Пацієнти мали різні патологічні стани на різних стадіях захворювання, але без гострої кровотечі чи невідкладного стану. У 16 % визначався лейкоцитоз (понад $9,1 \times 10^9/л$). Найнижчий показник еритроцитів складав $2,9 \times 10^{12}/л$ і визначався у 1 особи. В основному це були пацієнти кардіологічного та урологічного відділень, амбулаторні хворі поліклінічного прийому, а також у дану вибірку увійшли здорові люди, яких обстежували при проведенні профогляду.

Другу групу склали 30 хворих на ЦД 2 типу тривалого строку лікування та наявністю мікроциркуляторних ускладнень у вигляді діабетичної ретинопатії. Венозну кров забирали у спеціалізованому клінічному відділенні. Чоловіки становили 50 % від загальної кількості обстежених. Середній вік пацієнтів складав $56,9 \pm 9,2$ років, середній стаж ЦД 2 типу в групі $16,6 \pm 3,7$ років, рівень глюкози крові на момент обстеження $11,55 \pm 1,09$ ммоль/л.

В третю групу було включено 26 пацієнтів, що лікувалися на базі стоматології з приводу посттравматичних та післяопераційних дефектів верхньої та нижньої щелепи, віком від 17 до 70 років. Середній вік хворих склав $36,2 \pm 13,4$ років. Чоловіки становили 43,3 % від загальної кількості обстежених. Особливістю цих пацієнтів біла відсутність порушень з боку системи гемостазу, відсутність прийому антикоагулянтів та нестероїдних протизапальних засобів, супутніх соматичних захворювань, які б заважали проведенню планового операційного втручання.

Четверту групу у 30 осіб склали студенти-добровольці віком 21–23 роки, яких за станом та анамнезом ми вважали умовно здоровими. Середній вік в групі $21,72 \pm 0,15$ років, чоловіки становили 50 %.

Всім хворим було виконане клініко-лабораторне дослідження, що включало клінічний аналіз крові (18 показників) на гематологічному аналізаторі (ADVIA 120, Франція; MicroCC, Китай). Для статистичної обробки даних ми використовували критерій Стюдента та показник рангової кореляції Спірмена, який обчислювали за допомогою програми MedCalc.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В першій групі (скрінінговій) кількість тромбоцитів коливалася з $75 \times 10^9/л$ до $792 \times 10^9/л$, середне

значення PLT дорівнювало $(245 \pm 4,7) \times 10^9/\text{л}$. Показник MPV в групі коливався від 7,3 fL до 14,6 fL, середнє значення MPV складало $8,6 \pm 0,06$ fL. Варіабельність PCT була від 0,07 % до 0,59 %, із середнім значенням $0,21 \pm 0,004$ %.

При статистичній обробці результатів програмою MedCalc, в першій групі виявлена середня кореляційна залежність між PLT і MPV. Коефіцієнт кореляції рангів Спірмена $r = -0,522$ р з рівнем значущості $p < 0,01$ (рис. 1, А).

В другій групі (хворих на ЦД 2 типу) кількість тромбоцитів коливалася з $161 \times 10^9/\text{л}$ до $451 \times 10^9/\text{л}$, середнє значення PLT дорівнювало $(291 \pm 14,2) \times 10^9/\text{л}$. Показник MPV в групі коливався від 7,3 fL до 10,4 fL, середнє значення MPV складало $8,68 \pm 0,13$ fL. Варіабельність PCT була від 0,147 % до 0,443 %, із середнім значенням $0,25 \pm 0,01$ %.

При статистичній обробці результатів програмою MedCalc, в другій групі виявлена середня кореляційна залежність між PLT і MPV. Коефіцієнт кореляції рангів Спірмена $r = -0,579$ р з рівнем значущості $p < 0,01$ (рис. 1, Б).

В третій групі (хворих стоматологічної клініки) кількість тромбоцитів коливалася з $133 \times 10^9/\text{л}$ до $407 \times 10^9/\text{л}$, середнє значення PLT дорівнювало $(261,2 \pm 10,7) \times 10^9/\text{л}$. Показник MPV в групі коливався від 7,6 fL до 12,0 fL, середнє значення MPV складало $8,8 \pm 0,19$ fL. Варіабельність PCT була від 0,125 % до 0,353 %, із середнім значенням $0,23 \pm 0,008$ %.

При статистичній обробці результатів програмою MedCalc, в третій групі виявлена середня кореляційна залежність між PLT і MPV. Коефіцієнт кореляції рангів Спірмена $r = -0,638$ р з рівнем значущості $p < 0,01$ (рис. 1, В).

В четвертій групі (умовно здорові студенти) кількість тромбоцитів коливалася з $176 \times 10^9/\text{л}$ до $426 \times 10^9/\text{л}$, середнє значення PLT дорівнювало $(254,2 \pm 9,3) \times 10^9/\text{л}$. Показник MPV в групі коливався від 7,4 fL до 10,3 fL, середнє значення MPV складало $8,84 \pm 0,12$ fL. Варіабельність PCT була від 0,160 % до 0,330 %, із середнім значенням $0,22 \pm 0,006$ %.

При статистичній обробці результатів програмою MedCalc, в четвертій групі виявлена середня кореляційна залежність між PLT і MPV. Коефіцієнт кореляції

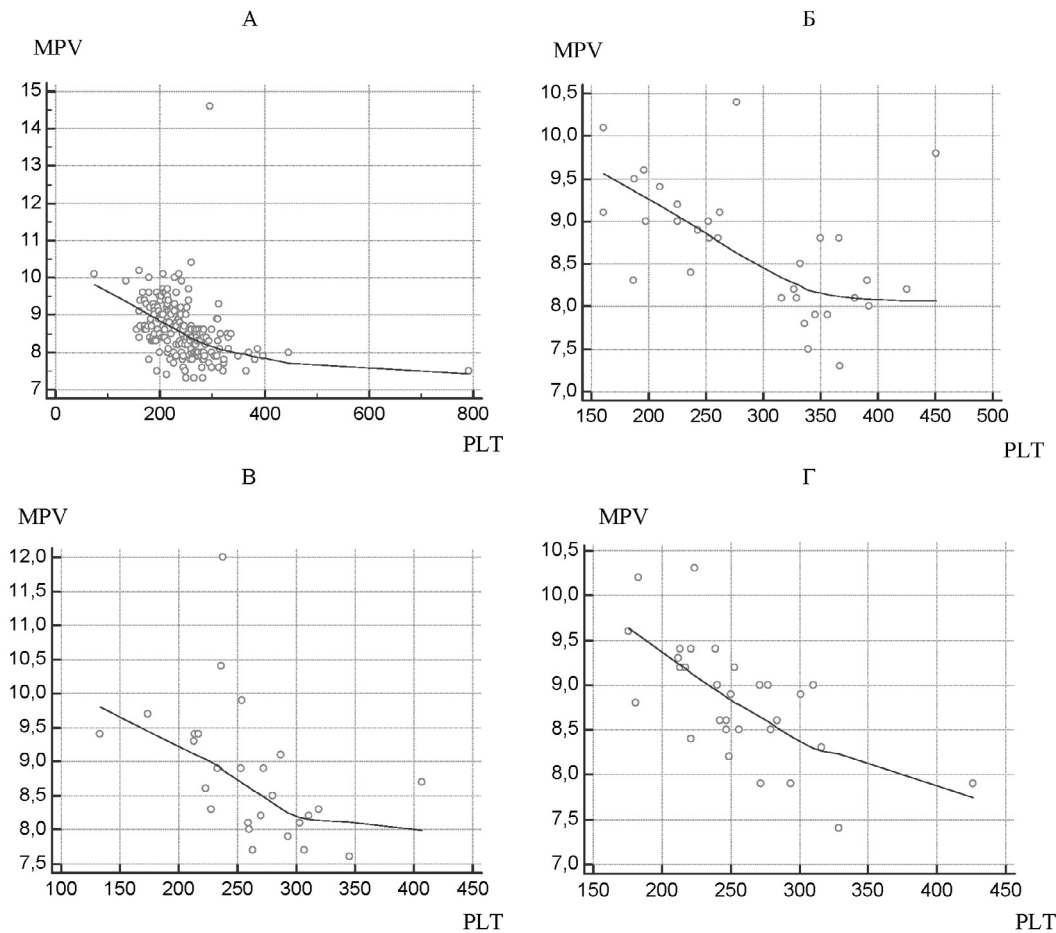


Рис. Кореляційна залежність між показниками гемограми MPV (вісь абсцис) та PLT (вісь ординат):

А – 1 група (скрінінгова), поліпрофільні пацієнти ($n=197$), $r = -0,522$.

Б – 2 група, пацієнти з ЦД 2 типу ($n=30$), $r = -0,579$.

В – 3 група, пацієнти стоматологічної клініки ($n=26$), $r = -0,638$.

Г – 4 група, умовно здорові добровольці ($n=30$), $r = -0,666$.

Показники тромбоцитів у пацієнтів з різними захворюваннями із визначенням кореляційного зв'язку між ними

Група пацієнтів	PLT (M±m)·10 ⁹ /л	MPV M±m fL	PCT, M±m %	Показник рангової кореляції Спірмена між PLT та MPV
Поліпрофільні, n = 197	245,9±4,7	8,6±0,06	0,21±0,004	r = -0,522
ЦД 2 типу, n = 30	291,8±14,2*	8,68±0,13	0,25±0,01 *	r = -0,579
Стоматологічні, n = 26	261,2±10,7	8,8±0,19	0,23±0,008	r = -0,638
Умовно здорові, n = 30	254,7±9,3	8,84±0,12	0,22±0,006	r = -0,666

Примітка: * – статистично достовірна різниця порівняно з відповідним показником умовно здорових добровольців (p < 0,05)

ляції рангів Спірмена $r = -0,666$ р з рівнем значущості $p < 0,01$ (рис. 1, Г).

Середні значення PLT, MPV, PCT ми порівняли відносно відповідних показників четвертої групи, спираючись на те, що показники студентів ми прийняли за контроль (таблиця). Виявили, що статистично достовірно (за критерієм Ст'юдента) відрізнялися показники PLT та PCT в групі 2. Інші співставлення не виявили достовірної відмінності.

Між показниками PLT і MPV був визначений кореляційний зв'язок. Існування негативного зв'язку відображає зворотну залежність між кількістю тромбоцитів і їх розмірами. Більш того, ці показники знаходяться в середній кореляційній залежності (показник рангової кореляції Спірмена в межах $0,5 < r < 0,7$), що пояснює відсутність пластичності індексу тромбоцитів.

Зміна форми та розмірів тромбоцитів за рахунок активації мембрани, формування псевдоподій, деградуляції і т.п., тобто тих процесів, які лежать в основі ініціації прокоагулянтних механізмів відбувається вже після адгезії клітини і контакту із структурами ендотелію при участі фактору Віллебранда. Саме тому, на нашу думку, очікувати відображення пойкилоцитозу або метаморфозу тромбоцитів при дослідженні периферичного кровотоку не доцільно. Але *a priori* ми вважали, що саме таким чином, як інтенсивність еритропоезу впливає на показники MCV, RDW, HTC, і зміна розміру тромбоцитів може характеризувати активацію та зміни інтенсивності тромбоцитопоезу, як маркер прокоагулянтної активності, ризику формування тромбозу або кровотечі. Але ми не виявили достовірного коливання тромбоцитарних показників в таких різноманітних групах. Ми були здивовані тим фактом, що у людей різного віку і стану здоров'я, що *a priori* мають різний стан активності тромбоцитарної ланки, а також суттєві порушення метаболізму, показник тромбоцитів знаходиться в таких жорстких межах, а його зміна практично відсутня.

Ми вважаємо, що це питання потребує вивчення, але відсутність значного коливання тромбоцитів у обстежених пацієнтів може характеризувати даний показник як жорстку константу гомеостазу. Відомо, що для збереження сталості внутрішнього середовища організм забезпечений досить потужними механі-

змами прямого та зворотного зв'язку. Система гомеостазу у вигляді тканинних та плазматичних тригерів і складного біохімічного каскаду реакцій, що забезпечує збалансованість коагулянтної та антикоагулянтної систем, є прикладом найбільш досконалої саморегуляторної системи управління. Вірогідно, навіть в стані розвитку патології коливання цього балансу є мінімальними. Тому тромбоцитів утримується в дуже жорстких межах шляхом регуляції тромбоцитогенезу і наявності в периферичній крові певної кількості клітин із відповідними морфологічними властивостями.

ВИСНОВКИ

Розвиток патологічного стану викликає мінімальне коливання тромбоцитів.

Відсутність значного коливання тромбоцитів при різних захворюваннях характеризує даний показник як жорстку константу гомеостазу.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття виконана в рамках фундаментальної НДР (№ Держ. реєстрації 0116U004902), що фінансується за рахунок коштів державного бюджету України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Bath P.M., Butterworth R.J. Platelet size: measurement, physiology and vascular disease. Blood Coagulation and Fibrinolysis. – 1996. – Vol. 7, No. 2. – P. 157-161.
2. Comparison of the platelet concentrate collection system with the plasma-rich-in-growth-factors kit to produce platelet-rich plasma: a technical report / G. Wehrich, W.K. Kleis, W.E. Hitzler, G. Hafner // J. Oral. Maxillofac. Implants. – 2005. – Vol. 20, No. 1. – P. 118-123.
3. Evaluation of a whole blood remote platelet function test for the diagnosis of mild bleeding disorders / N. Dvlatova, M. Lordkipanidze, G.C. Lowe [et al] // J. Thromb. Haemost. – 2014. – Vol. 12, No. 5. – P. 660-665.
4. Giovanetti T.V. Platelet indices: laboratory and clinical applications / T.V. Giovanetti, A. Josy do Nascimento, J. Padilha de Paula // Rev. Bras. Hematol. Hemoter. – 2011. – Vol. 33, No. 2. – P. 164-165.

5. Holmes D.I.R. The vascular endothelial growth factor (VEGF) family: antigenic factors in health and disease / D.I.R. Holmes, I. Zachary // *Genom Biology*. – 2005. – Vol. 6, No. 2. – Art. 209.
6. Hsu C. W. The negative effect of platelet-rich plasma on the growth of human cells is associated with secreted thrombospondin-I / C. W. Hsu, K. Yuan, C.C. Tseng // *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.* – 2009. – Vol. 107, No. 2. – P. 185-192.
7. Jackson S.R., Carter J.M. Platelet volume: laboratory measurement and clinical application // *Blood Rev.* – 1993, Vol. 7, No. 2. – P. 104-113.
8. Michelson A.D., Furman M.I. Laboratory markers of platelet activation and their clinical significance // *Curr Opin Hematol.* – 1999. – Vol. 6, No. 5. – P. 342-348.
9. Platelet concentration in platelet concentrates and periodontal regeneration-unscrambling the ambiguity / A. Suchetha, P Lakshmi, D. Bhat [et al] // *Bharwani Con temp. Clin. Dent.* – 2015. – Vol. 6, No. 4. – P. 510-516.
10. Platelet function tests: a comparative review / R. Paniccia, R. Priora, A. Alessandrello [et al] // *Vasc Health Risk Manag.* – 2015. Vol. 11. – P. 133-148.
11. Platelet-rich plasma from basic science to clinical applications / T.E. Foster, B.I. Puskas, B.R. Mandelbaum [et al] // *American Journal of Sports Medicine.* – 2009. – Vol. 37, No. 11. – P. 2259-2272.
12. Podda G. Current and emerging approaches for evaluating platelet disorders / G. Podda, E.A. Femia, M. Cattaneo // *Int J Lab Hematol.* – 2016. – Vol. 38, Suppl 1. – P. 50-58.
13. Regenerative surgery performed with platelet-rich plasma used in sinus lift elevation before dental implant surgery: an useful aid in healing and regeneration of bone tissue / F. Inchingolo, M. Tattullo, M. Marrelli // *Fur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* – 2012. – Vol. 16, No. 9. – P. 1222-1226.
14. The risk of false results in the assessment of platelet function in the absence of antiplatelet medication: comparison of the PFA-100, multiplate electrical impedance aggregometry and verify now assays / M.M. Can, I.H. Tanbopa [et al] // *Thromb Res.* – 2010. – Vol. 125, No. 4. – P.132-137.
15. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review / C.E. Sommeling, A. Heyneman, H. Hoeksema [et al] // *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery.* – 2013. – Vol. 66, No.3. – P. 301-311.

Отримано 19.06.2017

АНАЛИЗ ТРОМБОЦИТАРНЫХ ПАРАМЕТРОВ ГЕМОГРАММЫ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИХ ИНФОРМАТИВНОСТИ

Черновол П.А., Натрус Л.В.

НИИ экспериментальной и клинической медицины НМУ имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Распространение автоматических цифровых гематологических анализаторов в клиниках диктует необходимость полноценной интерпретации и сопоставления всех многочисленных показателей гемограммы, в частности поиска корреляции между тромбоцитарными индексами и состоянием тромбоцитарного звена пациента с точки зрения опасности возникновения нарушений в системе гемостаза.

Цель: исследовать корреляционную связь тромбоцитарных параметров и её клиническую информативность.

Материалы и методы. Проведен ретроспективный анализ тромбоцитарных параметров гемограмм взрослых пациентов (n=283). 1 группа (скрининговая) (n=197) – пациенты полипрофильной клиники с различными заболеваниями, но без острого кровотечения или неотложных состояний. 2 группа (n=30) – больные сахарным диабетом 2 типа длительного срока лечения и наличием микроциркуляторных осложнений. 3 группа (n=26) – пациенты стоматологической клиники без нарушений со стороны системы гемостаза, приема антикоагулянтов и нестероидных противовоспалительных средств, сопутствующих соматических заболеваний. 4 группа (n=30) – здоровые добровольцы. Изучали общее количество тромбоцитов (PLT), средний объем тромбоцитов (MPV), дисперсию распределения тромбоцитов по объему (PDW), тромбокрит (PCT). Средние значения PLT, MPV, PCT сравнивали относительно показателей четвертой группы. Данные обрабатывали с помощью программы MedCalc. Использовали критерий Стьюдента и показатель ранговой корреляции Спирмена.

Результаты. Статистически достоверно (по критерию Стьюдента) отличались показатели PLT и PCT в группе 2. Другие сопоставления не выявили достоверного различия. Между показателями PLT и MPV была определена корреляционная связь с показателем ранговой корреляции Спирмена (r), на уровне значимости $<0,01$. В группе 1 $r = -0,522$; в группе 2 $r = -0,579$; в группе 3 $r = -0,638$; в группе 4 $r = -0,666$. Существование отрицательной связи отражает обратную зависимость между количеством тромбоцитов и их размерами. У людей разного возраста и состояния здоровья, *a priori* имеющих разное состояние активности тромбоцитарного звена и существенные нарушения метаболизма, показатель тромбокрита находится в жестких рамках, а его изменения практически отсутствуют.

Вывод. Развитие патологического состояния вызывает минимальное колебание тромбокрита. Отсутствие значительного колебания тромбокрита при различных заболеваниях характеризует данный показатель как жесткую константу гомеостаза.

Ключевые слова: тромбоциты, тромбокрит, корреляционная связь, гомеостаз.

ANALYSIS OF HAEMOGRAM PLATELET INDICES THE FOR STUDY THE THEIR INFORMATIVITY

Chernovol P.A., Natrus L.V.

*Research Institute of Experimental and Clinical Medicine of the Bogomolets National Medical University,
Kyiv, Ukraine*

Relevance. Expansion of automatic digital haematological analyzers in clinics dictates the need for a full interpretation and comparison of all indices, as well as the search for a correlation between platelet counts and the state of the patient's platelet in terms of the risk of disorders in the hemostasis system.

The aim: To investigate the correlation of platelet parameters and its clinical informatively

Materials and methods: A retrospective analysis of the haemogram platelet indices of adult patients (n=283) was carried. The 1 group is a screening group (n=197), includes patients from a multidisciplinary clinic. Patients had different pathological conditions at different stages, but without acute bleeding or an emergency condition. The 2 group (n=30) consists of patients diabetes mellitus which have microcirculatory complications despite long duration treatment. The 3 group (n=26) includes the patients of the dental clinic without pathology from the haemostasis system, concomitant somatic diseases, using anticoagulants and non-steroidal anti-inflammatory drugs. The 4 group (n=30) consist of healthy volunteers. Total platelet count (PLT), mean platelet volume (MPV), platelet distribution width (PDW), and plateletcrit (PCT) were studied. The average values of PLT, MPV, PTC were compared with those of the fourth group. For the statistical processing of data, the Student's test and the Spearman rank correlation were used. This was calculated by using the MedCalc program.

Results. It was revealed that statistically significant (by the Student's test) PLT and PCT in group 2 is differed. Other comparisons did not reveal a significant difference. Between the PLT and MPV indices, was established a correlation by Spearman rank (r) at the significance level <0.01 . In group 1, the rank index was $r = -0.522$; In the group 2 $r = -0.579$; In the group 3 $r = -0.638$; In the group 4 $r = -0.666$. The negative correlation relationship reflects the inverse relationship between the number of platelets and their volume.

We found that in people of different ages and health conditions, which in our opinion a priopi have different state of platelet activity, and also with a significant metabolic disorder, the plateletcrit is in such sever limits, and it change is practically absent.

Conclusion. We consider the absence of a significant oscillation of plateletcrit in the examined patients, can characterize this index as a rigid constant of homeostasis. Probably, the development of the pathological condition is caused by minimal oscillation.

Key words: platelets, haemogram indices, plateletcrit, correlation, homeostasis.

ІНТЕРЛЕЙКІН 17 ТА ІНШІ ІМУНОЛОГІЧНІ ОЗНАКИ ХРОНІЧНОГО ЗАПАЛЬНОГО ПРОЦЕСУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНЕ ОБСТРУКТИВНЕ ЗАХВОРЮВАННЯ ЛЕГЕНЬ РІЗНОЇ ВАЖКОСТІ В ФАЗІ РЕМІСІЇ

*Рекалова О. М., Панасюкова О. Р., Матвієнко Ю. О., Грабченко Н. І.,
Ясирь С. Г., Сінгаєвський М. Б., Бегоулева Ж. Б., Коваль Н. Г.*

*ДУ “Національний інститут фізіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України”,
Київ, Україна
pulmonol@ifp.kiev.ua*

Рецензенти: проф. Курченко А.І., проф. Натрус Л.В.

Актуальність. Накопичуються докази участі Т-хелперів 17 типу (Th17) у патогенезі хронічного обструктивного захворювання легень (ХОЗЛ), але точна роль Th17-залежних імунних реакцій у розвитку ХОЗЛ досі не визначена. ІЛ-17А є основним ефекторним цитокином Th17.

Мета: з'ясувати роль Т-хелперів 17 типу у формуванні системних запальних реакцій в фазі ремісії ХОЗЛ різної важкості.

Матеріали та методи: Обстежено 45 хворих на ХОЗЛ в фазі ремісії. Хворі розподілені на 2 групи: 1 (n=18) – з 2 стадією ХОЗЛ; 2 (n=27) – з 3 та 4 стадіями. Проаналізовано концентрації ІЛ-17А у крові, в залежності від імунного статусу, рівнів прозапальних цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-8, TNF- β) і С-реактивного протеїну.

Результати. У хворих спостерігаються імунологічні ознаки активності хронічного запального процесу, які проявляються: помірним лейкоцитозом, нейтрофіліозом, збільшенням вмісту природних Т-кілерів (CD3⁺16⁺) та їх активованих форм (CD3⁺16⁺56⁺), дубль-позитивних (CD4⁺CD8⁺) Т-лімфоцитів, підвищенням сироваткової концентрації прозапальних цитокінів ІЛ-2, TNF β , ІЛ-8, С-РР, на фоні пригнічення активності Т-хелперів (CD3⁺4⁺8⁻), що можна розцінювати як компенсаторну реакцію останніх на гіперзапальні процеси, а також зростання відносної та абсолютної кількості та активності В-лімфоцитів (CD3⁺19⁺), що відображає існування підтримуваного процесу антитілоутворення внаслідок постійної антигенної стимуляції. Для важких хворих є характерним підвищений сироватковий рівень ІЛ-17А, який зв'язаний зі збільшенням в крові вмісту гранулоцитів і відносної кількості та активності В-клітин (супроводжують хронічне нейтрофільне запалення в бронхах), і є учасником виразного хронічного запального процесу. Наявність прямого кореляційного зв'язку рівня ІЛ-17А з рівнем С-реактивного протеїну та кількістю лейкоцитів в крові підтверджує вагомий роль цього цитокину та Т-хелперів 17 типу у персистенції хронічного запалення у хворих з ремісією ХОЗЛ.

Висновки. У хворих на ХОЗЛ в фазі ремісії в периферичній крові спостерігаються імунологічні ознаки активності хронічного запального процесу, які прогресують по мірі важкості процесу. Найбільш чутливими маркерами запалення при ХОЗЛ є сироваткові рівні С-реактивного протеїну та TNF β , а підвищені рівні ІЛ-8 та ІЛ-17А є маркерами більш важкого стану хворих.

Ключові слова: хронічне обструктивне захворювання легень, інтерлейкін -17А, маркери запалення.

Актуальність. Згідно сучасних положень клінічної імунології, саме цитокиновий профіль сироватки крові, який віддзеркалює активність різних субпопуляцій лімфоцитів, має суттєве значення для загальної характеристики імунопатогенезу запального процесу та його виразності при хронічному обструктивному захворюванні легень (ХОЗЛ).

Системна запальна реакція може розвиватись з ранніх стадій ХОЗЛ, коли клінічні прояви мінімальні або відсутні взагалі. Це підтверджує підвищений рівень маркерів запалення в периферичній крові у частини хворих на ХОЗЛ вже на ранніх стадіях захворювання, зокрема, С-реактивного білка (CRP), фібриногену, нейтрофільної еластази, прозапальних цитокінів ІЛ-1 ν , ІЛ-6, TNF- β , хемокинів ІЛ-8, IFN- β , TFP- ν , фактора росту фібробластів, епітеліальних та ендотеліальних факторів росту. При цьому рівень деяких з них (наприклад, CRP) може бути використаний

в якості прогностичного фактору перебігу ХОЗЛ [1]. Чисельні дослідження показали, що системні запальні маркери, такі як високочутливий С-реактивний білок (hs-CRP) і прозапальні цитокини, є вищими у пацієнтів з ХОЗЛ у порівнянні з суб'єктами, що не мають ХОЗЛ, і пов'язані зі смертністю у таких хворих. Подальші дослідження необхідні для визначення клінічної значущості цих біомаркерів для стратифікації ризику [9,13].

В останні роки накопичуються докази участі Т-хелперів 17 типу (Th17) у патогенезі ХОЗЛ. ІЛ-17А є основним ефекторним цитокином Th17, він володіє сильними прозапальними властивостями, регулює набір запальних клітин, включаючи нейтрофіли і лімфоцити в запалених тканинах завдяки секреції хемокинів. Th17-відповідь індукуює виробництво прозапальних цитокінів і хемокинів, що сприяють залученню нейтрофілів в тканини, а ці клітини є одним з

основних факторів запалення при ХОЗЛ. Передбачається, що Th17-клітини є ключовими компонентами хронічного системного запалення при ХОЗЛ, але точна роль Th17-залежних імунних реакцій у розвитку ХОЗЛ досі не визначена. Такі знання мають вирішальне значення, тому що клінічні втручання у регуляцію чи нейтралізацію ІЛ-17 потенційно важливі для розробки нових терапевтичних підходів при ХОЗЛ [12, 14, 16].

У зв'язку з цим актуальним залишається дослідження ролі Th17-залежних імунних реакцій у розвитку та підтримці хронічного системного запалення у хворих на ХОЗЛ.

Мета: з'ясувати роль Т-хелперів 17 типу у формуванні системних запальних реакцій в фазі ремісії ХОЗЛ.

Для досягнення мети був проведений аналіз концентрації ІЛ-17А у крові хворих, в залежності від особливостей імунного статусу, рівнів прозапальних цитокінів (ІЛ-2, ІЛ-8, TNF- β) і С-реактивного протеїну.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежено 45 хворих на ХОЗЛ в фазі ремісії, які спостерігались в Державній установі “Національний інститут фтизіатрії і пульмонології ім. Ф. Г. Яновського НАМН України”. Клінічний діагноз ХОЗЛ встановлювався відповідно прийнятим класифікаційним рекомендаціям на підставі даних загального клінічного, функціонального обстеження і був верифікований за характеристиками груп хворих відповідно до Наказу МОЗ України № 555 від 27 червня 2013 р. [5].

Середній вік хворих (65,6 \pm 1,7) років. Чоловіків 28 (66,8 \pm 2,1) %, жінок 12 (63,8 \pm 3,2) %. Об'єм форсованого видиху за 1 секунду (FEV1) – (52,5 \pm 3,1) %, з його відношенням до форсованої ємкості легень (FEV1/FVC) – (56,9 \pm 2,4) %.

Ці хворі були розподілені на групи: 1 групу склали 18 хворих з 2 стадією ХОЗЛ (помірна тяжкість перебігу ХОЗЛ), серед яких було 8 чоловіків та 10 жінок середнього віку (63,3 \pm 3,4) років, FEV1 – (72,9 \pm 4,6) %, FEV1/FVC – (66,8 \pm 3,1) %. У 2 групу увійшло 27 пацієнтів з 3 та 4 стадіями (тяжкий та дуже тяжкий перебіг), серед яких було 20 чоловіків і 7 жінок середнього віку (67,4 \pm 1,9) років, FEV1 – (41,6 \pm 5,9) %, FEV1/FVC – (49,8 \pm 5,6) %.

Контрольну групу склали 17 донорів крові, середній вік (48,9 \pm 2,8) років.

За допомогою двокольорової проточної лазерної цитометрії (проточний цитофлюориметр FACS Calibur (Канада) з використанням моноклональних антитіл до диференціювальних антигенів (Beckman Coulter, США) проводили фенотипування лімфоцитів і визначали відносний та абсолютний вміст пан-Т-лімфоцитів (Лф) (CD3+19- Лф), Т-хелперів/індук-

торів (CD3+4+8- Лф), цитотоксичних Т-клітин (CD3+4-8+ Лф), вміст дубль-позитивних Т-лімфоцитів (CD3+4+8+Лф), В-лімфоцитів (CD3-19+ Лф), природних кілерів (NK) (CD3-16+ Лф) та активованих природних Т-кілерів (CD3+16+56+Лф). Для виявлення дисбалансу імунорегуляторних субпопуляцій Т-клітин розраховували імунорегуляторний індекс - співвідношення кількості CD3+4+8- Лф та CD3+4-8+ Лф. Функціональну активність імуноцитів периферичній крові визначали за допомогою визначення щільності їх поверхневих рецепторів (ЩПР), яку оцінювали за інтенсивністю імунофлюоресценції (IF, в умовних одиницях флуоресценції – ум.од.фл.), яка обумовлена кількістю мічених моноклональних антитіл, що зв'язані з лігандом на поверхні або всередині клітини [7]. Для обчислення абсолютного вмісту в крові окремих популяцій лімфоцитів користувалися показниками лейкограми, визначеними на геманалізаторі ABX-mscros 60, Франція.

Методом імуоферментного аналізу у сироватці периферичної крові з використанням комерційних тест-систем визначали вміст цитокінів – фактору некрозу пухлин альфа (TNF β), інтерлейкинів ІЛ-2, ІЛ-8, ІЛ-17А (Вектор-Бест, Росія), CRP (ХЕМА, Росія).

Зберігання результатів досліджень та їх математична обробка проводились за допомогою ліцензійних програмних продуктів, які входили до пакету *Microsoft Office Professional 2007*, ліцензія *Russian Academic OPEN No Level № 43437596*. Визначались середня арифметична показника (М), середньоквадратичне відхилення (у), похибка середньої арифметичної (m), кількість обстежених хворих (n). Порівняння середніх групових значень та оцінка достовірності відмінностей за параметричними та непараметричними методами варіаційної та рангової статистики із застосуванням t-тесту Стьюдента, U-критерію Уїлкоксона-Манна-Уїтні. За рівень статистичної значимості приймалися значення показника вірогідності різниці між групами $p < 0,05$. Кореляційні зв'язки між вибірками обчислювались за допомогою методів параметричної кореляції Пірсона або непараметричної кореляції Спірмена [3].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Встановлено, що фаза ремісії у хворих на ХОЗЛ супроводжувалась наступними вірогідними ($p < 0,05$) гематологічними відзнаками: помірним лейкоцитозом, невираженою лімфоцитопенією, невеликим відносним та абсолютним нейтрофіліозом (табл. 1), що свідчило про триваючу активність запального процесу у хворих в фазі ремісії ХОЗЛ.

Серед показників Т- та В-клітинного імунітету у хворих на ХОЗЛ визначались зміни по декількох показниках, а саме (табл. 2): зменшення активності (IF) Т-хелперних клітин (CD3+4+8-), збільшення

вмісту дубль-позитивних (CD4+CD8+) Т-лімфоцитів, природних Т-кілерів (CD3-16+) та їх активованих популяцій (CD3+16+56+), а серед показників В-клітинного імунітету – зростання відносної та абсолютної кількості В-лімфоцитів (CD3-19⁺) та їх активності (IF).

При цьому кількість Т-хелперів (CD3+4+8⁺), які забезпечують розвиток імунної відповіді та регулюють її подальший перебіг, в період ремісії була у середньому в межах норми, але зниження щільності поверхневих рецепторів на лімфоцитах до CD4-диференціюючого антигену (інтенсивності флюоресценції) свідчило про зменшення їх активності.

З іншого боку, зростання в крові вмісту дубль-позитивних CD3+4+8⁺ -лімфоцитів, які є “рідкісною” субпопуляцією Т-лімфоцитів і одночасно мають мембранні молекули CD4 і CD8 (ко-рецептори комплексу TCR-CD3), що розглядаються як основні маркери визначення Т-хелперів та цитотоксичних Т-лімфоцитів [17], було свідченням напруженої роботи адаптивного імунітету, оскільки ці клітини є високо диференційованими клітинами пам’яті і мають велике значення у розвитку реакцій адаптивного імунітету, зокрема, у відповідь на різноманітні інфекційні агенти.

Отже, незважаючи на ремісію ХОЗЛ, у хворих відбувалось активне диференціювання Т-лімфоцитів на дубль-позитивні CD4+CD8⁺ клітини, що відображало триваючу стимуляцію Т-клітинної ланки імунної системи і свідчило про активність запального процесу.

Підвищена загальна кількість натуральних кілерів крові (CD3-16+, або NK-клітин) і їх активованих форм (CD3+16+56+), які першими налаштовуються на захист організму проти чужорідних і змінених клітин, і в першу чергу лізують інфіковані вірусами та бактеріями клітини, свідчили про їх підвищену активність.

Значна активація В-лімфоцитарної ланки у хворих на ХОЗЛ в фазі ремісії відображала постійно підтримуваний процес антитілоутворення під дією антигенної стимуляції (мікроорганізмами, продуктами запального руйнування тканин бронхів).

Отримані нами дані не суперечать даним літературних джерел, де висловлюється думка, що дисбаланс імунорегуляторних клітин та підвищений вміст В-лімфоцитів можуть відігравати важливу роль в прогресуванні патологічного процесу при

Таблиця 1

Особливості лейкограми крові у хворих на ХОЗЛ в фазі ремісії

Показники M ± m	Групи обстежених	
	Здорові, n=17	ХОЗЛ, n= 45
Кількість лейкоцитів ·10 ⁹ /л	6,4 ± 0,3	8,2 ± 0,5 *
Відносна кількість лімфоцитів, %	32,5 ± 1,3	27,7 ± 1,5 *
Кількість лімфоцитів ·10 ⁹ /л	2,09 ± 0,13	2,21 ± 0,23
Відносна кількість нейтрофільних гранулоцитів, %	61,4 ± 1,3	68,0 ± 1,6 *
Кількість нейтрофільних гранулоцитів ·10 ⁹ /л	3,94 ± 0,19	5,62 ± 0,45 *
Відносна кількість моноцитів, %	6,2 ± 0,4	4,9 ± 0,7

Примітка * – різниця показника з показником групи здорових на рівні значимості p < 0,05.

Таблиця 2

Особливості Т- і В-клітинного імунітету хворих на ХОЗЛ в фазі ремісії

Показник (M ± m)	Група	
	Здорові особи, n=17	Хворі на ХОЗЛ, n=45
Вміст CD3+19- Лф (%)	68,5 ± 1,6	68,4 ± 1,8
Вміст CD3+19- Лф (109/л)	1,46 ± 0,12	1,49 ± 0,15
IF CD3+19-Лф (ум.од.фл.)	139,4 ± 9,2	126,7 ± 5,8
Вміст CD3+4+8- Лф (%)	43,5 ± 1,8	40,6 ± 1,6
Вміст CD3+4+8- Лф (109/л)	0,91 ± 0,07	0,90 ± 0,09
IF CD3+4+8- Лф (ум.од.фл.)	146,3 ± 9,3	109,8 ± 5,8 *
Вміст CD3+4-8+ Лф (%)	28,7 ± 2,3	31,2 ± 1,5
Вміст CD3+4-8+ Лф (109/л)	0,61 ± 0,07	0,67 ± 0,07
IF CD3+4-8+ Лф (ум.од.фл.)	1423,1 ± 47,3	1548,3 ± 111,8
Вміст CD3+4+8+ Лф (%)	0,9 ± 0,2	1,9 ± 0,3*
Імунорегуляторний індекс (ум.од.)	1,9 ± 0,3	1,5 ± 0,1
Вміст CD3-16+ Лф (%)	8,2 ± 1,0	12,6 ± 1,2 *
Вміст CD3-16+ Лф (109/л)	0,18 ± 0,03	0,27 ± 0,04
IF CD3-16+ ЛФ (ум.од.фл.)	112,7 ± 8,1	125,4 ± 11,9
Вміст CD3+16+56+ Лф (%)	2,0 ± 0,6	5,0 ± 0,9 *
Вміст CD3-19+ Лф (%)	6,4 ± 0,7	10,8 ± 1,1 *
Вміст CD3-19+ Лф (109/л)	0,14 ± 0,02	0,24 ± 0,03 *
IF CD3-19+ Лф (ум.од.фл.)	119,1 ± 2,2	175,9 ± 12,1 *

Примітка * – різниця даного показника з показником групи здорових на рівні значимості p < 0,05.

ХОЗЛ. Збільшення кількості В-лімфоцитів може бути зумовлене антигенним навантаженням [4]. В той же час в інших дослідженнях достовірних змін з боку В-лімфоцитів при ХОЗЛ не було спостережено [2].

Отже, виявлені зміни клітинного імунітету свідчили про активність запального процесу і, у свою чергу, могли сприяти підтримці хронічного запалення в фазі ремісії ХОЗЛ.

Аналіз вмісту маркерів запалення у сироватці крові хворих виявив, що фаза ремісії ХОЗЛ супроводжувалась вірогідно підвищеними відносно контролю ($p < 0,05$) концентраціями прозапальних цитокінів ІЛ-2, $TNF\alpha$, ІЛ-8 та СРР (табл. 3). При цьому у хворих 1 групи були вірогідно підвищеними тільки рівні $TNF\alpha$ та СРР, тоді як у більш важких хворих 2 групи, окрім цих показників, визначалось також підвищення рівнів ІЛ-8 та ІЛ-17А, що було оз-

накою більш виразного хронічного запального процесу. При цьому рівні СРР та $TNF\alpha$, які були підвищеними у більшості хворих обох груп, можливо вважати найбільш чутливими маркерами запалення при ХОЗЛ, а підвищені рівні ІЛ-8 та ІЛ-17А – маркерами більш важкого стану хворих.

Таким чином, виявлене зростання системного цитокінового потенціалу можна розглядати не тільки як ознаку хронічного запального процесу в організмі хворих на ХОЗЛ, але, ймовірно, як важливий патогенетичний механізм хронізації і персистенції запального процесу у хворих на ХОЗЛ.

Було також визначено, що рівень ІЛ-17А підвищувався у важких хворих 2 групи (відносно 1 групи) при підвищеному вмісті в крові гранулоцитів і відносної кількості та функціональної активності В-клітин (табл. 4), що свідчило про зв'язок цих показників та відповідало більш важкому стану хворих.

Таблиця 3

Вміст прозапальних цитокінів і С-реактивного білка у сироватці крові хворих з ремісією ХОЗЛ, в залежності від тяжкості перебігу захворювання

Показник ($M \pm m$)	Група	
	Здорові особи, n=17	Хворі на ХОЗЛ, n=45
Вміст CD3+19- Лф (%)	68,5 ± 1,6	68,4 ± 1,8
Вміст CD3+19- Лф (109/л)	1,46 ± 0,12	1,49 ± 0,15
IF CD3+19-Лф (ум.од.фл.)	139,4 ± 9,2	126,7 ± 5,8
Вміст CD3+4+8- Лф (%)	43,5 ± 1,8	40,6 ± 1,6
Вміст CD3+4+8- Лф (109/л)	0,91 ± 0,07	0,90 ± 0,09
IF CD3+4+8- Лф (ум.од.фл.)	146,3 ± 9,3	109,8 ± 5,8 *
Вміст CD3+4-8+ Лф (%)	28,7 ± 2,3	31,2 ± 1,5
Вміст CD3+4-8+ Лф (109/л)	0,61 ± 0,07	0,67 ± 0,07
IF CD3+4-8+ Лф (ум.од.фл.)	1423,1 ± 47,3	1548,3 ± 111,8
Вміст CD3+4+8+ Лф (%)	0,9 ± 0,2	1,9 ± 0,3*
Імунорегуляторний індекс (ум.од.)	1,9 ± 0,3	1,5 ± 0,1
Вміст CD3-16+ Лф (%)	8,2 ± 1,0	12,6 ± 1,2 *
Вміст CD3-16+ Лф (109/л)	0,18 ± 0,03	0,27 ± 0,04
IF CD3-16+ ЛФ (ум.од.фл.)	112,7 ± 8,1	125,4 ± 11,9
Вміст CD3+16+56+ Лф (%)	2,0 ± 0,6	5,0 ± 0,9 *
Вміст CD3-19+ Лф (%)	6,4 ± 0,7	10,8 ± 1,1 *
Вміст CD3-19+ Лф (109/л)	0,14 ± 0,02	0,24 ± 0,03 *
IF CD3-19+ Лф (ум.од.фл.)	119,1 ± 2,2	175,9 ± 12,1*

Примітки: * – різниця з показником групи здорових осіб на рівні $p < 0,05$. # – різниця показника між 1 та 2 групами хворих на ХОЗЛ на рівні $p < 0,05$.

Таблиця 4

Зв'язок рівня ІЛ-17А у сироватці крові хворих на ХОЗЛ зі змінами деяких імунологічних показників в залежності від важкості стану хворих

Показники системного імунітету та напрямки їх змін	Хворі на ХОЗЛ, n = 45					
	1 група, n = 18			2 група, n = 27		
	n	$M \pm m, \%$	Рівень ІЛ-17А	n	$M \pm m, \%$	Рівень ІЛ-17А
Вміст гранулоцитів, %						
- підвищений	9	50,0 ± 11,8	0,87 ± 0,11	18	66,7 ± 9,1	1,26 ± 0,10 *
- у межах норми або зменшений	9	50,0 ± 11,8	1,05 ± 0,11	9	33,3 ± 9,1	1,23 ± 0,09
Вміст В-клітин – CD3-19+Лф, %						
- підвищений	8	47,1 ± 12,1	0,85 ± 0,13	13	48,2 ± 9,6	1,27 ± 0,12 *
- у межах норми або зменшений	9	52,9 ± 12,1	1,07 ± 0,10	14	51,8 ± 9,6	1,22 ± 0,10
Інтенсивність флюоресценції В-клітин – CD3-19+Лф, ум.од.фл.						
- підвищена	13	76,5 ± 10,3	0,97 ± 0,09	19	73,1 ± 8,7	1,21 ± 0,08 *
- у межах норми або зменшена	4	23,5 ± 10,3	1,18 ± 0,23	7	26,9 ± 8,7	1,41 ± 0,15

Примітка. * – різниця відповідного показника між 1 та 2 групами хворих на ХОЗЛ на рівні значимості $p < 0,05$.

При кореляційному аналізі був встановлений прямий кореляційний зв'язок рівня ІЛ-17А з рівнем С-реактивного протеїну ($r = 0,24$, $p < 0,05$) та з рівнем лейкоцитів в крові ($r = 0,27$, $p < 0,02$), що вказувало на взаємозалежність цих показників у хворих на ХОЗЛ та характеризувало більш виразний запальний процес.

Єдиної думки щодо рівнів прозапальних інтерлейкінів у хворих на ХОЗЛ немає. Є публікації, в яких вказується на зниження рівнів TNF α в крові, або ж нормальні значення його і ІЛ-8 та ІЛ-6 [6]. На думку інших дослідників, рівні TNF α можуть слугувати біомаркерами запалення у хворих на ХОЗЛ у загостренні та при стабільному перебігу [11], що відповідає результатам нашого дослідження. Також повідомляють, що рівень CRP залишається високим і в стабільну фазу процесу [15], корелює з лейкоцитозом периферичної крові ($r = 0,44$, $p < 0,01$), з FEV1 та з тестом шестихвилинної ходьби пішки (6MWD) [18]. Останніми роками все більше досліджень присвячені механізмам формування хронічного запалення при ХОЗЛ, яке характеризується збільшенням числа альвеолярних макрофагів, нейтрофілів, Т-лімфоцитів (переважно Th17 клітин) [10] з участю Th17 клітин в патогенезі ХОЗЛ [14]. Максимальні значення прозапального цитокіну ІЛ-17А у хворих з тяжким перебігом ХОЗЛ вказують на продукуючу активацію Th17 лімфоцитів, які можуть відігравати роль диригента системних запальних реакцій [8].

ВИСНОВКИ

У хворих на ХОЗЛ в фазі ремісії в периферичній крові спостерігаються імунологічні ознаки активності хронічного запального процесу, які проявляються: помірним лейкоцитозом, нейтрофіліозом, збільшенням вмісту природних Т-кілерів (CD3⁺16⁺) та їх активованих форм (CD3⁺16⁺56⁺), дубль-позитивних (CD4⁺CD8⁺) Т-лімфоцитів, підвищенням сироваткової концентрації прозапальних цитокінів ІЛ-2, TNF β , ІЛ-8, С-РР, на фоні пригнічення активності Т-хелперних клітин (CD3⁺4⁺8⁻), що можна розцінювати як компенсаторну реакцію останніх на гіперзапальні процеси, а також зростання відносної та абсолютної кількості та активності В-лімфоцитів (CD3⁺19⁺), що відображає існування підтримуваного процесу антитілоутворення внаслідок постійної антигенної стимуляції.

Найбільш чутливими маркерами запалення при ХОЗЛ є сироваткові рівні CRP та TNF α , які підвищені у більшості хворих, тоді як у найбільш важких хворих, окрім цих показників, визначаються також підвищені рівні ІЛ-8 та ІЛ-17А, які свідчать про наявність виразного хронічного запального процесу в фазі ремісії ХОЗЛ і є маркерами більш важкого стану хворих.

Для важких хворих на ХОЗЛ є характерним підвищений сироватковий рівень ІЛ-17А, який зв'язаний зі збільшенням в крові вмісту гранулоцитів і відносної кількості та активності В-клітин (супроводжують хронічне нейтрофільне запалення в бронхах), і є учасником виразного хронічного запального процесу.

Наявність прямого кореляційного зв'язку рівня ІЛ-17А з рівнем С-реактивного протеїну та кількістю лейкоцитів в крові підтверджує вагому роль цього цитокіну та Т-хелперних клітин 17 типу у персистенні хронічного запалення у хворих з ремісією ХОЗЛ.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Роботу виконано за кошти державного бюджету України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вольницька Х.І. Цитокіновий профіль при хронічному обструктивному захворюванні легень і бронхіальній астмі у хворих після перенесеного туберкульозу або пневмонії / Х.І. Вольницька // Укр. пульмонолог. журн. – 2014. – № 4. – С. 65-68.
2. Герич П.Р. Особливості субпопуляційного спектру Т- і В-лімфоцитів периферичної крові у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / П.Р. Герич, М.М. Островський // Укр. пульмонолог. журн. – 2008. – № 4. – С. 47-49.
3. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С.Н. Лапач, А.В. Чубенко, П.Н. Бабич. – Киев : Морион, 2000. – 320 с.
4. Лемко О.І. Деякі аспекти етіології, патогенезу та перебігу хронічного обструктивного захворювання легень (частина II) / О.І. Лемко // Науковий вісник Ужгородського університету, серія "Медицина". – 2013. – Випуск 1 (46). – С. 197-207.
5. Наказ МОЗ України № 555 від 27 червня 2013 р. "Про затвердження та впровадження медико-технологічних документів зі стандартизації медичної допомоги при хронічному обструктивному захворюванні легень" – Режим доступу: <http://document.ua/pro-zatverdzhennja-ta-vprovadzhenja-mediko-tehnologichnih-d-doc166218.html>
6. Перцева Т.О. Роль системних маркерів запалення у формуванні імунологічної відповіді на інфекцію / колонізацію у хворих на хронічне обструктивне захворювання легень / Т.О. Перцева, Л.І. Конопкіна // Укр. пульмонолог. журн. – 2007. – № 1. – С. 22-26, 162.
7. Применение проточной цитометрии для оценки функциональной активности иммунной системы человека : пособие для врачей-лаборантов / Б.В. Пинегин [и др.]. – М. : Государственный научный центр РФ, 2001. – 53 с.
8. Роль девиации субпопуляции Т-хелперов 17-го типа при хронической обструктивной болезни легких / Е.Г. Лобанова [и др.] // Международный жур-

- нал прикладных и фундаментальных исследований. 2015. – № 11. – С. 316-219.
9. Association between C-reactive protein concentration and chronic obstructive pulmonary disease: a systematic review and meta-analysis / Y. Zhang [et al.] // J. Int. Med. Res. – 2012. – Vol. 40, No. 5. – P. 1629-1635.
 10. Barnes P.J. Inflammatory mechanisms in patients with chronic obstructive pulmonary disease / P.J. Barnes // J. Allergy Clin Immunol. – 2016. – Vol. 138, No. 1. – P. 16-27.
 11. Biomarkers of systemic inflammation in stable and exacerbation phases of COPD / F. Karadag, A.B. Karul, O. Cildag [et al.] // Lung. – 2008. – Vol. 186. – P. 403-409.
 12. Hong S.C. Role of Th17 Cell and Autoimmunity in Chronic Obstructive Pulmonary Disease / S.C. Hong, S.H. Lee // Immune. Network. – 2010. – Vol. 10, No. 4. – P. 109-114.
 13. Inflammatory biomarkers and exacerbations in chronic obstructive pulmonary disease / M. Thomsen [et al.] // J. of the American Medical Association. – 2013. – Vol. 309, No. 22. – P. 2353-2361.
 14. Infiltration of IL-17-Producing T Cells and Treg Cells in a Mouse Model of Smoke-Induced Emphysema / M.C. Duan [et al.] // Inflammation. – 2016. – Vol. 39, No. 4. – P. 1334-1344.
 15. Karadag F. The value of C-reactive protein as a marker of systemic inflammation in stable chronic obstructive pulmonary disease / F. Karadag, S. Kirdar, A.B. Karul // European Journal of Internal Medicine. – 2008. – Vol. 19. – P. 104-108.
 16. Miossec P. Interleukin-17 and type 17 helper T cells / P. Miossec, T. Korn, V.K. Kuchroo // N. Engl. J. Med. – 2009. – Vol. 361. – P. 888-898.
 17. The role of increased frequency of treg cells in patients with chronic osteomyelitis / Y. Wu [et al.] // Orthopedics. – 2011. – Vol. 34, No. 2. – P. 98.
 18. The relationship between C-reactive protein and prognostic factors in chronic obstructive pulmonary disease / Reshu Agarwal [et al.] // Multidisciplinary Respiratory Medicine. – 2013. – No. 8. – P. 5.
- Отримано 20.04.2017*

ИНТЕРЛЕЙКИН 17 И ДРУГИЕ ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПРИЗНАКИ ХРОНИЧЕСКОГО ВОСПАЛИТЕЛЬНОГО ПРОЦЕССА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОБСТРУКТИВНЫМ ЗАБОЛЕВАНИЕМ ЛЕГКИХ РАЗЛИЧНОЙ ТЯЖЕСТИ В ФАЗЕ РЕМИССИИ

Рекалова А. Н., Панасюкова О. Г., Матвиенко Ю. А., Грабченко Н. И., Ясир С. Г., Сингаевский М. Б., Бегоулева Ж. Б., Коваль Н. Г.

ГУ “Национальный институт фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского НАМН Украины”, Киев, Украина

Актуальность. Накапливаются доказательства участия Т-хелперов 17 типа (Th17) в патогенезе хронической обструктивной болезни легких (ХОБЛ), но точная роль Th17-зависимых иммунных реакций в развитии ХОБЛ до сих пор не определена. IL-17A является основным эффекторным цитокином Th17.

Цель: выявить роль Т-хелперов 17 типа в формировании системных воспалительных реакций в фазе ремиссии ХОБЛ различной тяжести.

Материалы и методы. Обследовано 45 больных ХОБЛ в фазе ремиссии. Больные разделены на 2 группы: 1 (n=18) – со 2 стадией ХОБЛ; 2 (n=27) – с 3 и 4 стадиями. Проанализированы концентрации IL-17A в крови, в зависимости от иммунного статуса, уровней провоспалительных цитокинов (IL-2, IL-8, TNF- α) и С-реактивного протеина.

Результаты. У больных наблюдаются иммунологические признаки активности хронического воспалительного процесса, которые проявляются: умеренным лейкоцитозом, нейтрофилёзом, увеличением содержания природных Т-киллеров (CD3+16+) и их активированных форм (CD3+16+56+), дубль-положительных (CD4+CD8+) Т-лимфоцитов, повышением концентрации провоспалительных цитокинов IL-2, TNF α , IL-8, С-РР, на фоне подавления активности Т-хелперов (CD3+4+8-), что можно расценивать как компенсаторную реакцию последних на гиперовоспалительные процессы, а также рост относительного и абсолютного количества и активности лимфоцитов (CD3-19+), что отражает существование поддерживаемого процесса антителообразования вследствие постоянной антигенной стимуляции. Для тяжёлых больных характерно повышение сыровоточного уровня IL-17A, который связан с увеличением в крови содержания гранулоцитов и относительного количества и активности В-клеток (сопровождают хроническое нейтрофильное воспаление в бронхах), и является участником выраженного хронического воспалительного процесса. Наличие прямой корреляционной связи уровня IL-17A с уровнем С-реактивного белка и количеством лейкоцитов в крови подтверждает важную роль этого цитокина и Т-хелперов 17 типа в персистенции хронического воспаления у больных с ремиссией ХОБЛ.

Выводы. У больных ХОБЛ в фазе ремиссии в периферической крови наблюдаются иммунологические признаки активности хронического воспалительного процесса, которые прогрессируют по мере тяжести процесса. Наиболее чувствительными маркерами воспаления при ХОБЛ являются сыровоточные уровни С-реактивного белка и TNF α , а повышенные уровни IL-8 и IL-17A являются маркерами более тяжелого состояния больных.

Ключевые слова: хроническая обструктивная болезнь лёгких, интерлейкин-17A, маркеры воспаления.

INTERLEUKIN 17 IMMUNOLOGIC AND OTHER SIGNS OF CHRONIC INFLAMMATION IN PATIENTS WITH CHRONIC OBSTRUCTIVE PULMONARY DISEASE DIFFERENT SEVERITY IN REMISSION

*Rekalova O. M., Panasiukova A.R., Matvienko Yu.O., Grabchenko N.I.,
Yassyr S.G., Sinhayevskiy M.B., Begouleva J. B., Koval N.G.*

SO "F.G. Yanovsky National institute of phthisiology and pulmonology NAMS of Ukraine", Kyiv, Ukraine

Relevance. Evidence of the involvement of T helper type 17 (Th17) in the pathogenesis of chronic obstructive pulmonary disease (COPD) are accumulated, but the exact role of Th17-dependent immune responses in the development of COPD has not yet been determined. IL-17A is the main effector cytokine Th17.

The aim: to find out the role of T-helper type 17 in the formation of systemic inflammatory reactions in the COPD remission phase of varying severity.

Materials and methods: 45 patients with COPD in the remission phase were examined. Patients are divided into two groups: 1 (n = 18) - with stage II COPD; 2 (n = 27) - with III and IV stages. The concentrations of IL-17A in the blood, depending on the immune status, levels of proinflammatory cytokines (IL-2, IL-8, TNF- α) and C-reactive protein were analyzed.

Results: Immunologic features of the activity of chronic inflammatory process are observed in patients: moderate leukocytosis, neutrophilia, an increase the number of natural killers T (NKT)(CD3-16+) and their activated forms (CD3+16+56+), double positive (CD4+CD8+) T-lymphocytes, increase in serum concentration of proinflammatory cytokines IL-2, TNF α , IL-8, C-RP, against the background of suppression of T helper (CD3+4+8-) activity, which can be regarded as a compensatory response of the latter on hyperinflammatory processes and increase in the relative and absolute amount and activity of B-lymphocytes (CD3-19+), which reflects the existence of a supported antibody production process due to constant antigen stimulation. The elevated levels of serum IL-17A, which is associated with an increase in the granulocyte number the relative amount and activity of B cells (accompanying chronic neutrophilic inflammation in the bronchi) is characteristic for severe patients and is a participant in a pronounced inflammatory chronic process. The presence of a direct correlation between the levels of IL-17A and C-reactive protein and the number of leukocytes in the blood confirms the important role of this cytokine and T-helper type 17 in the persistence of chronic inflammation COPD patients in remission.

Conclusions: In COPD patients in remission in the peripheral blood immunological signs of the activity of the chronic inflammatory process are observed, which progress with the severity of the process. The most sensitive markers of inflammation in COPD are serum levels of C-reactive protein and TNF α , and elevated levels of IL-8 and IL-17A are the markers of the more severe condition of patients.

Keywords: COPD, interleukin -17A, markers of inflammation.

КЛІНІЧНЕ ЗНАЧЕННЯ НЕІНВАЗИВНИХ ТЕСТІВ У ДІАГНОСТИЦІ *HELICOBACTER PYLORI*-ІНФІКУВАННЯ ДІТЕЙ З ХРОНІЧНИМ ГАСТРИТОМ

Лукашук В.Д., Алі Самех Алі, Шевцова О.М., Баб'як В.І., Палагнюк Н.О.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця, Київ, Україна

p5ntu@ukr.net

Рецензенти: проф. Тяжка О.В., доц. Єсіпова С.І.

Актуальність. Немає єдиної думки про переваги використання різних діагностичних тестів для оцінки *H. pylori*-статусу в педіатричній практиці.

Мета: порівняти ¹³С-сечовинний дихальний тест і тести для визначення антитіл до *H. pylori* сироватки крові для оцінки *H. pylori*-статусу у дітей з хронічним гастритом.

Матеріали та методи. У 66 дітей у віці 6-17 років з верифікованим діагнозом хронічний гастрит виявляли *H. pylori*-інфекцію гістологічними і бактеріоскопічними методами, визначали в сироватці антитіла до *H. pylori* класів IgA і IgG методом імуноферментного аналізу (тест-системи "Helicobacter pylori ELISA", Biohit, Фінляндія). Проводили ¹³С-сечовинний дихальний тест. Визначали чутливість і специфічність кожного тесту.

Результати. У 58 із 66 обстежених дітей виявлено дійсно позитивні результати інфікування *H. pylori*. Тривалість хронічного гастриту: до 1 року – у 13 дітей; 1-3 роки – у 21 дитини; понад 3-5 років – у 32 дітей. Тривалість інфікування *H. pylori*: до 1 року – у 8 дітей; 1-2 роки – у 16; 2-3 роки – у 21; 4-5 років – у 9 дітей; понад 5 років – у 4 дітей. Встановили, що ¹³С-сечовинний дихальний тест має високі чутливість і специфічність – 96,5 % і 87,5 %, відповідно. Серологічні тести визначення в крові IgG і IgA до *H. pylori*: чутливість – 86,7 % і 77,3 %; а специфічність – 69,2 % і 53,8 %, відповідно. *H. pylori*"+"-статус дитини з хронічним гастритом, за результатами ¹³С-сечовинного дихального тесту і серологічних тестів, є критерієм відбору хворого для проведення антигелікобактерної терапії.

Висновки. ¹³С-сечовинний дихальний тест та серологічні тести не є еквівалентними для характеристики змін у шлунку при *H. pylori*, але доповнюють один одного при визначенні *H. pylori*-статусу.

Ключові слова: хронічний гастрит, інфекція *H. pylori*, ¹³С-сечовинний дихальний тест, антитіла до *H. pylori* сироватки крові, *H. pylori*-статус, діти.

Актуальність. Актуальність удосконалення діагностики хронічного гастриту (ХГ) обумовлена його значною поширеністю – 50-70 % в структурі хронічної патології органів травлення у дітей [1, 2, 7], та рецидивуючим перебігом [8, 10, 14].

Загальновідомо, що інфікування *H. pylori* частіше відбувається у дитячому віці [2, 4]. Впроваджуються рекомендації п'яти Маастрихтських консенсусів із діагностики та лікування *H. pylori*-інфекції у дорослих (1996, 2000, 2005, 2010, 2015pp.) [12], а в педіатричній практиці – чисельні настанови ESPGHAN (European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition) and NASPGHAN (North American Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology and Nutrition) за період 1996-2011 pp. [10]. Золотим стандартом визначення *H. pylori* у дорослих з хронічною гастродуоденальною патологією є інвазивні методи: езофагогастродуоденоскопія (ЕГДС) та дослідження біоптатів слизової оболонки шлунка (СОШ) [3, 11]. Оскільки у дітей під час ЕГДС є високий ризик інфікування *H. pylori* та вірусами гепатиту В та С [6], то в педіатричній практиці використовують неінвазивні безпечні методи для виявлення інфікування *H. pylori* у випадках протипоказань до проведення ЕГДС та/або

біопсії СОШ, а також для визначення *H. pylori*-статусу дитини. Інфікованим *H. pylori* доцільно запропонувати антигелікобактерну терапію (АГБТ), за відсутності протипоказань [14].

Відомо, що ¹³С-сечовинний дихальний тест та визначення сироваткових антитіл до *H. pylori* складають основу обстеження на *H. pylori* інфекцію [5, 7, 9]. Виникає питання, які переваги має кожен із зазначених методів в педіатричній практиці? Оскільки відомі переваги кожного із них [5, 7, 14]. Так, одні автори зазначають, що ¹³С-сечовинний дихальний тест наближається до еталонного методу виявлення інфікування *H. pylori*, бо не залежить від умов транспортування зразка та не впливає на інтерпретацію результату дослідження [9]. Інші автори зазначають, що точність визначення сироваткових антитіл до *H. pylori* наближається до ¹³С-сечовинного дихального тесту. Використанню зазначених тестів сприяє зручність, доступність і невисока вартість. У дітей дошкільного віку можуть виникати труднощі дихати в трубку, в той час як простіше зробити забір зразка сироватки крові для аналізу. Зазначені тести можуть бути взаємозамінними у дітей шкільного віку [4].

Результати дихального та серологічних тестів мають різну чутливість та специфічність для оцінки змін

в шлунку при гелікобактерній інфекції і можуть не співпадати: у разі різної тривалості інфікування *H. pylori* будуть різні результати визначення антитіл до *H. pylori* класу IgA та/або антитіл до *H. pylori* класу IgG; у разі локальної колонізації шлунку і ступеню обсіменіння СОШ будуть позитивними як дихальний, так і серологічні тести з урахуванням активності запалення СОШ – стадії загострення чи ремісії хвороби. Дихальний тест виявляє *H. pylori* у разі контамінації *H. pylori* СОШ, а серологічні тести виявляють інфікування *H. pylori* і стадійність хронічного гастриту.

Крім того, при позитивному дихальному тесті *H. pylori* має бути живим в організмі хазяїна, а для серологічного тесту це не основне. Чинники транспортування зразків також враховують при визначенні, який із зазначених тестів буде використано. Деякі експерти вважають, що серологічні тести є більш точними у немовлят і дітей дошкільного віку як оптимальні саме для дітей зазначеного віку. З огляду на плюси та мінуси, ^{13}C -сечовинний дихальний та серологічні тести мають свої переваги і недоліки. Деякі експерти рекомендують поєднувати ці два методи або повторно використовувати один з них [5].

Сечовинний дихальний тест є високоспецифічним та кількісним для оцінки активності уреазу в СОШ, і є чітка різниця між негативним тестом і позитивним тестом. Серологічні тести виявляють сироваткові антитіла до *H. pylori* і результати можуть бути негативними або позитивними. Отже, у дітей з *H. pylori*“ $-$ ”-статусом результат буде негативний у разі негативного сечовинного дихального тесту і негативного серологічного тесту; у дітей з *H. pylori*“ $+$ ”-статусом – позитивним, якщо результат одного із зазначених методів буде позитивним [13].

Серологічні тести залишаються стандартним неінвазивним методом первинної діагностики інфекції *H. pylori*. Використовують різні тест-системи для визначення антитіл до *H. pylori* з різною чутливістю та специфічністю. В ранніх дослідженнях інфікування *H. pylori* було встановлено високу кореляцію між серопозитивністю і показниками активної інфекції, тому у дітей доцільно враховувати *H. pylori*-статус на основі неінвазивних методів [4, 9], а активність *H. pylori*-інфікування – за результатами серологічного тесту (визначення антитіл до *H. pylori* IgA та/або визначення антитіл до *H. pylori* IgG). Серологічні методи мають перевагу, оскільки вони неінвазивні і їх легко виконати.

У дитини, в якій серологічне дослідження проводиться вперше, і яка останнім часом не отримувала антибіотики, зокрема і АГБТ, позитивний результат тесту вказує на інфікування її *H. pylori* [13], і за результатами цього тесту можна оцінити *H. pylori*-статус дитини. Для підтвердження зазначеного доцільно провести і інші неінвазивні тести (^{13}C -сечовинний дихальний або визначення антигенів *H. pylori* у випорожненнях) [7]. На цій основі в останніх Маастрихтських-V рекомендаціях серологічні тести

використовують як маркери діагностики *H. pylori* інфікування, особливо в епідеміологічних дослідженнях, але не як критерії ефективності АГБТ, тому що антитіла зберігаються протягом 3-4 місяців або навіть років після ерадикації *H. pylori* [13].

Серологічні тести частіше використовують для тестування старших дітей, як і дорослих, які ще не отримували АГБТ [4]. Інші автори вважають, що дихальний тест є більш точним у старших школярів. Зазначені методи можна поєднувати або двічі повторювати один із них з урахуванням конкретної ситуації [9].

Все вищезазначене спонукало нас проаналізувати результати дихального і серологічного тестів у дітей з верифікованим діагнозом ХГ.

Мета: вивчити ^{13}C -сечовинний дихальний тест та результати визначення антитіл до *H. pylori* сироватки крові для оцінки *H. pylori*-статусу дітей з хронічним гастритом.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

У 66 дітей з верифікованим діагнозом хронічний гастрит (вік 6–17 років) для виявлення *H. pylori*-інфікування використовували гістологічний та бактеріоскопічний методи, а також визначали в сироватці крові: антитіла до *H. pylori* IgA методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи “*Helicobacter pylori* IgA ELISA” (Biohit, Фінляндія); антитіла до *H. pylori* IgG методом імуноферментного аналізу з використанням тест-системи “*Helicobacter pylori* IgG ELISA” (Biohit, Фінляндія). Проводили ^{13}C -сечовинний дихальний тест – непряме біохімічне визначення уреазної активності *H. pylori* *in vivo* [9]. Збирали перший зразок видихуваного повітря “0 хвилини”, після чого дитина приймала 75 мг (при масі тіла понад 30 кг) або 50 мг (при масі тіла менше 30 кг) тест-напою з ^{13}C -сечовиною. Через 30 хвилин збирали другий зразок “30 хвилини”. Обидва зразки аналізували на спектроскопі IRIS (Wagner Analysen Technik Vertriebs GmbH, Німеччина).

Ендоскопічно виявляли у всіх обстежених дітей нодулярний гастрит та/або еритему. Діагностику морфологічних форм хронічного гастриту проводили на підставі критеріїв “Сіднейської класифікації” (1990) та її модифікації (Х’юстон, 1996). Оцінку морфологічних змін біоптатів СОШ проводили у відповідності з візуально-аналоговою шкалою Л.І. Аруїна. У всіх обстежених дітей при гістологічному дослідженні виявлено мононуклеарну інфільтрацію власної пластинки слизової оболонки, майже у всіх встановлено активний хронічний антральний гастрит (нейтрофільна інфільтрація); поверхневий гастрит у 36 дітей (62,1 %), дифузний гастрит з ураженням залоз без атрофії з фолікулярною гіперплазією у 22 (37,9 %).

Оцінку обсіменіння *H. pylori* СОШ проводили за 3 ступенями: I – до 20 мікробних тіл *H. pylori* в полі

зору; II – 21-50; III ступінь – понад 50 мікробних тіл *H. pylori* в полі зору. При гістологічному дослідженні біоптатів СОШ I ступінь обсіменіння *H. pylori* виявлено у 29 (43,9 %), II ступінь – у 23 (34,8 %), III – у 14 (21,3 %) дітей.

Для встановлення чутливості та специфічності кожного з методів діагностики *H. pylori*, антитіл до *H. pylori* в сироватці крові та ¹³C-сечовинного дихального тесту, їх результати співставляли з такими двома еталонними методами детекції *H. pylori* (гістологічного та бактеріоскопічного дослідження біоптатів СОШ). У разі співпадіння позитивного результату аналізованого тесту з позитивними результатами еталонних методів аналізований тест оцінювали як дійсно позитивний. Якщо позитивному результату аналізованого тесту відповідав негативний результат еталонних методів, його оцінювали як хибнопозитивний. У разі співпадіння негативних результатів аналізованого тесту з негативним результатом еталонних методів аналізований тест оцінювали як дійсно негативний. Якщо негативному результату аналізованого тесту відповідав позитивний результат еталонних методів, то його оцінювали як хибнонегативний.

Статистичну обробку результатів дослідження проводили з використанням пакета прикладних програм “STATISTICA 7.0”. Розраховували середнє арифметичне (M), похибку середньоарифметичного (m) та 95% довірчий інтервал (95% ДІ). Відмінності між показниками вважалися статистично значущими при $p \leq 0,05$.

Чутливість та специфічність аналізованого методу розраховували за формулами:

$$\text{Чутливість} = \frac{D_{\text{п}}}{D_{\text{п}} + X_{\text{н}}} \times 100\%,$$

ДП – кількість дійсно позитивних результатів,
XН – кількість хибнонегативних результатів.

$$\text{Специфічність} = \frac{D_{\text{н}}}{D_{\text{н}} + X_{\text{п}}} \times 100\%,$$

ДН – кількість дійсно негативних результатів,
XП – кількість хибнопозитивних результатів.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Тривалість хронічного гастриту у обстежених дітей була різною: до 1 року – у 13 дітей, 1-3 роки – у 21 дітей, тривалість понад 3-5 років – у 32 дітей.

Тривалість інфікування *H. pylori* складала: інфікування до 1 року – у 8 дітей, 1-2 роки – у 16, 2-3 роки – у 21, інфікування 4-5 років – у 9, інфікування понад 5 років – у 4 дітей.

Показники інфікування *H. pylori* у обстежених дітей у віці 7-11 років та 12-17 років були однаковими – 53,4 % і 46,6 %, відповідно.

У 58 дітей із 66 обстежених, за результатами еталонних методів, виявлено дійсно позитивні результа-

ти дослідження. Дійсно позитивні результати ¹³C-сечовинного дихального тесту встановлено у 56 дітей, і лише у 1 дитини результат був хибнопозитивним (результат еталонних методів – негативний). Показники ¹³C-сечовинного дихального тесту у дітей з ХГ: медіана склала $19,8 \pm 11,36 \text{ ‰}$, 95 % ДІ = $0 - 45,1 \text{ ‰}$. Показник ¹³C-сечовинного дихального тесту не залежав від ступеню обсіменіння *H. pylori* СОШ у обстежених дітей.

При ХГ, асоційованому з *H. pylori*, в стадії загострення у 20 дітей з низькими показниками активності інфекції *H. pylori* (антитіла до *H. pylori* класу IgA – відсутні) були наявні антитіла класу IgG, а у 26 дітей були високі показники активності інфекції *H. pylori* (антитіла до *H. pylori* IgA та IgG наявні). Серед них переважали діти з нетривалим інфікуванням *H. pylori*. У 10 дітей, *H. pylori* серопозитивних, показники активності *H. pylori* були негативними (негативні результати визначення антитіл до *H. pylori* класу IgA або позитивні результати визначення антитіл до *H. pylori* класу IgG). Таким чином, в стадії загострення ХГ спостерігаються високі показники активності інфекції *H. pylori* (високі титри антитіл до *H. pylori* класу IgA).

Основним завданням нашого дослідження є співставлення результатів ¹³C-сечовинного дихального тесту та визначення антитіл до *H. pylori* у 66 хворих на ХГ. Результати визначення антитіл до *H. pylori* та ¹³C-сечовинного дихального тесту у 66 хворих на ХГ в стадії загострення наведено в таблиці.

Вочевидь, дійсно позитивні та дійсно негативні результати ¹³C-сечовинного дихального тесту виявлено у 56 і 7 дітей, відповідно. За цими показниками, розраховано чутливість та специфічність: 96,5 % і 87,5 %, відповідно.

Порівняльна оцінка ¹³C-сечовинного дихального тесту в діагностиці *H. pylori*-інфікування дітей з хронічним гастритом показала високу його чутливість та високу специфічність. Власні результати збігаються з даними інших дослідників [5, 9].

Результати визначення антитіл до *H. pylori* також наведено в таблиці. Дійсно позитивні та дійсно негативні результати визначення антитіл до *H. pylori* класу IgA виявилися у 41 і 7 хворих, відповідно; чутливість та специфічність цього тесту – 77,3 % та 53,8 %, відповідно. Дійсно позитивні та дійсно негативні результати визначення антитіл до *H. pylori* класу IgG виявлено у 46 і 9 хворих, відповідно; чутливість та специфічність методу – 86,7 % та 69,2 %, відповідно.

Провели порівняння чутливості та специфічності зазначених двох серологічних тестів і встановили, що високі показники чутливості та специфічності властиві тесту визначення антитіл до *H. pylori* класу IgG сироватки крові: чутливість – 86,7 %, специфічність – 69,2 %, а невисокі – методу визначення антитіл до *H. pylori* класу IgA.

Порівняльна оцінка чутливості серологічних тестів із ¹³C-сечовинним дихальним тестом встано-

Таблиця

Чутливість та специфічність ^{13}C -сечовинного дихального тесту та тестів визначення антитіл до *H. pylori* у сироватці крові у дітей з хронічним гастритом, в стадії загострення

Результати дослідження	Референтні норми еталонних методів	^{13}C -сечовинний дихальний тест	Антитіла до <i>H. pylori</i> у сироватці крові	
			IgA	IgG
Дійсно позитивний	58	56	41	46
Дійсно негативний	8	7	7	9
Хибнопозитивний	–	1	6	4
Хибнонегативний	–	2	12	7
Чутливість, %	–	96,5	77,3	86,7
Специфічність, %	–	87,5	53,8	69,2

вила, що найвища чутливість у ^{13}C -сечовинного дихального тесту – 96,5 %, а також висока його специфічність – 87,5 %. Зазначене свідчить, що серологічні тести та ^{13}C -сечовинний дихальний тест є взаємозамінними та можуть доповнювати один одного, але у дітей старшого шкільного віку слід надавати перевагу ^{13}C -сечовинному дихальному тесту (не складно зібрати два зразки), що співпадає з рекомендаціями інших дослідників [3, 5, 9].

Всі 58 хворих на ХГ, асоційованих з *H. pylori*, отримували АГБТ на основі препарату вісмуту: 33 дитини отримували послідовну антигелікобактерну терапію – спочатку 5-денний подвійний комплекс (препарат вісмуту + амоксицилін), а в наступні 5 днів – потрійний комплекс (препарат вісмуту + амоксицилін + кларитроміцин); тривалість курсу лікування – 10 днів; 25 дітей – трикомпонентну 7-денну АГБТ (препарат вісмуту + амоксицилін + кларитроміцин).

Проаналізували показник неуспішної ерадикації у співставленні з базальними результатами серологічних тестів і встановили, що при відборі дітей з ХГ для проведення АГБТ слід враховувати: серопозитивні показники *H. pylori* IgG та високі показники активності інфекції *H. pylori* (позитивні результати визначення антитіл до антигену *H. pylori* класу IgA) є показанням для проведення АГБТ дітям з ХГ в стадії загострення; серопозитивні показники *H. pylori*, але за негативних показників активності інфекції *H. pylori* (негативні результати визначення антитіл до антигену *H. pylori* класу IgA), з тривалим стажем інфікування *H. pylori*, – бажано не поспішати з призначенням АГБТ, оскільки у цих дітей спостерігається неуспішна ерадикація *H. pylori*.

Таким чином, проведене нами дослідження продемонструвало доцільність оцінки у конкретної дитини її *H. pylori*-статусу на основі ^{13}C -сечовинного дихального тесту та серологічних тестів. *H. pylori* “+”-статус дитини з ХГ є критерієм відбору хворого для проведення АГБТ. Невисока вартість серологічних тестів, зручність та їх доступність в порівнянні з іншими методами діагностики *H. pylori* визначає їх клінічне значення в педіатричній практиці для визначення *H. pylori*-статусу.

В підсумку можна заключити, що ^{13}C -сечовинний дихальний тест та серологічні тести не є еквівалентними для характеристики змін у шлунку при гелікобактерній інфекції, але вони можуть слугувати діагностичними критеріями *H. pylori*-інфікування та маркерами оцінки *H. pylori*-статусу.

Перспективи подальших досліджень полягають в комплексній оцінці клінічного значення всіх доступних неінвазивних методів, в тому числі ^{13}C -сечовинного дихального тесту та стул-тесту для первинної діагностики *H. pylori*-інфікування у дітей з ХГ.

ВИСНОВКИ

У дітей з хронічним гастритом доцільно діагностувати інфікування *H. pylori* з використанням як інвазивних, так і неінвазивних методів.

H. pylori “+”-статус дитини з хронічним гастритом, за результатами ^{13}C -сечовинного дихального тесту і серологічних тестів, є показанням для проведення антигелікобактерної терапії.

^{13}C -сечовинний дихальний тест та серологічні тести є діагностичними критеріями *H. pylori*-інфекції та критеріями оцінки *H. pylori*-статусу дитини. Серологічні тести і ^{13}C -сечовинний дихальний тест доповнюють один одного при визначенні *H. pylori*-статусу.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бекетова Г.В. Хронічні гастроудоденіти в дітей і підлітків / Г.В. Бекетова // Сімейна медицина. – 2009. – №2. – С. 52-57.
2. Волосовець О.П., Салтанова С.Д. Вплив проведення антигелікобактерної терапії *H. pylori*-інфікованим батькам на рівень реінфекції *H. pylori* у дітей з досягнутою ерадикацією // Здоров'я ребенка. – 2012. – № 2 (37). – С. 25-27.

3. Салтанова С.Д. Діагностична ефективність неінвазивних методів визначення *Helicobacter pylori* у дітей // Інфекційні хвороби. – 2012. – № 2 (68). – С. 59-63.
4. Calvet X. Accuracy of diagnostic tests for *Helicobacter pylori*: a reappraisal / X. Calvet, J. Sanchez-Delgado, A. Montserrat [et al.] // Clin. Infect. Dis. – 2009. – Vol. 48, No. 10. – P. 1385-1391.
5. Couturier M. *Helicobacter pylori* diagnostics and treatment: could a lack of universal consensus be the best consensus? // Clin. Chem. – 2014. – Vol. 60, No. 4. – P. 589-594.
6. Eisen G.M. Complications of upper GI endoscopy / T.N. Baron, J.A. Dominitz // Gastrointest. Endosc. – 2002. – Vol. 55, No. 7. – P. 784-793.
7. Iranikhah A. Stool antigen tests for the detection of *Helicobacter pylori* in children / A. Iranikhah, M.R. Ghadir, S. Sarkeshikian [et al.] // Iran J. Pediatr. – 2013. – Vol. 23, No. 2. – P.138-142.
8. James R. Rick. In situ expression of cag A and risk of gastroduodenal disease in *H. pylori* infected children / J.R. Rick, M. Goldman, C. Semino-Mora [et al.] // J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 2010. – Vol. 50, No. 2. – P. 167-172.
9. Kindermann A. Influence of age on ¹³C-urea breath test results in children / A. Kindermann, H. Demmel-mair, B. Koletzko [et al.] // J. Pediatr Gastroenterol Nutr. – 2000. – Vol. 30. – P. 85-91.
10. Koletzko S. Evidence-based guidelines from ESPGHAN and NASPGHAN for *Helicobacter pylori* infection in children / S. Koletzko, N.L. Jones, K.J. Goodman / *H. pylori* Working Groups of ESPGHAN and NASPGHAN // J Pediatr. Gastroenterol. Nutr. – 2011. – Vol. 53, No. 2. – P. 230-243.
11. Kyoto global consensus report on *Helicobacter pylori* gastritis / K. Sugano, J. Tack, E.J. Kuipers [et al.] / Faculty members of Kyoto Global Consensus Conference. – Gut. – 2015. – Vol. 64, No. 9. – P. 1353-1367.
12. Malfertheiner P. European *Helicobacter* Study Group. Management of *Helicobacter pylori* infection – the Maastricht IV / Florence Consensus Report / P. Malfertheiner, F. Megraud, C.A. O’Morain [et al.] // Gut. – 2012. – Vol. 61, No. 5.
13. Priya R. *Helicobacter pylori* serology testing is a useful diagnostic screening tool for symptomatic inner city children / R. Priya, J.F. Thompson, D. Pan // Acta Paediatrica. – 2017. – Vol. 106. – P. 470-477.
14. Tutar E. Endoscopic and histopathologic findings associated with *H. pylori* infection in very young children // Dig. Dis. Sci. – 2009. – Vol. 54. – No. 1. – P. 111-117.

Отримано 06.06.2017

КЛИНИЧЕСКОЕ ЗНАЧЕНИЕ НЕИНВАЗИВНЫХ ТЕСТОВ В ДИАГНОСТИКЕ HELICOBACTER PYLORI-ИНФИЦИРОВАНИЯ ДЕТЕЙ С ХРОНИЧЕСКИМ ГАСТРИТОМ

Лукашук В.Д., Али Самех Али, Шевцова Е.Н., Бабьяк В.И., Палагнюк Н.А.

Национальный медицинский университет имени А.А.Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Нет единого мнения о преимуществах использования различных диагностических тестов для оценки *H. pylori* статуса в педиатрической практике.

Цель: сравнить ¹³C-уреазный дыхательный тест и тесты для определения антител к *H. pylori* в крови для оценки *H. pylori* статуса у детей с хроническим гастритом.

Материалы и методы. У 66 детей в возрасте 6-17 лет с верифицированным диагнозом хронический гастрит выявляли *H. pylori*-инфекцию гистологическим и бактериоскопическим методами, определяли в сыворотке антитела к *H. pylori* классов IgA и IgG методом иммуноферментного анализа (тест-системы “*Helicobacter pylori* ELISA”, Biohit, Финляндия). Проводили ¹³C-уреазный дыхательный тест. Определяли чувствительность и специфичность каждого теста.

Результаты. У 58 из 66 обследованных детей выявлено действительно положительные результаты инфицирования *H. pylori*. Давность хронического гастрита: до 1 года – у 13 детей; 1-3 года – у 21 ребенка; более 3-5 лет – у 32 детей. Давность инфицирования *H. pylori*: до 1 года – у 8 детей; инфицирование 1-2 года – у 16; 2-3 года – у 21; 4-5 лет – у 9 детей, более 5 лет – у 4 детей. Установили, что ¹³C-уреазный дыхательный тест имеет высокие чувствительность и специфичность – 96,5 % и 87,5 %, соответственно. Серологические тесты определения в крови IgG и IgA к *H. pylori*: чувствительность – 86,7 % и 77,3 %; а специфичность – 69,2 % и 53,8 %, соответственно. *H. pylori*^{“+”}-статус ребенка с хроническим гастритом, по результатам ¹³C-уреазного дыхательного теста и серологических тестов, является критерием отбора больного для проведения антихеликобактерной терапии.

Выводы. ¹³C-уреазный дыхательный тест и серологические тесты не являются эквивалентными для характеристики изменений в желудке при *H. pylori*, но дополняют друг друга при определении *H. pylori*-статуса.

Ключевые слова: хронический гастрит, инфекция *H. pylori*, ¹³C-мочевинный дыхательный тест, антитела к *H. pylori* сыворотки крови, *H. pylori*-статус, дети

**CLINICAL VALUE OF NON-INVASIVE DIAGNOSTIC TESTS FOR HELICOBACTER
PYLORI INFECTION IN CHILDREN WITH CHRONIC GASTRITIS**

Lukashuk V.D., Ali Sameh Ali, Shevtsova O.M., Babyak V.I., Palahniuk N.O.

O.O. Bohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Relevance. To diagnose *H. pylori* infection in children various non-invasive tests are used, but their clinical value is not yet established.

The aim was to compare the 13C-urea breath test and tests for serum antibodies to *H. pylori* with histological and bacterioscopic methods for detection of *H. pylori* infection in children with chronic gastritis.

Patients and methods. Sixty-six children with chronic gastritis aged 6-17 years were tested for *H. pylori* infection using histological and bacterioscopic methods along with 13C-urea breath tests and tests for serum IgA and IgG antibodies to *H. pylori* ("*Helicobacter pylori* ELISA" test kits, Biohit, Finland). The sensitivity and specificity of each test were evaluated.

Results. Fifty-eight of 66 examined children were recognized as *H. pylori* positive. The duration of chronic gastritis in examined children: less than 1 year – in 13 children, 1-3 years – in 21 children, more than 3-5 years – in 32 children. The duration of *H. pylori* infection of less than 1 year was in 8 children, 1-2 years – in 16 children, 2-3 years – in 21 children, 4-5 years – in 9 children, the duration of more than 5 years was in 4 children. The 13C-urea breath test showed high sensitivity and specificity – 96.5% and 87.5%, respectively. The sensitivity of serological tests for serum IgG and IgA antibodies to *H. pylori* was 86.7% and 77.3%, respectively, and specificity was 69.2% and 53.8%, respectively. The *H. pylori*⁺-status determined by non-invasive tests in patients with chronic gastritis can serve as a criterion for selecting them for anti-*H. pylori* therapy.

Conclusions. The 13C-urea breath test and serological tests are not equivalent and thus cannot be used for assessing changes in the gastric mucosa colonized by *H. pylori*, but the above-mentioned tests can complement each other in evaluation of *H. pylori* status.

Keywords: chronic gastritis, *H. pylori* infection, the 13C-urea breath test, serum *H. pylori* antibodies, *H. pylori*-status, children.

МЕХАНІЗМИ АЛЬТЕРАЦІЇ ТКАНИН ПАРОДОНТА ЗА ГЕНЕРАЛІЗОВАНОГО ПАРОДОНТИТУ У ХВОРИХ БЕЗ СОМАТИЧНОЇ ПАТОЛОГІЇ ТА З АРТЕРІАЛЬНОЮ ГІПЕРТЕНЗІЄЮ

Колесова Н.А., Колесова Н.В., Мєдвєдєва М.Б.

Національний медичний університет імені О.О.Богомольця (м. Київ)

revych.v@gmail.com

Рецензенти: проф. Черкасов В.Г., проф. Антоненко М.Ю.

Актуальність. Ще не до кінця розкриті механізми розвитку дисбалансу процесів ремоделювання кісткової тканини альвеолярного відростка у різних контингентів хворих.

Мета: вивчити структурне підґрунтя розвитку ушкоджень кісткової тканини за генералізованого пародонтиту у різних груп хворих з урахуванням наявності соматичної патології.

Матеріали та методи. Дослідження (клінічні, лабораторні та рентгенологічні) проведені у 101 хворого на генералізований пародонтит: 59 хворих без соматичної патології, 42 хворих з артеріальною гіпертензією. Контролем слугували 11 пацієнтів без ознак патології пародонта. Всі пацієнти були в віці 20-44 роки. Морфологічні дослідження (фарбування гематоксиліном та еозином, за ван Гізон, PAS-реакція за Мак Манусом) зубощелепних блоків від 15 померлих людей, що за життя хворіли на таку ж соматичну патологію, проведені на архівному матеріалі. В групах порівняння досліджена динаміка за хронічного та загостреного перебігу генералізованого пародонтиту.

Результати. Особливості ушкодження кісткової тканини альвеолярного відростка за генералізованого пародонтиту у хворих на артеріальну гіпертензію, пов'язані з первинним розвитком її резорбції з боку ендоста кісткомозкових просторів, що обумовлено склеротичними змінами артерій і артеріол, зниженням ступеня васкуляризації, які мають велике значення в порушенні трофіки губчатої речовини кісткової тканини і розвитку її резорбції. Вторинно до дистрофічно зміненої структури пародонта може приєднатися запалення. Початок розвитку клініко-рентгенологічних та морфологічних ознак генералізованого пародонтиту у хворих без соматичної патології первинно обумовлений наявністю в яснах хронічного запального процесу в стадії ремісії або загострення з поступовим переходом на кістку альвеолярного відростка і розвитком резорбції.

Висновки. Основні прояви патології за розвитку генералізованого пародонтиту у хворих обох груп залежать від порушення балансу між інтенсивністю процесів остеосинтеза та резорбції в бік превалювання останньої, а також від зниження остеопластичних процесів.

Ключові слова: генералізований пародонтит, особливості розвитку, артеріальна гіпертензія.

Актуальність. В сучасній стоматології генералізований пародонтит (ГП) розглядають як хронічний рецидивуючий запальний і деструктивний процес в пародонті, перебіг якого в значній мірі залежить від місцевих та загальних патогенетичних факторів [1, 3, 6, 8]. ГП є гетерогенним захворюванням, в реалізації якого велике значення набувають особливості ушкодження кісткової тканини альвеолярного відростка, які пов'язані з різними причинними факторами. В літературі ще остаточно не сформульовані чіткі пояснення механізмів розвитку основних клінічних проявів ГП, що є однією з причин недостатньої ефективності лікувально-профілактичних заходів, які застосовуються. Не викликає сумніву, що важливим фактором у розвитку ГП є дисбаланс процесів ремоделювання кісткової тканини альвеолярного відростка щелеп, причини котрого не зовсім зрозумілі, особливо у пацієнтів середнього віку, у яких темпи старіння кісткової тканини не повинні бути змінені [2, 4, 5, 7]. Тому саме розкриття особливостей механізмів розвитку дисбалансу процесів ремоделювання кісткової тканини

альвеолярного відростка, за яких резорбція переважає новоутворення, у різних контингентів хворих може допомогти в розкритті причин гетерогенності ГП.

Мета: вивчення структурного підґрунтя розвитку особливостей ушкодження кісткової тканини за ГП у різних груп хворих, з урахуванням наявності соматичної патології.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження (клінічні, лабораторні та рентгенологічні) проведені у 101 хворого на ГП, які були розподілені на 2 основні групи.

І група – 59 хворих на ГП, що розвинувся на тлі тривалого (3-5 років) перебігу хронічного катарального гінгівіту з періодичними загостреннями, без загальної патології;

ІІ група – 42 хворих на ГП, поєднаний з артеріальною гіпертензією.

Контролем слугували 11 пацієнтів без ознак патології пародонта. Всі пацієнти були в віці 20-44 роки.

Морфологічні дослідження (фарбування гематоксилином та еозином, за ван Гізон, PAS-реакція за Мак Манусом) зубощелепних блоків від 15 померлих людей, що за життя хворіли на таку ж соматичну патологію, проведені на архівному матеріалі. В групах порівняння досліджена динаміка за хронічного та загостреного перебігу ГП.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В практиці лікаря пародонтолога найбільш часто зустрічається варіант перебігу ГП, при якому у хворих на протязі декількох років на хронічний катаральний гінгівіт з періодичними загостреннями з'являються об'єктивні симптоми ураження кісткової тканини альвеолярного відростка. На рентгенограмах це проявляється у вигляді нерівномірної резорбції кортикальної пластинки на верхівках міжальвеолярних перетинок. Спонтіоз кортикальної пластинки при цьому виявляється дрібними узурами в кістковій тканині навіть у міжрецидивний період і однозначно свідчить про перехід патологічного процесу з ясен на кістку. В інших місцях вже може відмічатися повне руйнування кортикальної пластинки на верхівках міжальвеолярними перетинками і глибше, з переходом на губчасту кістку до 1/3 висоти кореня зуба. Це може свідчити про початок формування кісткових кишень. Фуркаційні дефекти на рентгенограмах у таких хворих відсутні. Ступінь активності кісткових деструктивних змін рентгенологічно визначається за характером зон резорбції та їх чіткості, особливо в губчастій речовині. Розмиті нечіткі контури вогнищ остеопороза на рентгенограмах у цього контингенту хворих зазвичай поєднуються з клінічними ознаками загостреного перебігу ГП: підвищенням кровоточивості ясен, гноєвиділенням, рухомістю зубів.

Такі клініко-рентгенологічні ознаки ГП I ступеня у цієї групи хворих мають чітке морфологічне обґрунтування: наявність в яснах хронічного запального процесу в стадії ремісії або загострення. Слід зазначити, що клітинні інфільтрати, які є однією з важливих ознак запалення, в багатьох місцях щільно контактують з періостом як на верхівках міжзубних перетинок, так і в області зубо-ясенного прикріплення (рис.1). В таких ділянках відмічається остеокластична резорбція кортикальної пластинки альвеолярного відростка, а також розповсюдження клітинних інфільтратів на циркулярну зв'язку зуба і періодонт як на верхівках міжзубних перетинок, так і на бокових стінках лунок. Відмічається також запальна деструкція волокнистого компонента і проростання на цих ділянках багаторядного плаского епітелію в періодонт. Остеокластична та гладенька резорбція розвиваються на кісткових балках губчастої речовини, що супроводжується нерівномірним збільшення діаметра кісткомозкових просторів. В них виявляються круг-

локлітинні інфільтрати, які складаються переважно з малих та середніх лімфоцитів, макрофагів та плазмоцидів. Такий же клітинний вміст інфільтратів і в сполучнотканинній основі ясен, циркулярній зв'язці зуба і періодонти в міжрецидивний період перебігу ГП. Загострення запального процесу пов'язано з посиленням в усіх структурах пародонта ушкодження стінок мікросудин, особливо капілярів та венул, а також з різким підсиленням їх проникності як для рідкої частини крові, так і для клітинних елементів. В набряклій переваскулярній тканині з'являються нейтрофільні гранулоцити, кількість яких пропорційна ступеню загострення і в цілому багато в чому визначає клінічні та рентгенологічні ознаки активності патологічного процесу.

Подальший розвиток клінічних ознак ГП обумовлений динамікою запальних та деструктивних змін в усіх структурах пародонта. Резорбція кісткової тканини альвеолярного відростка визначається збільшеним кількісним представництвом преостеокластів і остеокластів, структурні особливості котрих свідчать про їхню високу функціональну активність, що і обумовлює руйнацію кістки, посилення рухомості та елімінацію зубів. Мікроскопічно резорбція кісткової тканини перебігає з наявністю ознак хронічного запального процесу в яснах, періодонти та кістковомозкових просторах з нерівномірною руйнацією кісткових перекладин та загальним розширенням діаметра кістковомозкових просторів, що і стає підґрунтям розвитку рентгенологічних ознак дрібно-, середньо- та великокоміркуватого остеопороза кістки альвеолярного відростка. Треба особливо підкреслити, що при такому варіанті розвитку деструкції тканин пародонта в тілі щелепи структура кісткової тканини не має значущих змін ні морфологічно, ні рентгенологічно.

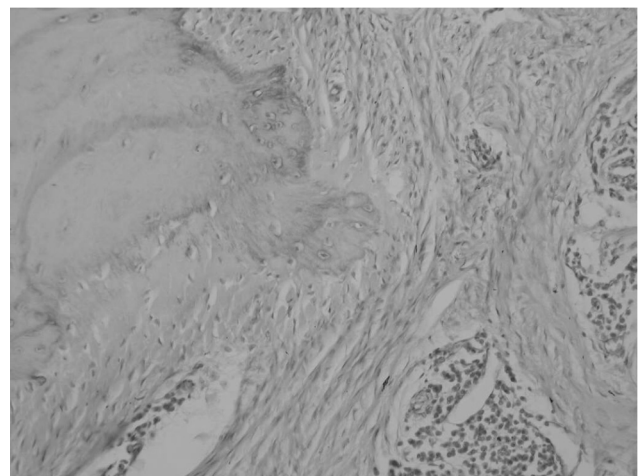


Рис. 1. Гістологічний зріз зубощелепного блока нижньої щелепи. Діагноз: генералізований пародонтит I ступеня без соматичної патології. Хронічний запальний процес в яснах, початок резорбції верхівки альвеолярного відростка. Фарбування гематоксилином і еозином. Зб.: об. 10, ок. 10.

Рентгенологічно для ГП II та III ступеня характерне руйнування кісткової тканини альвеолярного відростка, яке досягає більше 1/3 висоти міжальвеолярної перетинки аж до її повної резорбції, наявність кісткових кишень, фуркаційні дефекти. Активність процесу має ті ж самі рентгенологічні прояви, що і за ГП I ступеня. Слід зауважити, що процеси відновлення кісткової тканини за ГП значно сповільнені, що, за нашими даними, обумовлене зменшенням кількості остеобластів на одиницю площі гістологічного зрізу, а також зменшенням їхньої функціональної активності, про що свідчать дистрофічні та атрофічні зміни. Такий стан кісткоутворюючих клітин поєднується зі зниженням в них інтенсивності специфічних синтезів, а також відображає процес пригнічення диференціювання остеобластів. За ГП має місце також часткова втрата клітинних елементів (остеоцитів) із кісткових структур. Все це в комплексі пояснює причини та механізми втрати кісткової тканини альвеолярного відростка, рухомість та елімінацію зубів при ГП.

У хворих на ГП, поєднаний з артеріальною гіпертензією (II група), до особливостей розвитку слід віднести ту обставину, що основою деструкції кістки альвеолярного відростка є первинно незапальна резорбція як з боку ендоста, так і періоста, яка пов'язана з активністю процесів остеокластичної та гладенької резорбції, а також зі зниженням рівня новоутворення кістки (рис. 2).

Рентгенологічно у хворих на ГП, пов'язаний з артеріальною гіпертензією, з самого початку розвитку патологічного процесу в пародонті, ознаки резорбції кісткової тканини альвеолярного відростка виявляються в кістковомозкових просторах, діаметр котрих розширюється, що обумовлює наявність рентгенологічних ознак середньо- та великокоміркуватого ос-

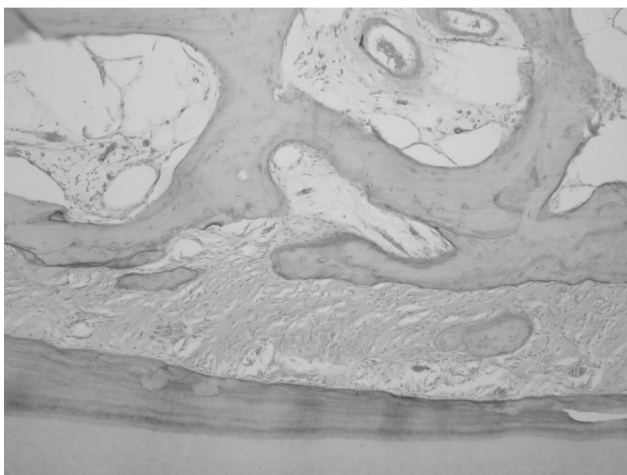


Рис. 2. Гістологічний зріз зубощелепного блока нижньої щелепи. Діагноз: генералізований пародонтит I ступеня, пов'язаний з артеріальною гіпертензією. Потовщення стінок артерій кістковомозкових просторів, резорбція кісткової тканини з боку ендоста і періоста. Відсутність ознак запалення. Фарбування гематоксиліном і еозином. Зб.: об. 10, ок. 10.

теопорозу. Щодо механізмів, які лежать в основі розвитку ГП у цієї групи хворих, то слід особливо підкреслити наявність в кістковомозкових просторах склеротично змінених артерій і артеріол уже на ранніх етапах розвитку патології пародонта, котрі призводять до порушення трофіки у зв'язку зі зниженням рівня транскапілярного обміну. Це обумовлює розвиток у всіх структурах пародонта гіпоксії, яка викликає морфологічні та функціональні порушення всіх його компонентів. Ремоделювання кісткової тканини порушене в бік превальювання процесів резорбції над новоутворенням кістки, про що мікроскопічно свідчить зменшена кількість ліній склеювання, а також збільшена кількість остеїдної немінералізованої кісткової тканини.

У цієї категорії хворих мікроскопічно виявляється зниження ступеня васкуляризації, особливо капіляризації кістковомозкових просторів, що має велике значення в порушенні трофіки губчастої речовини кісткової тканини альвеолярного відростка, так як вона не має власної судинної мережі і зазвичай кисень та продукти обміну постачаються з периферії за рахунок саме цих судин.

Дослідженнями встановлені також склеротичні зміни судин і периваскулярної сполучної тканини періодонту, які, безумовно, призводять до метаболічних та структурних змін клітин та волокнистого компонента і є структурною основою порушень демпферної функції періодонта. Важливе значення в механізмах альтерації всіх тканин пародонта у хворих на артеріальну гіпертензію має також дія циркуляторної гіпоксії серцевого генезу.

В клініці у таких хворих достатньо часто вторинно приєднується запальний процес, який носить хронічний характер. Запалення здебільшого пов'язане з мікрофлорою зубної бляшки, патогенна дія котрої полегшена у зв'язку з первинними дистрофічними змінами багаторядного плоского епітелію ясен, які обумовлюють зниження його бар'єрної функції. Мікроскопічно у таких хворих на тлі склеротичних змін судин кістковомозкових просторів, періодонта і ясен виявляються ознаки продуктивного запалення з наявністю лімфо-плазмноклітинних інфільтратів з домішкою макрофагів і тканинних базофілів, а також з присутністю активно функціонуючих фібробластів, колагенових волокон та ознак розвитку фіброзу.

ВИСНОВКИ

Генералізований пародонтит є гетерогенним захворюванням, особливості розвитку котрого обумовлені як місцевими, так і загальними чинниками.

У хворих на генералізований пародонтит без соматичної патології розвиток патологічного процесу в усіх структурах пародонта пов'язаний з первинною наявністю в яснах хронічного запального процесу,

який в динаміці захворювання розповсюджується на кісткову тканину з розвитком її резорбції. Розвивається остеокластична та гладенька резорбція за участі збільшеної кількості преостеокластів та остеокластів, структурні особливості котрих свідчать про їх високу функціональну активність. Відновлення кісткової тканини значно сповільнено.

У хворих на генералізований пародонтит, поєднаний з артеріальною гіпертензією, основою деструкції кістки альвеолярного відростка є первинно незапальна резорбція як з боку ендоста, та і періоста, що обумовлено склеротичними змінами артерій і артеріол, зниженням ступеня васкуляризації, які мають велике значення в порушенні трофіки губчатої речовини кісткової тканини і розвитку її резорбції. Вторинно до дистрофічно зміненої структури пародонта може приєднуватися запалення.

Основні прояви патології генералізованого пародонтиту у хворих обох груп дослідження залежать від порушення балансу між інтенсивністю процесів остеосинтеза та резорбції в бік превалювання останньої, а також від зниження остеопластичних процесів.

Виявлені особливості розвитку генералізованого пародонтиту обумовлюють необхідність врахування особливостей його розвитку у різних груп хворих при складанні лікувальних схем етіотропного і патогенетично спрямованого лікування.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття виконана в рамках фундаментальної НДР (№ Держ. реєстрації 0116U004902), що фінансується за рахунок коштів державного бюджету України.

ЛІТЕРАТУРА

1. Білозерський І.І. Сучасні уявлення про взаємозв'язки генералізованого пародонтиту, ревматоїдного артрити й остеопорозу / І.І. Білозерський // Проблеми остеології. – 2015. – Т. 18, № 2. – С. 51-60.
2. Дмитриева Л.А. Современные аспекты клинической пародонтологии. – М.: МЕДпресс, 2001. – 115с.
3. Костишин Н.М. Структурно-функціональні особливості ремоделювання кісткової тканини в залежності від віку та статі у жителів Львівської області / Н.М. Костишин, Л.П. Костишин // Одеський медичний журнал. – 2016. – № 3. – С. 40-44.
4. Рабухина Н.А. Рентгенологическое исследование при пародонтите // Труды V съезда Асс. стоматологов России. – М., 1999. – С. 163-164.
5. Чумакова Ю.Г. К вопросу о механизме резорбции альвеолярного отростка у больных генерализованным пародонтитом // Вісник стоматології. – 2003. – № 1. – С. 28-38.
6. Cakur B. Reliability of mandibular cortical index and mandibular bone mineral density in the detection of osteoporotic women / B. Cakur, S. Dagistan, A. Sahin [et al.] // Dentomaxillofacial Radiology. – 2009. – Vol. 38, No. 5. – P. 255-261.
7. Nackaerts O. Osteoporosis detection using intraoral densitometry / O. Nackaerts, R. Jacobs, H. Devlin [et al.] // Dentomaxillofacial Radiology. – 2008. – Vol. 37, No. 5. – P. 282-287.
8. Popat V.B. Bone mineral density in young women with primary ovarian insufficiency: results of a three-year randomized controlled trial of physiological transdermal estradiol and testosterone replacement / V.B. Popat, K.A. Calis, S.N. Kalantaridou [et al.] // The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. – 2014. – Vol. 99, No. 9. – P. 3418-3426.

Отримано 21.06.2017

МЕХАНИЗМЫ АЛЬТЕРАЦИИ ТКАНЕЙ ПАРОДОНТА ПРИ ГЕНЕРАЛИЗОВАННОМ ПАРОДОНТИТЕ У БОЛЬНЫХ БЕЗ СОМАТИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИИ И ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ

Колесова Н.А., Колесова Н., Медведєва М.Б.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Ещё не до конца раскрыты механизмы развития дисбаланса процессов ремоделирования костной ткани альвеолярного отростка у различных контингентов больных.

Цель: изучить структурные основы развития поврежденной костной ткани альвеолярного отростка при генерализованном пародонтите у разных групп больных с учетом наличия соматической патологии.

Материалы и методы. Исследования (клинические, лабораторные и рентгенологические) проведены у 101 больного с генерализованным пародонтитом: 59 больных без соматической патологии, 42 больных с артериальной гипертензией. Контролем служили 11 пациентов без признаков патологии пародонта. Все пациенты были в возрасте 20-44 года. Морфологические исследования (окраска гематоксилином и эозином, по ван Гизону, PAS-реакция по Мак Манусу) зубочелюстных блоков от 15 умерших людей, при жизни имевших такую же соматическую патологию, проведены на архивном материале. В группах сравнения исследована динамика при хроническом и обостренном течении генерализованного пародонтита.

Результаты и обсуждение. Особенности повреждения костной ткани альвеолярного отростка при генерализованном пародонтите у больных артериальной гипертензией связаны с первичным развитием ее резорбции со стороны эндоста костномозговых пространств, обусловленной склеротическими изменениями артерий и артериол, снижением степени васкуляризации, которые имеют большое значение в нарушении трофики костной ткани и развитии ее резорбции. Вторично на дистрофически измененную структуру пародонта может наслаиваться воспаление. Начало развития клинико-рентгенологических и морфоло-

гических признаков генерализованного пародонтита у больных без соматической патологии первично обусловлено наличием в десне хронического воспалительного процесса в стадии ремиссии или обострения с постепенным переходом на кость альвеолярного отростка и развитием резорбции.

Выводы. Основные проявления патологии генерализованного пародонтита у больных обеих групп зависят от нарушения баланса между интенсивностью процессов остеосинтеза и резорбции в сторону превалирования последней, а также от снижения степени остеопластических процессов.

Ключевые слова: генерализованный пародонтит, особенности развития, артериальная гипертензия.

PERIODONTAL TISSUES ALTERATION MECHANISMS AT GENERALIZED PARODONTITIS IN PATIENTS WITHOUT SOMATIC DISEASES AND WITH ARTERIAL HYPERTENSION

Kolesova N.A., Kolesova N.V., Miedviedieva M.B.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

The relevance. The imbalance development mechanisms of the bone tissue remodeling processes in the alveolar bone in different contingents of patients are not yet fully disclosed.

The aim: to study the structural basis of the development of bone tissue damage features of the alveolar process in cases of GP in different groups of patients, taking into account the presence of somatic pathology.

Materials and methods. Studies (clinical, laboratory and radiological) conducted in 101 patients with GP: 59 patients without somatic disease, 42 patients with arterial hypertension. 11 patients served as a control with no signs of periodontal pathology. All patients were aged 20-44 years. Morphological studies (hematoxylin and eosin, staining by van Ghison, PAS-reaction by Mac Manus) of 15 teeth blocks from dead people during their life suffered from the same somatic pathology are conducted on archival material. In the comparison group dynamics is investigated for chronic and exacerbated current of GP.

Results. The features of bone damage in alveolar bone at generalized periodontitis in patients with arterial hypertension associated with primary development of resorption from the side of bone marrow endost spaces, due to the sclerotic changes in the arteries and arterioles, lower vascularization level, which are important in violation of trophic spongy substance and bone resorption development. Secondary on dystrophically changed periodontal structure inflammation may overflow. Start of clinical and radiographic and morphological features of GP at patients without somatic pathology primarily due to the presence of chronic gum inflammation in remission or exacerbation with a gradual transition to the alveolar process bone and the resorption development.

Conclusions. The main manifestations of generalized periodontitis pathology development in patients of both groups of the study depend on the imbalance between the intensity of osteosynthesis processes and bone resorption towards the prevalence of the latter, as well as from the reduction of the osteoplastic processes degree.

Key words. Generalized periodontitis, features of development, arterial hypertension.

ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА БЕЗПЕЧНОСТІ СУНИЦІ ПРИ ЗАСТОСУВАННІ ІНСЕКТИЦИДІВ ТА ФУНГІЦИДІВ В СИСТЕМІ ХІМІЧНОГО ЗАХИСТУ

Зінченко Т.І.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна
tazin4enko@gmail.com

Рецензенти: проф. Омельчук С.Т., проф. Коршун М.М.

Актуальність. Суниця здебільшого споживається у свіжому вигляді, тому дуже важливо підібрати максимально безпечні та ефективні засоби хімічного захисту її насаджень.

Мета: гігієнічна оцінка безпечності суниці при застосуванні інсектицидів Нупрід 600 TH, Актеллік 500 ЕС, к.е., Форс 1,5 G, г., Актара 25 WG, в.г. і фунгіцидів Світч 62,5 в. г., Топаз 100 ЕС, к.е., Хорус 75WG, в.г. та обґрунтування гігієнічних нормативів і регламентів їх безпечного застосування з метою збереження здоров'я споживачів в умовах промислового сектору та особистих селянських господарств.

Матеріали та методи. Вміст залишкових кількостей досліджуваних пестицидів у рослинах та ягодах в системі хімічного захисту суниці визначали методами газорідинної хроматографії та високоефективної рідинної хроматографії.

Результати. Встановлено, що можливе надходження діючих речовин з суницею не перевищує допустиме добове надходження в організм людини, в тому числі з харчовими продуктами.

Висновок. В умовах особистих селянських господарств та агропромислового комплексу при дотриманні встановлених регламентів застосування інсектицидів та фунгіцидів для захисту суниці не становить небезпеки для населення з позиції гігієни харчування.

Ключові слова: інсектициди, фунгіциди, суниця, допустиме добове надходження.

Актуальність. Регулярне споживання плодів та ягід протягом всього року є одним із факторів забезпечення здорового способу життя та довголіття. Протягом останніх років спостерігається стійка позитивна динаміка у світовому виробництві ягід [5].

В "Галузевій Програмі розвитку садівництва на період до 2025 року", розробленій Міністерством аграрної політики та продовольства України, заплановано збільшення промислового виробництва ягід, зокрема, обсяги виробництва суниці планується збільшити з 57,2 до 192,0 тис. тон [1].

Суниця – це виключно цінна ягідна культура, плоди якої мають чудовий смак, дієтичні та лікувальні властивості, ніжну м'якоть. Для суниці властиве швидке вегетативне розмноження, скороплідність, урожайність [4].

Суниця містить велику кількість вітамінів (С, А, В₁, В₂ та ін.), мінеральних речовин (солі калію, кальцію, магнію, фосфору та ін.), харчових волокон [7, 8], що робить її дуже корисною в дитячому харчуванні. Суниця вирізняється добрим смаком і здебільшого споживається у свіжому вигляді, тому дуже важливо підібрати максимально безпечні та ефективні засоби хімічного захисту її насаджень.

Мета: гігієнічна оцінка безпечності суниці при застосуванні інсектицидів Нупрід 600 TH, Актеллік 500 ЕС, к.е., Форс 1,5 G, г., Актара 25 WG, в.г. та фунгіцидів Світч 62,5 в.г., Топаз 100 ЕС, к.е. та Хорус 75WG, в.г. та обґрунтування гігієнічних нормативів

і регламентів їх безпечного застосування з метою збереження здоров'я споживачів в умовах промислового сектору та особистих селянських господарств.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Загальна характеристика та умови застосування інсектицидів та фунгіцидів для захисту суниці наведені в таблиці 1.

Проведені натурні дослідження на базі навчально-дослідної станції Уманського аграрного університету НААНУ (Умань, Черкаська обл.).

Відбір проб проводили відповідно до Уніфікованих правил відбору проб сільськогосподарської продукції для визначення мікрокількостей пестицидів [9]. Санітарно-гігієнічні дослідження по вивченню динаміки вмісту залишкових кількостей діючих речовин у суниці здійснювали згідно з Методичними вказівками з гігієнічної оцінки нових пестицидів [6].

Вміст залишкових кількостей досліджуваних пестицидів у рослинах та ягодах в системі хімічного захисту суниці визначали методами газорідинної хроматографії (ГРХ) та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) за затвердженими методиками. Динаміку залишкових кількостей досліджуваних пестицидів в ягодах та листі визначали з першої доби після обробки до моменту збору врожаю. Методи та межі кількісного визначення (МКВ) досліджуваних інсектицидів і фунгіцидів у суниці наведено в таблиці 2.

Таблиця 1

Умови застосування досліджуваних інсектицидів і фунгіцидів для захисту суниці в умовах промислового сектору та особистих селянських господарств

Препарат (діючі речовини)	Період обробки	Спосіб застосування	Максимальна норма витрати препарату, кг(л)/га
Промисловий сектор			
Форс 1,5 G, г. (тефлутрин, 15 г/кг)	Під час висадки в ґрунт розсади	Внесення гранул препарату в лунки (рядки)	12,0
Актеллік 500 ЕС, к.е. (піриміфос-метил, 500 г/л)	До цвітіння та/або після масового цвітіння	Штангове обприскування	0,6
Топаз 100 ЕС, к.е. (пенконазол, 100 г/л)	Обприскування в період вегетації	Штангове обприскування	0,5
Світч 62,5 в.г. (ципродиніл, 375 г/кг, флудіоксоніл, 250 г/кг)	До цвітіння або після масового цвітіння	Штангове обприскування	1,0
Хорус 75 WG, в.г. (ципродиніл, 750 г/кг)	До цвітіння та/або після цвітіння	Штангове обприскування	0,7
Актара 25 WG, в.г. (тіаметоксам, 250 г/кг)	Після збирання врожаю	Полив у лунку	3,6
Особисті селянські господарства			
Нупрід 600 TH (імідаклоприд, 600 г/л)	Перед висадкою в ґрунт розсади	Замочування кореневої системи розсади	8,0
Актеллік 500 ЕС, к.е. (піриміфос-метил, 500 г/л)	До цвітіння та/або після збирання врожаю	Ранцeve обприскування	6,0
Світч 62,5 WG, в.г. (ципродиніл, 375 г/кг, флудіоксоніл, 250 г/кг)	До цвітіння або після масового цвітіння	Ранцeve обприскування	10,0
Хорус 75 WG, в.г. (ципродиніл, 750 г/кг)	До цвітіння та/або після цвітіння	Ранцeve обприскування	6,0

Таблиця 2

Методи та межі кількісного визначення досліджуваних пестицидів у пробах суниці та суничного соку

Речовина	Межа кількісного визначення, мг/кг					
	ягоди	метод	№ методичних вказівок	сік	метод	№ методичних вказівок
метамітрон	0,1	ВЕРХ	1149–2012	–	–	–
етофумезат	0,05	ВЕРХ	1149–2012	–	–	–
тефлутрин	0,02	ГРХ	738–2007	0,04	ГРХ	738–2007
піриміфос-метил	0,05	ГРХ	372–2002	0,1	ГРХ	372–2002
пенконазол	0,005	ГРХ	5009–89	–	–	–
ципродиніл	0,05	ГРХ	510–2004	–	–	–
флудіоксоніл	0,04	ВЕРХ	740–2007	0,05	ВЕРХ	740–2007
тіаметоксам	0,05	ГРХ	639–2006	–	–	–
імідаклоприд	0,1	ВЕРХ	1311–2014	0,1	ВЕРХ	1311–2014

Примітки: ГРХ – газорідинна хроматографія; ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія; “-” – метод відсутній

На основі фактичних даних про динаміку залишкових кількостей досліджуваних речовин у відібраних пробах нами були розраховані константи швидкості руйнації (k). Користуючись експоненціальною моделлю з використанням рівняння першого порядку [3], розраховували τ_{50} , τ_{95} , τ_{99} , як показники, що дозволяють оцінити інтенсивність процесів деструкції хімічних сполук і є часовими періодами, протягом яких вміст діючої речовини в досліджуваному об'єкті зменшується відповідно на 50 %, 95 % та 99 % порівняно з початковою концентрацією.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

На першому етапі в умовах промислового сектору для захисту суниці від шкідників та хвороб застосовували інсектицид Форс 1,5 G, г. (д.р. тефлутрин,

15 г/кг). Гранули препарату вносили в лунки (рядки) під час висадки розсади в ґрунт. На момент появи ягід суниці (30-та доба після внесення препарату під час висадки в ґрунт розсади) залишкові кількості тефлутрину в ягодах були нижчими за МКВ. У більш пізній період та на момент збору урожаю залишкових кількостей тефлутрину в суниці не виявлено.

В умовах особистих селянських господарств кореневу систему розсади перед висаджуванням у ґрунт занурювали у суміш (бовтанку), що складається з глини, перегною, води та інсектициду Нупрід 600 TH (імідаклоприд, 600 г/л).

Як показано на рисунку 1, вміст імідаклоприду в ягодах суниці уже на 20 добу після висадки розсади та на момент збору врожаю не перевищував межі кількісного визначення методу ВЕРХ. У свіжовижатому суничному соку імідаклоприд не визначався.

На другому етапі захисту суниці проводили обробку на початку відростання розетки інсектицидом Актеллік 500 ЕС, к.е. (піриміфос-метил, 500 г/л) та фунгіцидом Хорус 75WG, в.г. (ципродиніл, 750 г/кг).

Як видно з рисунку 1, уже на 20 добу після обробки залишкові кількості піриміфос-метилу в ягодах суниці не виявляли. У більш пізні періоди та на момент збору врожаю речовину не виявляли ні в ягодах суниці, ні в свіжовижатому соку.

Після застосування препарату Хорус 75WG, в.г було встановлено, що вміст залишкових кількостей ципродинілу в суниці швидко зменшується, і ципродиніл виявлявся в кількості <0,05 мг/кг на 5 добу після обробки (рис. 1, 2).

Під час викидання квітконосних бутонів проводили третій етап захисту суниці інсектицидом Актеллік 500 ЕС, к.е. (піриміфос-метил, 500 г/л), фунгіцидами Світч 62,5 в.р.г. (ципродиніл, 375 г/кг,

флудіоксоніл, 250 г/кг) та Топаз 100 ЕС, к.е. (пенконазол, 100 г/л).

Результати визначення залишкових кількостей діючих речовин препарату Світч 62,5 в.р.г. в умовах особистих селянських господарств представлені на рисунку 1.

Встановлено, що вже на 7 добу після другої обробки залишкові кількості ципродинілу та флудіоксонілу в ягодах суниці не виявляли. У більш пізній період та на момент збору врожаю діючих речовин препарату було менше за МЖК в ягодах і в соку.

При обробці в умовах промислового сектору уже на 7 добу після другої обробки залишкові кількості ципродинілу та флудіоксонілу в ягодах суниці не виявляли (рис. 2). У більш пізні періоди та на момент збору врожаю діючі речовини не визначали у ягодах та соку.

На третьому етапі обробку проводили методом поливу рослин 0,25 % розчином препарату Актара

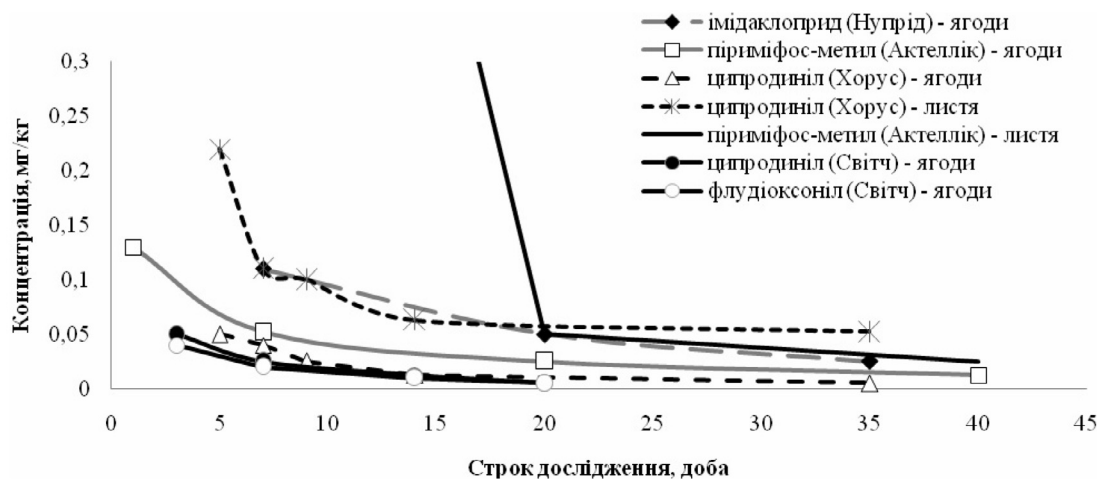


Рис. 1. Динаміка залишкових кількостей досліджуваних діючих речовин при застосуванні пестицидів в умовах особистих селянських господарств

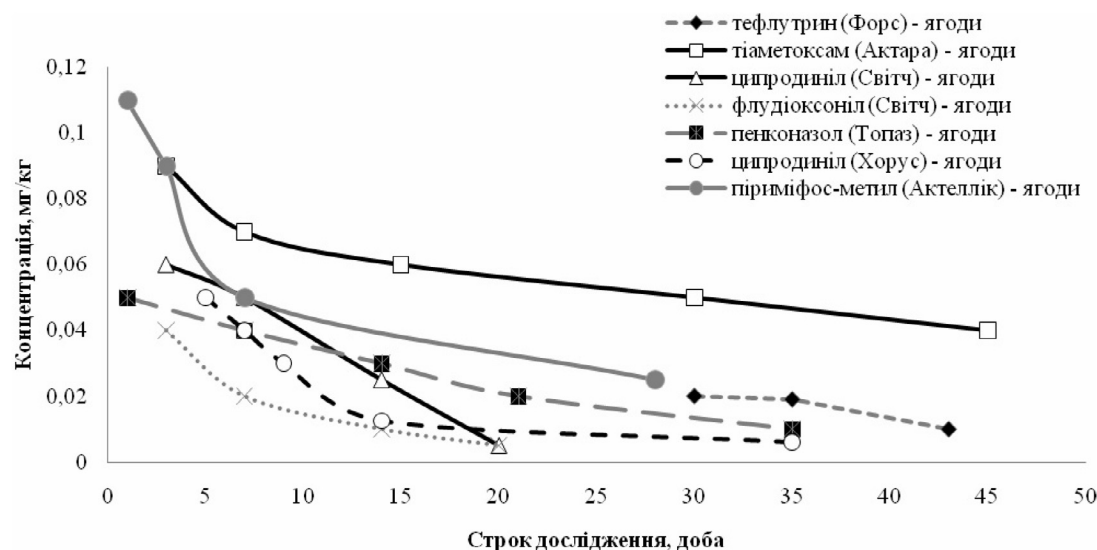


Рис. 2. Динаміка залишкових кількостей досліджуваних діючих речовин при застосуванні пестицидів в умовах промислового сектору

25 WG, в.г. (д.р. тіаметоксам, 250 г/кг) в лунку після збирання врожаю. Залишкових кількостей тіаметаксаму в рослинах суниці в усі терміни дослідження не виявлено (рис. 2).

Узагальнені показники швидкості руйнації залишкових кількостей речовин в ягодах та листі суниці представлені в таблиці 3. Враховуючи особливості застосування інсектицидів Форс 1,5 G, г. та Актара 25 WG, в.г. в ягодах та листі суниці залишкових кількостей тефлутрину та тіаметоксаму не виявлено, що унеможливило розрахунок параметрів стійкості даних діючих речовин у ягодах і листі суниці.

Згідно з класифікацією пестицидів [2], за стійкістю в ягодах суниці при застосуванні в умовах агропромислового комплексу піриміфос-метил, ципродиніл та флудіоксоніл можуть бути віднесені до III класу небезпечності (помірно небезпечні сполуки за стійкістю у вегетуючих сільськогосподарських рослинах). Пенконазол може бути віднесений до II класу небезпечності (небезпечні сполуки).

Досліджувані інсектициди та фунгіциди, що застосувались в умовах особистих селянських госпо-

дарствах (д.р. імідаклоприд, піриміфос-метил, ципродиніл, флудіоксоніл) за стійкістю у вегетуючих сільськогосподарських культурах [2] відносяться до III класу небезпечності.

З метою перевірки безпечності суниці, вирощеної при застосуванні досліджуваних пестицидів з врахуванням допустимої добової дози (ДДД) надходження речовин, визначено допустиме добове надходження (ДДН) в організм людини та допустиме добове надходження з харчовими продуктами (ДДН ХП) та встановлено можливу частку надходження діючих речовин з суницею. Результати розрахунків представлені в таблиці 4.

Якщо діючі речовини будуть наявні в суниці на рівні межі кількісного визначення методу, то в організм людини може надійти $\leq 1\%$ досліджуваних сполук від допустимого добового надходження з харчовими продуктами і $\leq 0,5\%$ від допустимого добового надходження.

В результаті проведених натурних досліджень нами було обґрунтовані величини максимально допустимих рівнів (МДР) у ягодах тефлутрину, цип-

Таблиця 3

Швидкість руйнації досліджуваних препаратів в суниці

Діюча речовина (препарат)	Показники швидкості руйнації			
	ягоди /зелена маса рослин			
	к, доба ⁻¹	τ_{50} , доба	τ_{95} , доба	τ_{99} , доба
Промисловий сектор				
тефлутрин (Форс 1,5 G, г.)				
піриміфос-метил (Актеллік 500 ЕС, к.е.)	0,050±0,002/ -	13,66±0,60/ -	59,41±2,63/ -	91,10±4,03/ -
пенконазол (Топаз 100 ЕС, к.е.)	0,047±0,003/ -	14,56±0,94/ -	63,33±4,09/ -	97,10±6,28/ -
ципродиніл (Світч 62,5 в.р.г.)	0,142±0,005/ -	4,86±0,16/ -	21,13±0,68/ -	32,39±1,05/ -
флудіоксоніл (Світч 62,5 в.р.г.)	0,117±0,007/ -	5,93±0,36/ -	25,77±1,56/ -	39,52±2,38/ -
ципродиніл (Хорус 75WG, в.г.)	0,067±0,003/0,294±0,039	10,47±0,58/2,48±0,34	45,50±2,54/10,56±1,46	69,77±3,89/16,18±2,42
тіаметоксам (Актара 25 WG, в.г.)				
Особисті селянські господарства				
імідаклоприд (Нупрід 600 ТН)	0,052±0,002/ -	13,14±0,46/ -	57,12±1,99/ -	87,59±3,06/ -
піриміфос-метил (Актеллік 500 ЕС, к.е.)	0,055±0,003/0,130±0,002	12,54±0,63/5,28±0,08	54,54±2,73/22,97±0,35	83,63±4,18/35,22±0,54
ципродиніл (Світч 62,5 WG, в.г.)	0,126±0,004/ -	5,49±0,17/ -	23,89±0,74/ -	36,64±1,13/ -
флудіоксоніл (Світч 62,5 WG, в.г.)	0,117±0,007/ -	5,93±0,36/ -	25,77±1,56/ -	39,52±2,39/ -
ципродиніл, (Хорус 75 WG)	0,073±0,003/0,036±0,001	9,50±0,39/19,36±0,74	41,32±1,69/84,18±3,23	63,36±2,59/129,08±4,95

Примітки: к – константа швидкості деструкції пестициду; $\tau_{50, 95, 99}$ – період руйнації речовини на 50 %, 95 %, 99 %
“-” – дослідження не проводили.

Таблиця 4

Розрахункове середньодобове надходження пестицидів з суницею

Речовина	Добова норма споживання, г	ДДД, мг/кг	Середньодобове надходження, мг	ДДН	Частка від ДДН, %	ДДН ХП	Частка від ДДН ХП, %
тефлутрин	65	0,005	0,001	0,3	0,33	0,21	0,47
піриміфос-метил		0,01	0,003	0,6	0,5	0,42	0,71
пенконазол		0,007	0,0003	0,42	0,07	0,294	1,02
ципродиніл		0,03	0,003	1,8	0,166	1,26	0,238
флудіоксоніл		0,015	0,0026	0,9	0,29	0,63	0,41
тіаметоксам		0,02	0,003	1,2	0,25	0,84	0,36
імідаклоприд		0,06	0,006	3,6	0,17	2,52	0,24

Примітки: ДДД – допустима добова доза; ДДН – допустиме добове надходження; ДДН ХП – допустиме добове надходження з харчовими продуктами.

Таблиця 5

Строки очікування до збору урожаю суниці

Препарат	Строк очікування до збору врожаю, діб
Форс 1,5 G, г.	30
Актеллік 500 ЕС, к.е	20
Топаз 100 ЕС, к.е.	20
Світч 62,5 в.р.г.	7
Хорус 75WG, в.г.	7
Актара 25 WG, в.г.	Не потребує
Нупрід 600 ТН	35

родинілу, флудіоксонілу, тіаметоксаму та імідаклоприду на рівні “не допускається”, так як суниця відноситься до продуктів дитячого харчування.

Обґрунтовані нами регламенти безпечно застосування фунгіцидів та інсектицидів в умовах агропромислового сектору та особистих селянських господарств представлені в таблиці 5.

Суниця очолює список продуктів “*Dirty Dozen*” за вмістом залишкових кількостей пестицидів, який щорічно складають експерти Робочої групи з охорони навколишнього середовища (США), тому люди іноді обмежують вживання ягід, проте фахівці доводять, що вміст залишкових кількостей пестицидів у суниці нижче допустимих рівнів і не становлять небезпеки для здоров’я споживачів. Користь для здоров’я дітей від вживання ягід переважає над ризиком негативного впливу пестицидів на здоров’я [10].

ВИСНОВКИ

Встановлено, що динаміка залишкових кількостей піриміфос-метилу, пенконазолу, ципродинілу, флудіоксонілу, імідаклоприду в ягодах та листях суниці при застосуванні препаратів Актеллік 500 ЕС, к.е., Топаз 100 ЕС, к.е., Світч 62,5 в.р.г., Хорус 75WG, в.г., Нупрід 600 ТН підкоряється експоненціальній залежності. Згідно з гігієнічною класифікацією пестицидів, за величинами періодів напівруйнації речовини піриміфос-метил, імідаклопрід, ципродиніл та флудіоксоніл віднесені до III класу небезпечності (помірно небезпечні сполуки за стійкістю у вегетуючих сільськогосподарських рослинах), пенконазол – до II класу небезпечності (небезпечні сполуки).

При застосуванні досліджуваних препаратів у максимальних рекомендованих нормах витрат на момент збору врожаю залишкові кількості їх діючих речовин у суниці були нижче межі кількісного визначення відповідних методів. Можливе добове надходження речовин до організму людини для тефлутрину складає 0,33 %, піриміфос-метилу – 0,5 %, пенконазолу – 0,07 %, ципродинілу – 0,166 %, флудіоксонілу – 0,29 %, тіаметоксаму – 0,25 %, імідаклоприду – 0,17 % від допустимого добового надходження.

Обґрунтовані величини максимально допустимих рівнів у ягодах тефлутрину, ципродинілу, флудіо-

ксонілу, тіаметоксаму та імідаклоприду на рівні “не допускається” та строки очікування до збору урожаю суниці при застосуванні препаратів Світч 62,5 в.р.г., Хорус 75WG, в.г. – 7 діб, Актеллік 500 ЕС, к.е., Топаз 100 ЕС, к.е. – 20 діб, Форс 1,5 G, г – 30 діб, Нупрід 600 ТН – 35 діб, Актара 25 WG, в.г. – не потребує.

Доведено, що в умовах особистих селянських господарств та агропромислового комплексу при дотриманні встановлених регламентів застосування інсектицидів Нупрід 600 ТН, Актеллік 500 ЕС, к.е., Форс 1,5 G, г., Актара 25 WG, в.г. та фунгіцидів Світч 62,5 в. г., Топаз 100 ЕС, к.е. та Хорус 75 WG, в.г. для захисту суниці не становить небезпеки для населення з позиції гігієни харчування.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організацій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Галузева Програма розвитку садівництва України на період до 2025 року / Режим доступу: <http://170820.minagro.gov.ua/node/14018>
2. Гігієнічна класифікація пестицидів за ступенем небезпечності: ДСанПіН 8.8.1.002-98. – [Затв. 28.08.98]. К.: М-во охорони здоров’я України, 1998. – 20 с.
3. Гончарук Е.И. Гигиеническое нормирование химических веществ в почве : Руководство / Е.И. Гончарук, Г.И. Сидоренко. – М.: Медицина, 1986. – 320 с.
4. Земляника и клубника : монографія / Г.Ф. Говорова, Д.Н. Говоров. - Российский государственный аграрный университет – МСХА им. К.А. Тимирязева: ООО “Проспект”, 2015. – 318 с.
5. Метлицкий О.З. Современное производство плодов и ягод // Плодоводство и ягодоводство России: Сборник научных работ / ВСТИСП – 1998. – Т. 5. – С. 20-26.
6. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов: МУ № 4263-87. – [Утв. 13.03.87]. К.: М-во здравоохранения СССР, 1988. – 210 с.
7. Покровский А.А. Химический состав пищевых продуктов. Справочные таблицы содержания ос-

- новных пищевых веществ и энергетической ценности пищевых продуктов. – М.: Пищевая промышленность, 1976. – 227 с.
8. Скурихин И.М. и др. (ред.) Химический состав пищевых продуктов. Кн. 2: Справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов. Под ред. Скурихина И.М. и Волгарева М.Н. 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Агропромиздат, 1987. – 360 с.
9. Унифицированные правила отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов. № 2051-79 от 21.08.79 г.
10. Strawberries Top Produce Pesticide List / WEBMD HEALTH NEWS / Режим доступа: <http://www.webmd.com/food-recipes/news/20170309/ewg-dirty-dozen-pesticides>.

Отримано 07.06.2017

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ КЛУБНИКИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ИНСЕКТИЦИДОВ И ФУНГИЦИДОВ В СИСТЕМЕ ХИМИЧЕСКОЙ ЗАЩИТЫ

Зинченко Т.И.

Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца, Киев, Украина

Актуальность. Земляника в основном потребляется в свежем виде, поэтому очень важно подобрать максимально безопасные и эффективные средства химической защиты ее насаждений.

Цель: гигиеническая оценка безопасности клубники при применении инсектицидов Нуприд 600 TH, Актеллик 500 ЕС, к.э., Форс 1,5 G, г., Актара 25 WG, в.г. и фунгицидов Свитч 62,5 в. г., Топаз 100 ЕС, к.э., Хорус 75WG, в.г. и обоснование гигиенических нормативов и регламентов их безопасного применения с целью сохранения здоровья потребителей в условиях промышленного сектора и личных сельских хозяйств.

Материалы и методы. Содержание остаточных количеств исследуемых пестицидов в растениях и ягодах в системе химической защиты клубники определяли методами газожидкостной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Результаты. Установлено, что возможное поступление действующих веществ с клубникой не превышает допустимого суточного поступления в организм человека, в том числе с пищевыми продуктами.

Вывод. В условиях личных сельских хозяйств и агропромышленного комплекса при соблюдении установленных регламентов применения инсектицидов и фунгицидов для защиты клубники не представляет опасности для населения с позиции гигиены питания.

Ключевые слова: инсектициды, фунгициды, клубника, допустимое суточное поступление.

HYGIENIC EVALUATION OF STRAWBERRIES SAFETY AFTER INSECTICIDES AND FUNGICIDES APPLICATION IN THE CHEMICAL PROTECTION SYSTEM

Zinchenko T.I.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Relevance. Strawberry mostly is consumed as a fresh foodstuff. So it is very important to select as most safe and effective in the same time chemical substances to protect its crops.

The aim. Hygienic assessment of strawberries safety after insecticides Nuprid 600 FS, Aktellik 500 CE, Force 1.5 G, G, Aktara 25 WG, and fungicides Switch 62.5 WG, Topaz 100 CE, And Horus 75WG, application was the purpose of the work as well as substantiation of hygienic standards and regulations for its safe application in order to preserve the health of consumers in the agroindustrial sector and private households' conditions.

Materials and methods. The content of the pesticides residues in plants and berries after its application in strawberries chemical protection system was determined by gas-liquid chromatography and high-performance liquid chromatography methods according to approved guidelines.

Results It was established that the possible intake of active substances with strawberries does not exceed the allowable daily intake for the human body including intake with food products.

Conclusion. It was proved that the insecticides and fungicides application to protect strawberries in the agricultural complex and private households' conditions does not pose a hazard to the population from the standpoints of nutrition hygiene, in the case of compliance with established regulations of its safe application.

Key words: insecticides, fungicides, strawberries, allowable daily intake.

ГІГІЄНИЧНА ОЦІНКА БЕЗПЕЧНОСТІ ПОВІТРЯНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ ПРАЦІВНИКІВ В ТЕХНОЛОГІЧНОМУ ЦИКЛІ ЗАСТОСУВАННЯ КОМБІНОВАНОГО ФУНГІЦИДУ НА ОСНОВІ ПРОПІКОНАЗОЛУ, СОЛАТЕНОЛУ ТА ЦИПРОКОНАЗОЛУ НА ЗЕРНОВИХ КОЛОСОВИХ КУЛЬТУРАХ

Кондратюк М.В., Благая А.В., Антоненко А.М.

Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна

anna.blagaia@ntu.ua

Рецензенти: проф. Омельчук С.Т., проф. Паустовський Ю.О.

Актуальність. В агропромисловому виробництві застосування препаратів хімічного захисту рослин, які містять декілька діючих речовин, набуло стабільно-позитивної динаміки обсягів застосування. За таких умов актуальною задачею фахівців профілактичної галузі медичної науки є оцінка безпечності хімічних речовин для працівників за їх комбінованої дії.

Мета: гігієнічна оцінка безпечності повітряного середовища для працівників в технологічному циклі застосування комбінованого фунгіциду на основі пропіконазолу, солатенолу та ципроконазолу на зернових колосових культурах.

Матеріали та методи. Методи натурального гігієнічного експерименту, газорідинної хроматографії, високоефективної хроматографії, статистичний, бібліографічний було використано у дослідженні.

Результати. Величини орієнтовних безпечних рівнів впливів (ОБРВ), розраховані по всім рівнянням, коливаються від 0,1 до 0,14. Середнє арифметичне значення ОБРВ склало 0,12 мг/м³, середнє геометричне – 0,1 мг/м³. Враховуючи отримані дані про токсичність, алергенні властивості, допустиму добову дозу та віддалені ефекти дії речовини, величину 0,1 мг/м³ рекомендовано до затвердження як ОБРВ солатенолу в повітрі робочої зони. Застосування досліджуваного препарату при наземній та при авіаційній обробці не супроводжується надходженням діючої речовини у повітря робочої зони працівників, задіяних в різних операціях технологічного циклу.

Висновок. Повітряне середовище під час використання досліджуваних пестицидів у системах захисту зернових колосових культур за допомогою традиційних для сучасних зерновиробничих агропромислових комплексів технічних засобів застосування є безпечним для працюючих при дотриманні встановлених агротехнічних і гігієнічних нормативів та регламентів і відповідному контролю органів державної влади.

Ключові слова: комбіновані фунгіциди, повітряне середовище, гігієнічні регламенти.

Актуальність. В агропромисловому виробництві застосування препаратів хімічного захисту рослин, які містять не лише одну, але і декілька діючих речовин (д.р.), набуло стабільно-позитивної динаміки обсягів застосування [5, 6, 7]. За таких умов актуальною задачею фахівців профілактичної галузі медичної науки є оцінка безпечності хімічних речовин для працівників за їх комбінованої дії. Необхідно відмітити, що в системах хімічного захисту рослин фунгіциди комбінованої дії є одними із препаратів, що найчастіше використовуються з метою збереження біологічних властивостей зернових колосових культур. Але оцінка їх безпечності для робітників під час виконання ними технологічних операцій з використання таких препаратів потребує медичних підходів.

Мета: гігієнічна оцінка безпечності повітряного середовища для працівників в технологічному циклі застосування комбінованого фунгіциду на основі пропіконазолу, солатенолу та ципроконазолу на зернових колосових культурах.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Для досягнення мети треба було вирішити ряд завдань: 1) визначити фактичні рівні забруднення повітря робочої зони пропіконазолом, солатенолом та ципроконазолом під час технологічного процесу обробки посівів зернових колосових культур; 2) розрахувати орієнтовно безпечні рівні впливу для нової хімічної сполуки – солатенолу – у повітрі робочої зони; 3) оцінити безпечність запропонованих для обробки посівів зернових колосових культур регламентів застосування препарату на основі пропіконазолу, солатенолу та ципроконазолу; 4) розробити інструкцію з безпечного використання цього препарату.

У дослідженні було використано методи натурального гігієнічного експерименту, газорідинної хроматографії (ГРХ), високоефективної хроматографії (ВЕРХ), статистичний, бібліографічний. Передреєстраційні випробування препарату із вмістом пропіконазолу 208,33 г/л, солатенолу 83,33 г/л та ципроконазолу 66,67 г/л під час штангової обробки посівів

зернових колосових культур проводили в с. Копачівка Деражнянського району Хмельницької області (49°21'7"N, 27°21'5"E), під час авіаційної обробки – в с. Звенячин Заставнінського району Чернівецької області (48°37'15"N, 25°44'15"E). Загальна характеристика д.р. препарату наведена в таблиці 1.

Гігієнічні дослідження умов праці проводилось відповідно до [3] та [4]. Відбір проб проводили відповідно до “Унифицированных правил отбора проб сельскохозяйственной продукции, продуктов питания и объектов окружающей среды для определения микроколичеств пестицидов”. Відповідно до поставлених завдань, оцінку умов праці проводили на основі результатів, отриманих у ході визначення вмісту залишкових кількостей пропіконазолу, солатенолу та ципроконазолу у таких об'єктах: повітря робочої зони оператора розчинного вузла під час проведення робіт із приготування робочого розчину; повітря робочої зони персоналу під час виконання робіт з обробки посівів зернових колосових культур. Обробка посівів зернових колосових культур проводилась з використанням оприскувача ОПШ-2000, оснащеного трактором МТЗ-82, та з використанням навісного дрібнокрапельного оприскувача, встановленого на мотодельтаплан “AEROS-2”. В першому випадку препарат застосовувався на ділянці площею 1 га з нормою витрат – 0,6 л/га, витрати робочого розчину – 300 л/га, в другому випадку – на ділянці площею 3 га з нормою витрат – 0,6 л/га, витрати робочого розчину 100 л/га.

Всі роботи з приготування робочого розчину і його внесення в бак проводилися на спеціально обладнаному майданчику. Контакт працюючого з препаратом міг відбуватись на 2 етапах для наземної об-

робки та на 3 етапах для авіаційної обробки: під час приготування робочого розчину і його внесення в бак (операція № 1); при обробці посівів зернових колосових культур (операція № 2): для першого випадку – тракторист, для другого – пілот дельтаплану; координація руху дельтаплану сигнальником (операція № 3).

Приготування робочого розчину проводилося тут же, безпосередньо перед початком обробки. Тривалість процесу приготування робочого розчину для штангової обробки – 10 хвилин, для авіаційної – 6 хвилин. Препарат вноситься вручну. Як для наземної, так і для авіаційної обробки в бак обприскувача, попередньо заповненого на 1/3 водою, додавали необхідну кількість препарату, вміст баку перемішували за допомогою гідравлічної мішалки, а потім додавали воду до необхідного об'єму. Тривалість самого процесу обробки посівів цільових культур для штангової обробки складала 30 хвилин, для авіаційної – 20 хвилин.

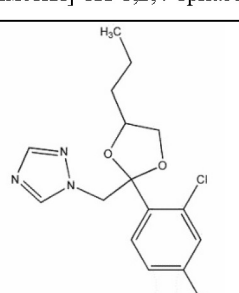
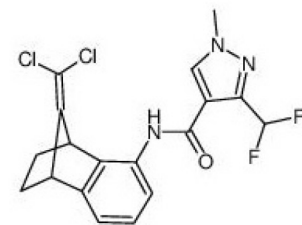
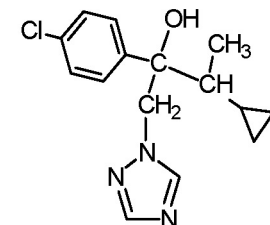
Спецодяг персоналу – комбінезон із синтетичної тканини і черевики, засоби індивідуального захисту – рукавички та респіратор (при заправці та сигнальних роботах). До початку робіт та після їх завершення було проведено медичний огляд персоналу (артеріальний тиск, пульс, стан шкірних покривів).

Проби повітря під час приготування робочого розчину та його внесення у баки, в кабіні трактора та біля пілота мотодельтаплану, біля сигнальника, а також на території посівів оброблюваних зернових колосових культур відбирались за допомогою переносного двохканального електроаспіратора ЕА-2-20.

Контроль наявності діючих речовин проводили на всіх етапах, передбачених технологією застосу-

Таблиця 1

Фізико-хімічні характеристики пропіконазолу, солатенолу, ципроконазолу

Властивості	Пропіконазол	Солатенол	Ципроконазол
Хімічна назва IUPAC	(2RS,4RS;2RS,4SR)-1-[2-(2,4-дихлорфеніл)-4-пропіл-1,3-диоксолан-2-ілметил]-1H-1,2,4-триазол	(N-[(1RS, 4SR)-(дихлорметил)-1,2,3,4-тетрагідро-1,4-метанонафталін-5-іл]-3-(дифлуорометил)-1-метилпіразол-4-карбоксамід	2RS, 3RS, 2RS, 3RS)-2-(4-хлорфеніл)-3-циклопропіл-1-(1H-1,2,4-триазол-1-іл)бутан)-2-ол
Структурна формула			
CAS №	60207-90-1	1072957-71-1	94361-06-5
Емпірична формула	C ₁₅ H ₁₇ Cl ₂ N ₃ O ₂	C ₁₈ H ₁₅ Cl ₂ F ₂ N ₃ O	C ₁₅ H ₁₈ ClN ₃ O
Відносна молекулярна маса	342,2	398,2	291,8
Тиск пари	1,3×10 ⁻⁶ Па (20°C)	3,2×10 ⁻⁹ Па (25 °C)	3,0×10 ⁻⁷ Па (20 °C)
Коефіцієнт розподілу в системі n-октанол/вода	3,72	4,3	2,91

Таблиця 2

Метеорологічні умови під час проведення робіт

Вид робіт	Метеорологічні умови				Застосована техніка
	Температура, °С	Атмосферний тиск, мм.рт.ст.	Відносна вологість, %	Швидкість руху повітря, м/с	
Штангова обробка посівів	19	742	70	1,0–2,0	ОПП-2000, агрегований трактором
Авіаційна обробка посівів	21	745	60	1,0–2,0	Дрібнокрапельний оприскувач

Примітка. В таблиці представлено результати разових вимірів температури, атмосферного тиску, відносної вологості та швидкості руху повітря в умовах натурального експерименту.

вання препарату. Визначення пропіконазолу та ципроконазолу проводили методом газорідинної хроматографії, а солатену методом високоефективної хроматографії (межа кількісного визначення в повітрі робочої зони пропіконазолу – 0,004 мг/м³, ципроконазолу – 0,05 мг/м³, межа визначення солатену – 0,016 мг/м³).

Натурні дослідження проводили за погодних умов, наведених у таблиці 2.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В ході нашого дослідження було проведено обґрунтування орієнтовних безпечних рівнів впливів (ОБРВ) для солатену у повітрі робочої зони, виконане у відповідності з “Методическими указаниями по применению расчетного метода обоснования ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны” та “Методическими рекомендациями по обоснованию ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) пестицидов в воздухе рабочей зоне при их применении в сельском хозяйстве” [1, 2]. Розрахунки були проведені за рівняннями, запропонованим для пестицидів, що не відносяться до фосфор-, хлорорганічних сполук, карбаматів, тіо- та дитіокарбаматів (рівняння 1–4). Ці рівняння базуються на розрахунку ОБРВ за величиною летальної дози (ЛД₅₀) при введенні у шлунок (X₁), ЛД₅₀ при нанесенні на шкіру (X₂) і коефіцієнт кумуляції (X₃).

Нижче представлені рівняння та величини ОБРВ, отримані за їх використанням.

$$1. y = \exp(0,58 \ln x_1 - 4,51)$$

$$y = \exp(0,58 \ln 55 - 4,51)$$

$$\text{ОБРВ} = 0,11 \text{ мг/м}^3$$

$$2. y = \exp(0,47 \ln x_1 + 0,11 \ln x_2 - 4,66)$$

$$y = \exp(0,47 \ln 55 + 0,11 \ln 2000 - 4,66)$$

$$\text{ОБРВ} = 0,14 \text{ мг/м}^3$$

$$3. y = \exp(0,52 \ln x_1 + 0,1 x_3 - 4,91)$$

$$y = \exp(0,52 \ln 55 + 0,1 \cdot 5 - 4,91)$$

$$\text{ОБРВ} = 0,01 \text{ мг/м}^3$$

$$4. y = \exp(0,46 \ln x_1 + 0,06 \ln x_2 + 0,1 x_3 - 4,87)$$

$$y = \exp(0,46 \ln 55 + 0,06 \ln 2000 + 0,1 \cdot 5 - 4,87)$$

$$\text{ОБРВ} = 0,13 \text{ мг/м}^3$$

Із отриманих нами результатів слідує, що величини ОБРВ, розраховані по всім рівнянням, коливаються від 0,1 до 0,14. Середнє арифметичне значення ОБРВ складає 0,12 мг/м³, середнє геометричне – 0,1 мг/м³.

Враховуючи отримані дані про токсичність (2 клас небезпечності за інгаляційною токсичністю, 3 клас небезпечності за пероральною та 4 клас небезпечності за дермальною токсичністю), алергенні властивості, допустиму добову дозу (ДДД) (0,05 мг/кг) та віддалені ефекти дії речовини (4 клас небезпечності за мутагенною та тератогенною активністю, 3 клас за репродуктивною токсичністю, ембріотоксичністю та канцерогенною активністю) рекомендується до затвердження величину 0,1 мг/м³ як ОБРВ солатену в повітрі робочої зони.

Результати досліджень з вивчення можливого надходження пропіконазолу, солатену та ципроконазолу у повітря робочої зони персоналу, задіяного у застосуванні препарату, представлені в таблиці 3.

Дані, наведені в таблиці 3, дозволяють зробити висновок, що під час застосування досліджуваного препарату на основі пропіконазолу, солатену та ципроконазолу з нормою витрат 0,6 л/га при наземній та при авіаційній обробці не супроводжуються надходженням діючих речовин у повітря робочої зони працівників, задіяних в різних операціях технологічного циклу, оскільки концентрація діючих речовин була нижче межі кількісного визначення методу і не перевищувала встановлені для цих діючих речовин гігієнічних нормативів (ОБРВ в повітрі робочої зони: пропіконазолу – 0,5 мг/м³, солатену – 1,0 мг/м³, ципроконазолу – 0,1 мг/м³). Але необхідно відмітити, що при авіаційній обробці в зоні дихання сигнальника через 1 годину після обробки вміст пропіконазолу становив 0,04 мг/м³, що не перевищувало встановлений для цієї речовини ОБРВ в повітрі робочої зони – 0,05 мг/м³. Не можна залишити без уваги той факт, що через годину після проведення авіаційної обробки концентрація пропіконазолу в повітрі в зоні проведення обробки складала 0,009 мг/м³. Проте в наступні строки спостереження концентрація пропіконазолу в повітрі зони обробки не визначалася.

Таблиця 3

Вміст пропіконазолу, солатенолу та ципроконазолу в пробах повітря при обробці зернових колосових культур

Проба	Вміст		
	Пропіконазол	Солатенол	Ципроконазол
Наземна обробка			
Повітря – зона приготування розчину і заправки обприскувача, (операція № 1)	<0,004*	н.в.	<0,05*
Повітря – в зоні дихання тракториста (операція № 2)	<0,004*	н.в.	<0,05*
Повітря в зоні проведення обробки посівів через 1 годину	<0,004*	н.в.	<0,05*
Повітря в зоні проведення обробки посівів через 3 години	<0,004*	н.в.	<0,05*
Повітря в зоні проведення обробки посівів через 3 доби	<0,0008*	н.в.	<0,008*
Авіаційна обробка			
Повітря – зона приготування розчину і заправки обприскувача, (операція № 1)	<0,004*	н.в.	<0,05*
Повітря – в зоні дихання пілота (операція № 2)	<0,004*	н.в.	<0,05*
Повітря – в зоні дихання сигнальника (операція №3)	0,04±0,006	н.в.	<0,05*
Повітря в зоні проведення обробки посівів через 1 годину	0,009±0,001	н.в.	<0,05*
Повітря в зоні проведення обробки посівів через 3 години	<0,004*	н.в.	<0,05*
Повітря в зоні проведення обробки посівів через 3 доби	<0,0008*	н.в.	<0,008*

Примітки: 1) н.в. – діючу речовину не виявлено вище межі визначення або виявлення методу ВЕРХ для солатенолу в повітрі робочої зони – 0,016 мг/м³, в атмосферному повітрі – 0,0005 мг/м³; 2) “*” – нижче межі кількісного визначення для пропіконазолу: в повітрі робочої зони – 0,004 мг/м³, в атмосферному повітрі – 0,0008 мг/м³; ципроконазолу: в повітрі робочої зони – 0,05 мг/м³, в атмосферному повітрі – 0,008 мг/м³ 3) у пробах, відібраних до роботи, діючі речовини не були виявлені.

Отже, ми розрахували величину ОБРВ для солатенолу в повітрі робочої зони – на рівні 0,1 мг/м³ (межа кількісного визначення ВЕРХ 0,05 мг/м³).

Дана рекомендація щодо контролю застосування препарату, який необхідно здійснювати за пропіконазолом, солатенолом та ципроконазолом. Запропонована рекомендація затверджена Постановою Головного державного санітарного лікаря України і включена в розроблену інструкцію щодо безпечного застосування препарату.

ВИСНОВОК

Повітряне середовище під час використання досліджуваних пестицидів у системах захисту зернових колосових культур за допомогою традиційних для сучасних зерновиробничих агропромислових комплексів технічних засобів застосування є безпечним для працюючих при дотриманні встановлених агротехнічних і гігієнічних нормативів та регламентів і відповідному контролю органів державної влади.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організацій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Методические указания по применению расчетного метода обоснования ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) вредных веществ в воздухе рабочей зоны. – № 1599-77, утв. МЗ СССР 02.02.1977 г.
2. Методические рекомендации по обоснованию ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ) пестицидов в воздухе рабочей зоны при их применении в сельском хозяйстве. – 2302-81, утв. МЗ СССР 17.03.1981 г.
3. Методические указания по гигиенической оценке новых пестицидов. – № 4263-87, утв. МЗ СССР 13.03.87. – К., 1988. – 212 с.
4. Методические указания по изучению и гигиенической оценке условий труда при применении пестицидов / Сост. В.Н. Ракитский, А.В. Ильницкая [и др.] утв. МЗ Р. № 01-19/140-17. – М., 1995. – 10 с.
5. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. – К.: Юнівест маркетинг, 2010. – 543 с.
6. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. – К.: Юнівест маркетинг, 2012. – 831 с.
7. Перелік пестицидів і агрохімікатів, дозволених до використання в Україні. – К.: Юнівест Медіа, 2014. – 832 с.

Отримано 26.04.2017

**ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ВОЗДУШНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ РАБОТНИКОВ
В ТЕХНОЛОГИЧЕСКОМ ЦИКЛЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ КОМБИНИРОВАННОГО ФУНГИЦИДА
НА ОСНОВЕ ПРОПИКОНАЗОЛА, СОЛАТЕНОЛА И ЦИПРОКОНАЗОЛА
НА ЗЕРНОВЫХ КОЛОСОВЫХ КУЛЬТУРАХ**

Кондратюк М.В., Благая А.В., Антоненко А.М.

Національний медичинський університет імені А.А. Богомольця, Київ, Україна

Актуальность. В агропромышленном производстве применение препаратов химической защиты растений, содержащих несколько действующих веществ, получило стабильно положительную динамику. При таких условиях актуальной задачей специалистов профилактической области медицинской науки является оценка безопасности химических веществ для работников при их комбинированном действии.

Цель: гигиеническая оценка безопасности воздушной среды для работников в технологическом цикле применения комбинированного фунгицида на основе пропиконазола, солатенола и ципроконазола на зерновых колосовых культурах.

Материалы и методы. Методы натурального гигиенического эксперимента, газожидкостной хроматографии, высокоэффективной хроматографии, статистический, библиографический.

Результаты. Величины ориентировочных безопасных уровней воздействия (ОБУВ), рассчитанные по всем уравнениям, колеблются от 0,1 до 0,14. Среднее арифметическое значение ОБУВ составило 0,12 мг/м³, среднее геометрическое – 0,1 мг/м³. Учитывая полученные данные о токсичности, аллергенных свойствах, допустимой суточной дозе и отдаленных эффектах действия вещества, величину 0,1 мг/м³ рекомендовано к утверждению как ОБУВ солатенола в воздухе рабочей зоны. Применение исследуемого препарата при наземной и при авиационной обработке не сопровождается поступлением действующего вещества в воздух рабочей зоны работников, задействованных в различных операциях технологического цикла.

Выводы. Воздушная среда при применении исследуемого пестицида в системах защиты зерновых колосовых культур с помощью традиционных для современных зернопроизводящих агропромышленных комплексов технических средств является безопасной для работающих при соблюдении установленных агротехнических и гигиенических нормативов и регламентов и соответствующем контроле органов государственной власти.

Ключевые слова: комбинированные фунгициды, воздушная среда, гигиенические регламенты.

**HYGIENIC ASSESSMENT OF AIR SAFETY FOR EMPLOYEES ENGAGED IN THE TECHNOLOGICAL
CYCLE OF THE PROPICONAZOLE, SOLATENOL AND CYPROCONAZOLE BASED COMBINED
FUNGICIDE APPLICATION ON THE CEREAL SPIKED CROPS**

Kondratiuk N., Blagaia A., Antonenko A.

Bogomolets National medical university, Kyiv, Ukraine

Relevance. Application of chemical plant protection pesticides containing several active substances has been steadily positive in agro-industrial production. The actual task of specialists in the field of preventive medical science is the assessment of the pesticides safety for workers during its combined action under such conditions.

The aim was hygienic assessment of air safety for workers in the technological cycle of application of combined fungicide containing propiconazole, solatenol and cyproconazole on cereal spiked crops.

Materials and methods. Methods of full-scale hygienic experimentation, gas-liquid chromatography, high-performance chromatography, statistical, bibliographic were used in the study.

Results. The values of the tentatively safe exposure levels (TSELs) calculated from all the equations range from 0.1 to 0.14. The average arithmetic value of the TSEL was 0.12 mg/m³, the geometric mean 0.1 mg/m³. Taking into account the received data on toxicity, allergenic properties, ADI and the long-term effects of the substance, the value of 0.1 mg/m³ was recommended for approval as TSEL for solatenol in the working zone air. Application of studied pesticide for ground and aviation treatment is not accompanied with contamination of the working zone air of workers involved in various technological cycle operations.

Conclusion. The air environment during studied pesticide application in the systems of cereal spiked crops protection using traditional for modern grain-producing agro-industrial complexes technical means is safe for workers, if to follow the established agrotechnical and hygienic standards and regulations and under corresponding control of public authorities.

Key words: combined fungicides, air environment, hygienic regulations.

**ФАРМАКОКІНЕТИЧНО / ФАРМАКОДИНАМІЧНА МОДЕЛЬ
АНТИБІОТИКОТЕРАПІЇ: КЛІНІЧНЕ ЗАСТОСУВАННЯ***Хайтович М.В.**Національний медичний університет імені О.О.Богомольця
nik3061@gmail.com*

Рецензенти: проф. Кондратюк В.С., проф. Курченко А.І.

Резюме. В сучасних умовах застосування антибактеріальних препаратів вимагає відповідних знань клінічної фармакології та основ клінічної мікробіології.

“Золотим стандартом” вивчення активності антибіотиків є визначення їх мінімальної інгібуючої концентрації (МІК).

На основі фармакокінетично / фармакодинамічної (ФК/ФД) моделі виділено 3 групи антибактеріальних засобів, ефективність яких залежить від концентрації антибіотика в крові; часу експозиції; загальної експозиції, яку відображає площа під фармакокінетичною кривою.

До першої групи належать препарати, які виявляють залежну від концентрації бактерицидну дію ($C_{max} > \text{МІК}$) і характеризуються тривалим постантибіотичним ефектом (ПАЕ) (аміноглікозиди, метронідазол, кетоліди тощо). Так, при застосуванні гентаміцину відношення $C_{max} / \text{МІК}$ 8:1 проти грамнегативних мікроорганізмів 1 раз на добу дозволяє отримати позитивний результат і уникнути побічних реакцій.

До другої групи відносяться бета-лактамі антибіотики, для яких характерна в основному залежна від часу ($T > \text{МІК}$) бактерицидна дія (при мінімальному (крім карбапенемів) постантибіотичному ефекті). Більш часте застосування подовжує час (оптимально – 40-50 % від тривалості інтервалу дозування), коли концентрація залишається вищою, ніж МІК. Також використовуються подовжені (до 3 годин) інфузії.

До третьої групи антибіотиків відповідно ФК/ФД моделі відносяться бактериостатичні препарати (азітроміцин, кліндаміцин, тетрациклін, тайгециклін і лінезолід), а також ванкоміцин і фторхінолони. Для досягнення клінічних результатів для більшості антибіотиків даної групи співвідношення 24AUC/МІК повинно бути 25-30 для грампозитивних і 100-125 для грамнегативних мікроорганізмів.

Висновок. Застосування ФК/ФД моделі дозволяє керувати долею антибіотика в організмі пацієнта для досягнення максимально можливого ефективного і безпечного лікування, уникнення антибіотикорезистентності.

Ключові слова: фармакокінетика, фармакодинаміка, концентрація-залежна антибактеріальна активність, час-залежна антибактеріальна активність.

Антибіотики – це продукти життєдіяльності (або їх синтетичні аналоги і гомологи) живих клітин (бактеріального, грибового, рослинного і тваринного походження), які вибірково пригнічують функціонування інших клітин – мікроорганізмів, пухлинних тощо.

Найважливіша властивість антибіотиків як етіотропних засобів – це специфічність відносно збудників інфекційних хвороб людини [3].

Антибіотики зменшують число збудників або затримують їх розвиток, сприяючи дії захисних сил організму [12].

На даний час до антибіотиків відносять сотні лікарських засобів (ЛЗ) різної хімічної структури (більше 20 класів), які відрізняються спектром і механізмом дії, побічними ефектами і показаннями до застосування [1].

На вирішення питання щодо призначення антибіотика конкретному пацієнту (або самостійне його використання пацієнтом у рамках самолікування) впливає велика кількість факторів на макрорівні (законодавство, політика щодо ЛЗ, практичні клінічні настанови, культура, освіта тощо) та мікрорівні

(знання та навички лікарів та фармацевтів, особистісні характеристики пацієнтів тощо) [13].

Стикаючись із проблемою вибору антибактеріального препарату (який виявиться найбільш ефективним і з найкращою переносимістю), його режиму застосування, лікар повинен визначитись із рядом факторів, пов'язаних із пацієнтом (макроорганізмом), збудником захворювання (мікроорганізмом) і з лікарським препаратом (рис.1). Враховуються: рівень природної активності антибіотиків щодо найбільш ймовірних збудників та поширення серед них набутої резистентності (при емпіричному призначенні більшості антибіотиків вибір повинен ґрунтуватися на сучасних даних про найбільш частих збудників захворювання та їх чутливості до антибіотиків у регіоні, відділенні лікувально-профілактичного закладу тощо); фармакокінетичні (в т.ч. – здатність проникати у певній концентрації у осередок інфекції), фармакодинамічні і токсикологічні властивості препаратів; наявність у антибіотиків підтверженої клінічної ефективності; можливий вплив широкого застосування антибіотика на поширення резистентності; фармакоеконімічні показники

(клінічна та мікробіологічна ефективність, ризик розвитку небажаних побічних реакцій, вплив лікування на якість життя); зручність застосування; вірогідність фальсифікації препарату (при відсутності ефекту від антибактеріальної терапії) тощо.

Серед сучасних тенденцій оптимізації антибактеріальної терапії слід виділити впровадження протоколів емпіричної антибіотикотерапії за основними нозологічними формами захворювань; розробка алгоритмів антибіотикотерапії; застосування сучасних антибіотиків з відносно високою безпекою; раціоналізація режиму дозування; відмова від ін'єкційних препаратів в амбулаторній практиці (особливо у дітей) тощо. Вважається, що для оптимізації призначення антибактеріальних засобів необхідно регулярно переглядати настанови з лікування конкретних захворювань, при яких є вірогідність розвитку антибіотикорезистентності [10].

Однак, проблема раціональної антибіотикотерапії залишається однією з найскладніших у практичній фармакотерапії. Нераціональне застосування антибіотиків обумовлює поліпрагмазію і є однією з причин як виникнення небажаних побічних реакцій, так і формування антибіотикорезистентності.

Терапевтична невдача є основною причиною зростання витрат при веденні хворих, і тому проблема антибіотикорезистентності є важливою також і через значні економічні витрати [16].

Резистентність одного мікроорганізму проти одного конкретного препарату може змінити у лікаря клінічне рішення, сприяючи тим самим зміні вибору та розвитку резистентності проти іншого антибіотика. Бактерії при цьому можуть набувати властивостей мультирезистентності, тоді як розробка нових антибіотиків стикається з численними перешкодами [8]. Із збільшенням числа збудників, стійких до антибіотиків, росте потреба у нових стратегіях, які здатні в тому числі інактивувати біоплівки патогенів [7].

Для обмеження виникнення резистентних до протимікробних препаратів бактерій важливо впровад-

жувати сучасні науково обгрунтовані методи антибіотикотерапії [18], а застосування антибактеріальних препаратів вимагає відповідних знань клінічної фармакології та основ клінічної мікробіології. Збудник має бути виявлений, ідентифікований і оцінений на предмет його чутливості до протимікробних засобів.

“Золотим стандартом” вивчення активності антибіотиків є визначення їх мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) – мінімальної концентрації антибіотика в живильному середовищі, при якій відсутні ознаки розмноження виділеного штаму. МІК характеризує ступінь чутливості збудника до антибіотика: чим нижче МІК, тим вище чутливість [3].

При виборі чутливого антибіотика отримані значення МІК порівнюють із стандартними величинами, так званими клінічними брейкпойнтами (граничними значеннями), встановленими для кожного антибіотика і мікроорганізму міжнародними організаціями хіміотерапевтів на основі фармакокінетичних, фармакодинамічних, мікробіологічних і клінічних даних. Якщо для пригнічення росту досліджуваного мікроорганізму в лунковому планшеті були необхідні концентрації антибіотика, менші або на рівні нижнього брейкпойнту МІК, то він вважається чутливим до даного антибактеріального препарату. Якщо величина МІК, отримана методом серійних розведень, перебуває між нижнім і верхнім брейкпойнтом, то чутливість проміжна; а якщо перевищує верхній брейкпойнт, то мікроорганізм вважається стійким.

Доведено, що чим більше унікальним є інфекційний збудник (при цьому є сенс застосовувати антибіотики вузького спектра), тим частіше лікар обмежений у часі, тим більш потенційно серйозним є захворювання. Однак правильно призначений антибіотик буде ефективним і добре переноситиметься [14].

Як і інші фармакологічні препарати, антибіотики характеризуються фармакокінетичними (ФК) і фармакодинамічними (ФД) параметрами.

Фармакодинаміка антибактеріальних ЛЗ полягає у їх впливі на різні етапи синтезу клітинної стінки бактерій, порушення синтезу білка або РНК в бактеріальній клітині тощо. За характером дії антибіотики прийнято ділити на бактерицидні і бактеріостатичні препарати. Основним бар'єром на шляху препарату до внутрішньоклітинних молекулярних мішеней бактерії є їх клітинна стінка. У стінці грампозитивних бактерій міститься велика кількість мукопептидів, які є основною мішенню для антимікробних препаратів. У клітинній стінці грамнегативних бактерій велика кількість ліпідів, в силу чого вона менш проникна і служить надійним бар'єром для багатьох антибактеріальних засобів. Нові напівсинтетичні пеніциліни і цефалоспорини мають гарну проникаючу здатність через ліпопосахаридний шар грамнегативних бактерій і високу активність проти більшості з них.

Клінічна фармакокінетика з'ясовує долю ЛЗ в організмі (“що відбувається із ЛЗ в організмі”)

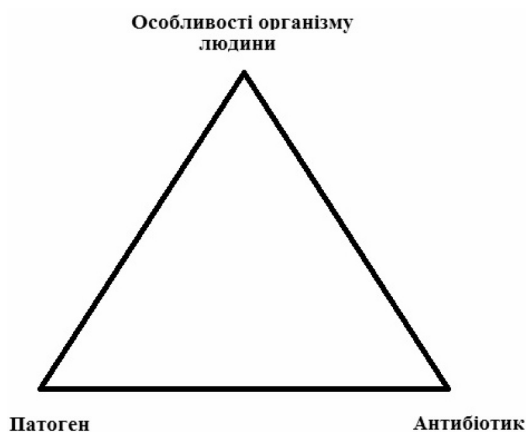


Рис. 1. Взаємозв'язок між організмом пацієнта, антибіотиком і патогеном [18].

і включає етапи надходження, всмоктування, розподіл, метаболізм та виведення ЛЗ із організму.

Основними фармакокінетичними параметрами є площа під фармакокінетичною кривою (*area under curve* – AUC); біодоступність; величина максимальної концентрації в крові (C_{max}); період напіввиведення ($T_{1/2}$); об'єм розподілу (Vd); зв'язок із білками крові, загальний кліренс (Cl) тощо.

Біодоступність – це частина дози препарату, що досягла системного кровотоку, після його позасудинного введення. Так, у амокциліну при пероральному прийомі біодоступність 75-90 % і залежить від прийому їжі. Деякі антибактеріальні агенти (фторхінолони, метронідазол, тетрациклін, доксициклін, лінезолід, триметоприм-сульфаметоксазол) мають високу біодоступність при пероральному введенні, і їх пероральні та парентеральні дози аналогічні.

ЛЗ, які тісно зв'язуються з білком сироватки крові, можуть бути не ефективними, оскільки не проникають у тканини. У таких випадках результати випробувань *in vitro* не можуть передбачити ефект в природних умовах.

Оскільки абсорбція і розподіл при пероральному прийомі займають певний час, пікові рівні в плазмі крові антибіотика виникають пізніше, і вони не такі високі, як при внутрішньовенному введенні.

AUC у разі лінійної залежності пропорційна кількості лікарської речовини, що міститься в крові.

Концентрація антибіотика в плазмі крові у пацієнтів суттєво залежить від ниркових функцій, і тому часто важко передбачити ефективність антибіотикотерапії особливо на ранній стадії лікування.

$T_{1/2}$ – час, необхідний для зниження концентрації ЛЗ в плазмі крові на 50 %. Практично за один $T_{1/2}$ з організму виводиться 50 % ЛЗ, за два періоди – 75 %, за 3 періоди – трохи менше 90% тощо. Залежність між $T_{1/2}$ і константою швидкості елімінації ($T_{1/2} = 0,693 \times \text{kel}$) важлива для вибору інтервалу між дозами.

Неврахування саме фармакокінетичних властивостей антибіотиків частіше асоціюється як з небажаними побічними реакціями на їх застосування, так і з їх неефективністю.

Також необхідно враховувати можливість розвитку лікарських взаємодій. Побічні небажані ефекти часто обумовлені лікарськими взаємодіями антибіотиків та інших ЛЗ на рівні їх метаболізму, особливо за участю ізоферментів цитохрому P 450 або адитивними токсичними ефектами. Іноді це спричиняє тяжкі ускладнення, такі як ниркова недостатність, шлуночкова аритмія [6].

ФК/ФД модель вивчає активність антибіотика або залежність між концентрацією антибіотика в плазмі або тканинах і його антимікробним ефектом. Активність антибіотика визначається не лише МІК, а й мінімальною бактерицидною концентрацією (МБК), а також швидкістю бактерицидного ефекту [3].

МБК – це мінімальна концентрація антибіотика в живильному середовищі, при якій виявляється його бактерицидна дія щодо збудника. За МБК приймають концентрацію, що забезпечує відмирання 99,99 % клітин мікробної популяції протягом періоду спостереження (як правило, протягом 8–12 год) [3]. Після введення бактерицидного антибіотика у випадку концентрації в крові ЛЗ вище за МБК, кількість бактерій може знижуватись внаслідок ефектів препарату і дії захисних сил організму. Після того, як концентрація вільної від білку фракції препарату в крові знизилась нижче від МБК, але при цьому вища за МІК, кількість бактерій може залишатись незмінною або зменшуватись внаслідок дії захисних сил організму [12].

Якщо концентрація в крові бактериостатичного препарату перевищує МІК, кількість бактерій зменшується в результаті дії лише захисних сил організму [12].

Деякі класи антимікробних препаратів при відносно невисокій концентрації (концентрація вільної фракції антибіотика в крові стає менше за МІК) виявляють антимікробну дію, що забезпечує достатню ефективність. Це пов'язано з таким феноменом як постантибіотичний ефект (ПАЕ) – проміжком часу між зниженням концентрації препарату нижче значення МІК і відновленням логарифмічного росту популяції мікроорганізмів.

ПАЕ пояснюється, зокрема, тим, що після впливу антибіотика мікроорганізми можуть стати більш чутливими до антибактеріальної активності фагоцитів. Також після дії антибіотика може змінюватись морфологія бактерій, що уповільнює швидкість їх росту [12].

ФК/ФД моделювання в наш час є важливим інструментом для раціонального застосування медикаментозної терапії. При цьому визначаються типові тенденції у взаємозв'язку між дозою, концентрацією, очікуваними ефектами та небажаними побічними реакціями на ЛЗ [9, 11, 15, 18, 20]. ФК/ФД моделі антибіотикотерапії характеризують взаємодію концентрації антибіотиків в плазмі крові з ростом бактерій, бактерицидністю і резистентністю протягом тривалого часу, і можуть бути застосовані для оптимізації режимів дозування, а також для підвищення ефективності комбінованої антибіотикотерапії [19]. Доведено, що відношення $\text{Stax}/\text{MİK}$ і $\text{AUC}/\text{MİK}$ є прогностичними факторами, які добре корелюють з бактерицидною ефективністю [9].

Оскільки ефективність деяких антимікробних агентів залежить від концентрації антибіотика в крові; інших – від часу експозиції або загальної експозиції, яку відображає площа під фармакокінетичною кривою [6], виділено 3 групи антибактеріальних засобів, які відрізняються саме за ФК/ФД параметрами (табл.).

До першої групи належать препарати, які виявляють залежну від концентрації бактерицидну дію і характеризуються тривалим ПАЕ (наприклад, аміногл-

ікозиди, даптоміцин, метронідазол, кетоліди). Для них властива кореляція між ефективністю і величиною відношення C_{max}/MIC [5, 12].

Так, у аміноглікозидів (гентаміцину, тобраміцину, амікацину) швидко виявлена залежна від концентрації бактерицидна дія. При застосуванні гентаміцину досягнення співвідношення C_{max}/MIC 8:1 проти грамнегативних мікроорганізмів дозволяє отримати позитивний результат. Тому застосовується введення високих доз протягом тривалих періодів (наприклад, 5-7 мг/кг кожні 24 год у пацієнтів з нормальною функцією нирок). Аміноглікозидам характерний тривалий ПАЕ, що призводить до пригнічення росту бактерій навіть при нульовій концентрації антибіотика в сироватці крові [9], а отже вдається уникнути токсичності, оскільки відсутня тривала мінімальна концентрація антибіотика в крові.

До другої групи відносяться препарати (наприклад, бета-лактамі антибіотики), для яких характерна в основному залежна від часу бактерицидна дія. Ці антибіотики характеризуються відносно повільною бактерицидною дією і коротким ПАЕ щодо грампозитивних коків і для них не характерний (за винятком карбапенемів) або може бути короткий ПАЕ для грамнегативних бактерій. Після того, як концентрація ЛЗ в крові зменшується нижче МБК, залишається досить велика популяція мікроорганізмів, а оскільки концентрація ЛЗ в осередку інфекції стає меншою, ніж МБК, залишкова популяція мікроорганізмів може швидко відновитись. Частота введення препарату є важливим фактором, що визначає результат для препаратів даної групи. Більш часте застосування призводить до подовження часу (оптимально – 40–50 % від тривалості інтервалу дозування), коли концентрація залишається вищою, ніж МБК [12].

Ефективність бета-лактамів може бути оптимізовано шляхом використання різних стратегій дозування, які максимізують тривалість впливу ЛЗ. Наприклад, застосовують більш дрібні фракції від загальної добової дози; призначають препарати із тривалим періодом напіввиведення (так, у цефтріаксону $T_{1/2}$ від 6 до 8 годин) або безперервні внутрішньовенні інфузії [12].

Для прикладу розглянемо оцінку режиму призначення піперациліну тазобактану. Як і всі антибіотики пеніцилінового ряду, піперацилін є час-залежним антибіотиком. У пацієнта виділено культуру *Pseudomonas aeruginosa*, чутливу до піперациліну тазобактану з МБК 16 мг/л. Згідно інструкції, дорослим пацієнтам препарат призначається в дозі 4,5 г кожні 8 год. Відомо, що через 5 хв інфузії концентрація препарату в крові становить 364 мг/л, а період напіввиведення ($T_{1/2}$) – 1 година. Оскільки майже 4,5 години (56,2 % часу) концентрація препарату в крові буде більше 16 мг/л, даний режим (3 рази на добу) є оптимальним.

Інший приклад – необхідно вирішити, як краще застосовувати амоксицилін – двічі чи тричі на добу. Оскільки концентрація амоксициліну зменшується у двічі через кожні 30-45 хвилин, лише протягом 3–3,5 годин в крові забезпечується концентрація більша МБК, тому при трьохкратному введенні ($3,5 \text{ год} \times 3 = 9,5 \text{ год}$) буде достатньо тривала (> 40 % за добу) концентрація амоксициліну в крові. Використання високих доз амоксициліну (90 мг/кг) при двохкратному введенні поєднується із 30–35 % тривалістю МБК, а отже даний режим введення асоціюється із ризиком недостатньої ефективності.

Препарат цефтібутен (пероральний антибіотик цефалоспоринового ряду III покоління), відповідно до інструкції з використання при лікуванні фарингіту, гострого бактеріального синуситу або гострого гнійного середнього отиту та ускладнених або неуспішних інфекцій сечових шляхів можна застосовувати одноразово, а при лікуванні гострого бактеріального ентериту або негоспітальної пневмонії добова доза може бути розподілена на 2 прийоми. Розрахунок показує, що при однократному прийомі стандартної дози 400 мг тривалість концентрації в крові вище МБК 35 %, тоді як 200 мг 2 рази на добу – 53 %. Тому доцільно використовувати двохкратний прийом, що забезпечить ефективність при лікуванні чутливих мікроорганізмів.

Так як кількість бактерій внаслідок антимікробної терапії поступово зменшується, можна поступово

Таблиця

Категорії антибіотиків залежно від МБК

Група	Характер дії	ПАЕ	Представники	Мета лікування	ФК/ФД параметр
1	Концентрація (дозо)- залежна	Тривалий	Аміноглікозиди Даптоміцин Кетоліди	Максимізувати концентрацію	C_{max}/MIC
2	Час-залежна	Мінімальний (у карбапенемів - тривалий)	Бета-лактами (пеніциліни, цефалоспориноні карбапенеми) Еритроміцин	Максимізувати тривалість дії	$T > MIC$
3	Залежить від загальної експозиції	Помірний	Азітроміцин Фторхінолони Кліндаміцин Лінезолід Тайгециклін Ванкомицин	Максимізувати сумарну дозу	$24AUC/MIC$

збільшувати інтервал між введенням ЛЗ, оскільки час концентрації, яка перевищує МІК, буде подовжуватись [12].

Подовжені інфузії (3–4 години) дозволені в інструкції для медичного застосування меропенему, проте є дані, що свідчать про ефективність такого введення і інших бета-лактамів, зокрема імпіпенему, цефтазидиму, цефепіму, піперациліну/тазобактаму. Більш тривалі інфузії (понад 4 годин) небажані через можливу нестабільність антибіотика в інфузійному розчині [2].

До третьої групи антибіотиків відносяться бактеріостатичні препарати (наприклад, макроліди, кліндаміцин, тетрациклін, тайгециклін і лінезолід), а також ванкоміцин і фторхінолони. Їх ефективність залежить не стільки від часу, скільки від АUC [12].

Дослідження на тваринах показали, що для досягнення клінічних результатів для більшості антибіотиків даної групи співвідношення АUC/МІК повинно бути 25–30 для грампозитивних і 100–125 для грамнегативних мікроорганізмів [9].

Для фторхінолонів при лікуванні грам-негативної флори оптимальне співвідношення 24AUC/МІК близько 125, тоді як для грампозитивної флори – досить 40 МІК. При застосуванні ванкоміцину необхідно забезпечити відношення 24AUC/МІС 125–400.

Показник МІК азитроміцину становить 0,5 мг/л або менше, що може бути трохи вище, ніж звичайний рівень піку препарату у сироватці крові (0,4 мг/л). Оскільки азитроміцин поглинається фагоцитами, ця концентрація в сироватці крові може бути достатньою для його ефективності проти внутрішньоклітинних патогенів (легіонели, мікоплазми, хламідії), але при цьому низькою для позаклітинних патогенів (наприклад, пневмококів) [9].

Так, *in vitro* доведено, що доксициклін виявляє високу час-залежну ефективність проти *M. Gallisepticum* штаму S6, що оптимізує стратегію дозування доксицикліну при лікуванні інфекції *M. Gallisepticum* [22].

Можна рекомендувати такий алгоритм клінічного застосування антибіотиків із використанням ФК/ФД моделі (рис. 2):

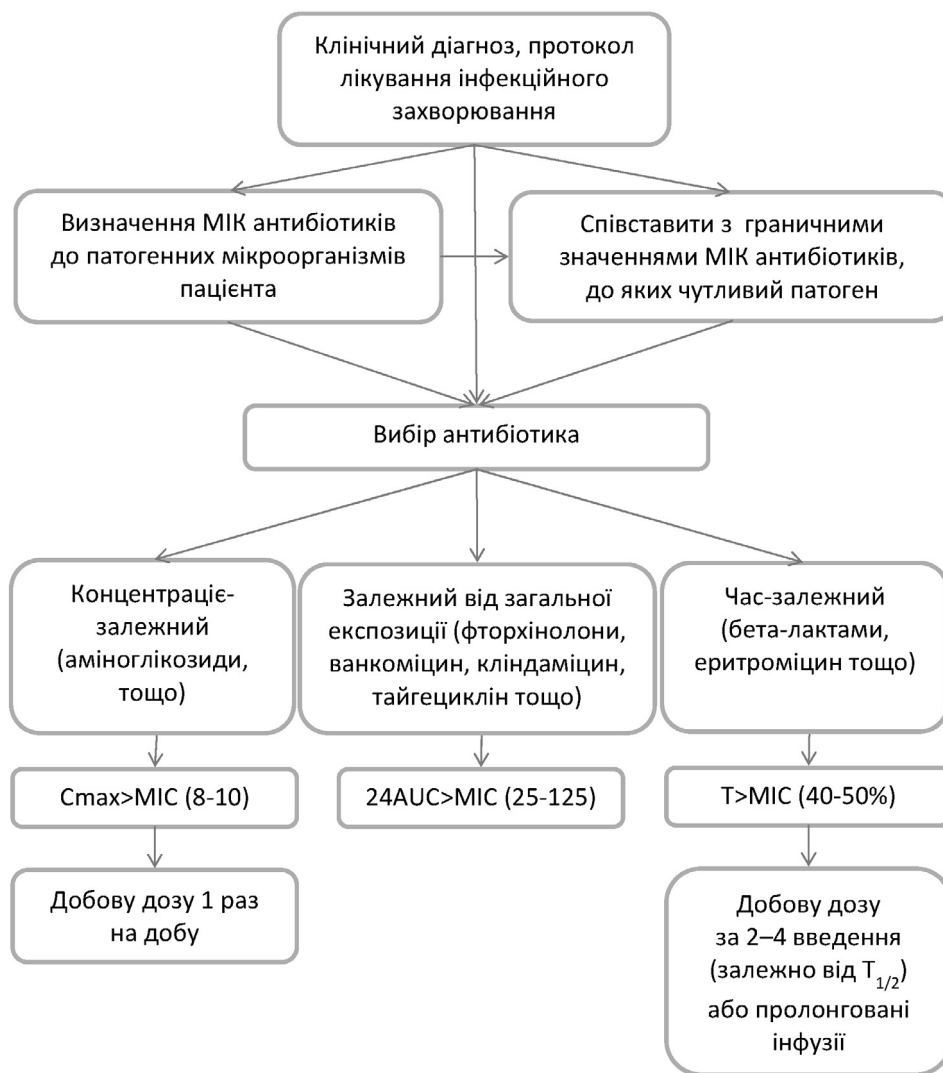


Рис. 2. Алгоритм клінічного застосування антибіотиків за допомогою ФК/ФД моделі

1. Співставити значення МІК, отриманої за результатами мікробіологічного дослідження у пацієнта, з граничними значеннями МІК, розробленими Європейським комітетом із антибіотикочутливості.

2. У випадку, якщо МІК у пацієнта менше граничних значень МІК, даний мікроорганізм у пацієнта чутливий для даного антибіотика.

3. У випадку, якщо вибір (із урахуванням відповідних клінічних протоколів) здійснюється між двома або більше антибіотиками, до яких чутливий даний мікроорганізм – перевагу слід надати тому антибіотику, значення МІК якого у пацієнта відрізняється від граничного значення МІК на більшу кількість розведень. Наприклад, відомо, що граничне значення МІК для обох антибіотиків 16 мг/л. За даними дослідження, у пацієнта встановлено, що МІК першого антибіотика – 2 мг/л, що на три розведення менше від граничного значення, а МІК другого – 8 мг/л, що лише на одне розведення антибіотика менше від граничного значення. Отже, краще обрати перший антибіотик.

4. Режим введення антибіотика повинен враховувати його дозо-залежний (вводити добову дозу краще однократно, забезпечивши концентрацію лікарського засобу в крові більше 8–10 МІК) чи час-залежний (вводити добову дозу треба частіше) характер.

Останнього часу ФК/ФД модель використовується в порівняльних дослідженнях ефективності антибіотиків [17].

При необхідності комбінованого застосування антибіотиків (що, як правило, і потрібно при лікуванні життєзагрожуючих інфекцій) слід виходити з механізму дії препаратів. Синергічний ефект виникає зазвичай при поєднанні двох антибіотиків бактерицидної дії, двох бактеріостатичних препаратів, бактеріостатичного антибіотика з бактерицидним, що порушує функцію цитоплазматичної мембрани. Антагонізм можливий при поєднанні антибіотиків, що порушує синтез мікробної стінки, з бактеріостатичним препаратом.

Використання ФК/ФД моделювання допомогло оптимізувати комбіновану антибактеріальну терапію при карбопенем- і аміноглікозидрезистентних штаммах *Pseudomonas aeruginosa* [21]. Синергічні результати отримані при комбінованому застосуванні на основі ФК/ФД моделі колістину і фосфоміцину при продукуванні ентеробактеріями метало-бета-лактамаз [4].

Отже, сучасні знання в галузі клінічної фармакокінетики та фармакодинаміки дозволяють лікарю “керувати долею ЛЗ в організмі пацієнта” для досягнення максимально можливого ефективного і безпечного лікування.

З точки зору ФК/ФД моделі, необхідно забезпечити цільову концентрацію антибіотика у осередку інфекції в організмі та його вплив на відповідну молекулярну мішень бактеріальної клітини.

Раціональне застосування протимікробних препаратів допомагає в першу чергу запобігти невблаганному збільшенню резистентності.

Конфлікт інтересів. Авторі заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організацій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Гилберт Д.Н. Стэнфордский справочник: антимикробная терапия / Д.Н.Гилберт, С.Р.Моллеринг, Д.М.Элиопулос, А.М. Сэнд // М., ЭКСМО, 2009. – 288 с. – Режим доступу: www.dovidnyk.org/dir/22/121.
2. Савельев В.С. Российские Национальные Рекомендации “Стратегия и тактика применения антимикробных средств в лечебных учреждениях России” / В.С.Савельев, Б.Р.Гельфанд, С.В.Яковлев [и др.] // Москва: ООО “Компания БОРГЕС”, 2012. – 92 стр. – Режим доступу: www.antimicrob.net/upload/files/final_strategy.pdf.
3. Черний В.И. Фармакодинамические аспекты антибактериальной терапии / В.И. Черний, А.Н. Колесников, И.В. Кузнецова // Новини медицини та фармації. – 2009. – Режим доступу: www.mif-ua.com/archive/article/7843.
4. Albur M.S. The combination of colistin and fosfomycin is synergistic against NDM-1-producing Enterobacteriaceae in vitro pharmacokinetic / pharmacodynamic model experiments / M.S. Albur, A. Noel, K. Bowker, A. MacGowan // Int J Antimicrob Agents. – 2015. – Vol. 46, No. 5. – P. 560-567. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26387065.
5. Antibiotic guidelines 2015-2016 Treatment Recommendations For Adult Inpatients. – Access mode: www.hopkinsmedicine.org/amp/guidelines/antibiotic_guidelines.pdf.
6. Bellmann R. Pharmacokinetic and pharmacodynamic aspects in antibiotic treatment / R. Bellmann // Med Klin Intensivmed Notfmed. – 2014. – Vol. 109, No3. – P. 162-166. – Access mode: <http://europepmc.org/abstract/med/24643839>.
7. Cieplik F. Antimicrobial photodynamic therapy for inactivation of biofilms formed by oral key pathogens / F. Cieplik, L. Tabenski, W. Buchalla, T. Maisch // Frontiers in microbiology. – 2014. –Vol. 5. – P. 1-171. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4130309
8. Edgar R. Reversing bacterial resistance to antibiotics by phage-mediated delivery of dominant sensitive genes / R. Edgar, N. Friedman, S. Molshanski-Mor, U. Qimron // Appl Environ Microbiol. – 2012. – Vol.78, No. 3. – P. 744-751. – Access mode: <http://aem.asm.org/content/early/2011/11/18/AEM.05741-11>
9. Finberg R.W. Clinical Use of Anti-infective Agents: A Guide on How to Prescribe Drugs Used to Treat

- Infections / R.W. Finberg, R.Guharoy // Springer Science+Business Media, LLC 2012. DOI 10.1007/978-1-4614-1068-3_2.
10. Finch R.G. Antibiotic resistance: a view from the prescriber / R.G. Finch // Nat Rev Microbiol. – 2004. – No. 12. – P. 989-994. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15550945.
 11. Karlslake J. Population Density Modulates Drug Inhibition and Gives Rise to Potential Bistability of Treatment Outcomes for Bacterial Infections / J. Karlslake, J. Maltas, P. Brumm, K.B. Wood // PLOS Computational Biology. – 2016. – P. 1-21. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27764095.
 12. Levison M.E. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Antibacterial Agents / M.E. Levison, J. H. Levison // Infect Dis Clin North Am. – 2009. – Vol. 23. – No. 4. – P. 791. Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19909885.
 13. Lundborg C.S. Understanding and changing human behaviour—antibiotic mainstreaming as an approach to facilitate modification of provider and consumer behaviour / C.S. Lundborg, A.J. Tamhankar // Upsala Journal of Medical Sciences. – 2014. – Vol. 199, No. 2. – P. 125-133. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4034549.
 14. Minodier P. Principles of antibiotic prophylaxis // P. Minodier // Arch Pediatr. – 2013. – Vol. 20, Suppl. 3. – S. 57-60. – Access mode: http://link.springer.com/article/10.1007/BF01653540.
 15. Nielsen E.I. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of antibacterial drugs / E.I. Nielsen, L.E. Friberg // Pharmacol Rev. – 2013. – Vol. 65, No. 2. – P. 1053-1090. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23803529.
 16. Nolte O. Antimicrobial resistance in the 21st century: a multifaceted challenge / O. Nolte // Protein Pept Lett. – 2014. – Vol. 21, No. 4. – P. 330-335. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24164264.
 17. Öbrink-Hansen K. Population pharmacokinetics of piperacillin in the early phase of septic shock: does standard dosing result in therapeutic plasma concentrations? / K. Öbrink-Hansen, R.V. Juul, M.Storgaard [et al] // Antimicrob Agents Chemother. – 2015. – Vol. 19, No. 11. – P. 7018-7026. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26349823.
 18. Özgenç O. Methodology in improving antibiotic implementation policies / O. Özgenç // World J Methodol. – 2016. – Vol. 6, No. 2. – P. 143-153. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27376019.
 19. Syed M.A.F. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Modeling of Antibiotics and Bacterial Drug Resistance / M.A.F. Syed // Acta Universitatis Upsaliensis. Digital Comprehensive Summaries of Uppsala Dissertations from the Faculty of Pharmacy. – 2013. – Uppsala. – 77 p. – Access mode: www.farmbio.uu.se/forskning/researchgroups/pharmacometrics/thesis-display/?tarContentId=301941.
 20. Velkov T. PK/PD models in antibacterial development / T. Velkov, P.J. Bergen, J. Lora-Tamayo, C.B. Landerdorfer // Curr Opin Microbiol. – 2013. – Vol. 16, No. 5. – P. 573-579. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23871724.
 21. Yadav R. Optimization of synergistic combination regimens against carbapenem- and aminoglycoside-resistant clinical Pseudomonas aeruginosa isolates via mechanism-based pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling / R. Yadav, J.B. Bulitta, R.L. Nation, C.B. Landerdorfer // Antimicrob Agents Chemother. – 2016. – Access mode: http://aac.asm.org/content/early/2016/11/01/AAC.01011-16.abstract.
 22. Zhang N. The PK/PD Interactions of Doxycycline against Mycoplasma gallisepticum / N. Zhang, X. Gu, X. Ye, X. Wu, B. Zhang, L. Zhang, X. Shen, H. Jiang, H. Ding // Front Microbiol. – 2016. – Vol. 4, No. 7. – P. 653. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27199972.

Отримано 25.11.2016

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИ / ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ АНТИБИОТИКОТЕРАПИИ: КЛИНИЧЕСКОЕ ПРИМЕНЕНИЕ

Хайтович Н.В.

Национальный медицинский университет имени А. А. Богомольца, Киев, Украина

В современных условиях применение антибактериальных препаратов требует соответствующих знаний клинической фармакологии и основ клинической микробиологии.

“Золотым стандартом” изучения активности антибиотиков является определение их минимальной ингибирующей концентрации (МИК).

На основе фармакокинетически / фармакодинамической (ФК/ФД) модели выделено 3 группы антибактериальных средств, эффективность которых зависит от концентрации антибиотика в крови; от времени экспозиции; от общей экспозиции, которую отражает площадь под фармакокинетической кривой.

К первой группе относятся препараты, которые проявляют зависимое от максимальной концентрации в крови бактерицидное действие ($C_{max} > \text{МИК}$) и характеризуются длительным постантибиотическим эффектом (ПАЭ) (аминогликозиды, метронидазол, кетолиды и т.д.). Так, применение гентамицина при отношении $C_{max} / \text{МИК}$ 8:1 против грамотрицательных микроорганизмов 1 раз в сутки позволяет получить положительный результат и избежать побочных реакций.

Ко второй группе относятся бета-лактамы антибиотиков, для которых характерно в основном зависимое от времени ($T > \text{МИК}$) бактерицидное действие при минимальном (кроме карбапенемов) ПАЭ. Более частое применение удлиняет время (оптимально - 40-50 % от продолжительности интервала дозирования), когда концентрация антибиотика в крови остается выше, чем МИК. Также используются удлиненные (до 3–4 часов) инфузии.

К третьей группе антибиотиков, в соответствии ФК / ФД модели, относятся бактериостатические препараты (азитромицин, клиндамицин, тетрациклин, тайгециклин и линезолид), а также ванкомицин и фторхинолоны. Для достижения клинических результатов для большинства антибиотиков данной группы соотношение $24AUC / MIC$ должно быть 25-30 для грамположительных и 100-125 для грамотрицательных микроорганизмов.

Вывод. Применение ФК/ФД модели позволяет управлять судьбой антибиотика в организме пациента для достижения максимально возможного эффективного и безопасного лечения, предотвращения антибиотикорезистентности.

Ключевые слова: фармакокинетика, фармакодинамика, концентрации-зависимая антибактериальная активность, время-зависимая антибактериальная активность.

PHARMACOKINETIC / PHARMACODYNAMIC MODEL OF ANTIBIOTIC THERAPY: CLINICAL USAGE

Khaitovych M.V.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Nowadays administration of antibacterial drugs requires appropriate knowledge of clinical pharmacology and clinical microbiology. The “gold standard” in study of antibiotics’ activity is determination of minimal inhibitory concentration (MIC).

It was emphasized 3 groups of antibacterial drugs according to pharmacokinetic / pharmacodynamic (PC/PD) model, which effectiveness depend on concentration of antibiotic in blood; time of exposition; total exposition, which reflects area under the curve.

To the first group belong drugs, which have concentration-dependent bactericidal action ($C_{max} > MIC$) and characterizes long-term postantibiotic effect (PAE) (aminoglycosides, metronidazole, ketolides etc.). For instance, in case of administration of gentamycin ratio C_{max}/MIC 8:1 against gram-negative microorganism 1 time per day allow to obtain positive result and avoid adverse reactions.

To the second group relate beta-lactam antibiotics, for which are indicative time-dependent ($T > MIC$) bactericidal action in case of minimal PAE (except carbapenems). More frequent administration prolongs time (optimally -40-50% of dosage interval duration), when concentration become higher than MIC. Furthermore, prolonged infusions are used (up to 3 hours).

To the third group of antibiotics of PC/PD model respectively refer bacteriostatic drugs (azithromycin, clindamycin, tetracycline, tigecycline, linezolid etc.) as well as vancomycin and fluoroquinolones. For obtainment of clinical results in most of antibiotics of this group the ratio $24AUC/MIC$ must be 25-30 for gram-positive and 100-125 for gram-negative microorganisms.

Conclusion. So, the usage of PC/PD model offer the ability to manage of antibiotic transformation in the patient organism for the development of maximum possible effective and safety treatment, preventing antibiotic resistance.

Key words: pharmacokinetics, pharmacodynamics, concentration-dependent antibacterial activity, time-dependent antibacterial activity.

СУЧАСНІ НАПРЯМИ МЕДИКАМЕНТОЗНОЇ НЕФРОПРОТЕКЦІЇ ПРИ ЦУКРОВОМУ ДІАБЕТИ 1 ТИПУ

Хайтович М.В., Івченко М.С.

*Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, Україна
nik3061@gmail.com*

Рецензенти: проф. Кондратюк В.С., проф. Курченко А.І.

Резюме. Цукровий діабет 1 типу – одне з найпоширеніших ендокринологічних захворювань в світі, що має стійку динаміку до зростання. Цукровий діабет характеризується розвитком тяжких інвалідизуючих ускладнень, серед яких діабетичне ураження нирок (діабетична нефропатія) являється одним з найнебезпечніших.

Патогенез діабетичної нефропатії комплексний і включає наступні компоненти: спадкові, метаболічні (гіперглікемія, гіперліпідемія, гіперурикемія), гемодинамічні (внутрішньоклубочкова гіпертензія, артеріальна гіпертензія), гормональні (гіперінсулінемія, активація ренін-ангіотензин-альдостеронової системи), імунні (дисбаланс продукції про- та протизапальних цитокінів, факторів росту, тощо) порушення.

У багатьох тканинах гіперглікемія призводить до генерування вільних радикалів. При відсутності адекватної компенсаторної відповіді з боку ендогенної антиоксидантної системи в організмі виникає оксидативний дисбаланс, що призводить до активації стрес-чутливих сигнальних шляхів, пов'язаних з транскрипційним фактором NF- κ B, мітоген-активованою протеїнкіназою, протеїнкіназою С. Результатом цього є синтез генних продуктів, що викликають клітинні пошкодження, запалення і апоптоз, та в кінцевому результаті призводять до розвитку пізніх діабетичних ускладнень.

Активно досліджуються нефропротекторні властивості різноманітних антиоксидантних сполук природного та синтетичного походження (біофлавоноїдів, вітаміну D3, ібупрофену, N-ацетилцистеїну, тощо) як в комплексному лікуванні цукрового діабету 1 типу, так і для попередження його ускладнень (зокрема, діабетичної нефропатії).

Ключові слова: цукровий діабет 1 типу, діабетична нефропатія, оксидативний стрес, фармакологічна нефропротекція.

Цукровий діабет (ЦД) належить до найбільш поширених ендокринологічних захворювань людини. В різних країнах світу кількість хворих на ЦД складає 4-7 % від загальної популяції. ЦД 1 типу (ЦД1) відмічається у 10-15 % усіх хворих на діабет, але хворіють на ЦД 1 переважно пацієнти молодого віку, число яких досягає приблизно 20 млн. [7]. Захворювання характеризується розвитком тяжких інвалідизуючих ускладнень.

Діабетична хвороба нирок (ДХН), термін якої використовують з 2007 року, може бути представлена: діабетичною нефропатією (гломерулосклерозом *Kimmelstiel-Wilson*); ішемічною нефропатією (атеросклеротичним ураженням ниркової артерії); інфекціями сечової системи (папілярний некроз); гломеруло-нефритом; функціональною гострою нирковою недостатністю; парезом детрузору та обструкцією [3, 14].

Термін “діабетична нефропатія” (ДН) означає специфічне захворювання нирок на фоні ЦД, яке характеризується розвитком вузликового або дифузного гломерулосклерозу, що призводить до розвитку хронічної ниркової недостатності [49].

У США і Японії ДН посідає перше місце за поширеністю серед усіх захворювань нирок (35–40 %). У країнах Європи “епідемія” ДН утримується на рівні 20–25 % [1].

Частота розвитку ДН при ЦД1 – 25–40 %, тобто є достатньо високою. В Україні при тривалості ЦД1 менше 10 років ДН виявляється у 5–6 % хворих, до

20 років – у 20–25 %, до 30 років – у 35–40 % та більше 40 років – у 45 %. Найчастіше ДН реєструється у хворих із тривалістю діабету 15–20 років [3].

Найбільш частими клінічними проявами ДН є мікроальбумінурія, зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), гіпертензія. Діагностичні критерії ДН: артеріальний тиск $\geq 130/80$ мм рт.ст.; альбумінурія/протеїнурія ≥ 30 мг/л; анемія (Hb < 120 г/л); гіперкреатиніємія (≥ 107 ммоль/л у жінок, та ≥ 115 ммоль/л у чоловіків) [14, 49].

Вивчається вплив спадкових факторів ризику розвитку ДН. Так, у азіатській популяції у хворих із ЦД1 та ДН частіше виявлявся I/D поліморфізм гену ACE [48].

Основним індукуючим фактором розвитку судинної патології у хворих на ЦД є гіперглікемічний стан [3, 4, 14]. Гіперглікемія спричинює токсичну дію, внутрішньоклітинно активуючи низку ферментативних реакцій, апоптоз, запалення, оксидативний стрес (ОС). Дані зміни ініціюють метаболічні, гемодинамічні порушення, активацію ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС), викликають дисбаланс продукції про- та протизапальних цитокінів, факторів росту, що призводить до ушкодження органів-мішеней при ЦД [4, 9, 14, 26].

Пошкоджуюча дія підвищеної концентрації глюкози на стінку судин може реалізуватися такими метаболічними шляхами:

1) посиленням поліолового шляху;

2) надмірним утворенням внутрішньоклітинних продуктів кінцевого глікозилювання;

3) підвищенням експресії рецепторів до них та активуючих лігандів;

4) активацією ізоформпротеїнкінази С;

5) посиленою індукцією гексозамінного шляху [26, 11, 33].

Універсальним пусковим фактором усіх вищевказаних механізмів є надмірне утворення активних форм кисню (АФК) в мітохондріях внаслідок гіперглікемії та підвищеного окиснення жирних кислот [17]. Так, у дітей із вперше виявленим ЦДІ спостерігається високий коефіцієнт окиснення ліпідів, що стадійно зростає при сформованій ДН, а також збільшується показник спорідненості гемоглобіну (Hb) із киснем, що створює патогенетичний фон для розвитку каскаду окисних реакцій [4].

Глибоко роль ОС у розвитку ДН представлено у ряді оглядів літератури [9, 11, 17, 26, 33]. Встановлено, що збільшення продукції супероксиданіонів ($O_2^{\cdot-}$), гідроксильних радикалів ($HO\cdot$), пероксиду водню (H_2O_2), оксиду нітрогену (NO) та утворення надтоксичного для клітин пероксинітриду ($ONOO\cdot$), призводить до деструкції ліпідної основи клітинних мембран, пошкодження клітин паренхіми [26, 33] з втратою функціональної повноцінності нирок [6].

Важливе значення для генерації АФК має активація РААС через продукцію ангіотензину II (АТІІ) [26].

ОС при ЦДІ пов'язаний із дисбалансом про-, антитзапальних цитокінів – трансформувальним фактором росту $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), інтерфероном γ (INF- λ), інтерлейкіном-1 α (IL-1 α), інтерлейкінами-1b (IL-1b), IL-4, IL-6, IL-12, фактором некрозу пухлин (TNF)- α [18]. Основним джерелом цих цитокінів та інших запальних медіаторів імунної системи є активовані Т- і В-лімфоцити, дендритні клітини (ДК), природні кілери (NK) клітини і макрофаги. Усі ці порушення провокують запалення, що супроводжується зростанням внутрішньоклітинної гіпоксії [39].

Маркером ОС виступає підвищений рівень 8-гидрокси-2'-деоксигуанозину (8-OHdG), який є продуктом окисненням пуринових основ ДНК при ДН [33].

Останнім часом широко досліджуються стрес-активовані сигнальні шляхи, що включають транскрипційні фактор NF- κB , який являється ключовим регулятором антиоксидантних ферментів, що здатні ініціювати транскрипцію багатьох генів, задіяних в апоптозі. Серед ініціаторів специфічних діабетичних ускладнень, синтезованих під впливом NF- κB , важливе місце займає судинний ендотеліальний фактор росту (VEGF), що також призводить до розвитку ДН [32, 38]. Кінець форми

Показано, що антиоксиданти (АО), зокрема тіолвімісні (глутатіон, N-ацетил-L-цистеїн) та їх синергети (вітамін С, α -ліпоева кислота), здатні забезпечити захист від викликаного гіперглікемією підвищення продукції VEGF [16].

При ЦД відбувається одночасно виснаження антиоксидантних можливостей організму. Внаслідок порушення концентрації іонів деяких металів і глікозилювання змінюється активність супероксиддисмутази.

АО ефект глутатіону здійснюється SH-групами, що в присутності АФК піддається зворотній S-тіоляції. Основна функція глутатіону – інактивувати АФК в реакціях відновлення, і при їх порушеннях розвивається пошкоджуючий клітину ОС. Процеси відновлення/окислення глутатіону є ферментативними, причому на них впливають АФК, токсичні речовини, дефіцит селену (необхідний для функціонування ферменту глутатіонпероксидази). При гіперглікемії спостерігається зниження рівня відновленого глутатіону (через активацію ферментів поліольного шляху окиснення глюкози) та його активності [2, 6, 41].

Розглядаючи ОС як основний механізм у розвитку ДН, розробляються підходи, направлені на корекцію порушення даної ланки, із застосуванням антиоксидантів природного та синтетичного походження [9, 29].

Широко досліджуються можливості природних АО (куркуміну, кверцетину, фукоїдану) при експериментальній ДН [15, 19, 44].

У дослідженні на 21 щурах з ДН курсове введення протягом 4 тижнів екстракту кінського каштану виявило благотворний вплив на функціональний стан нирок і мікроскопічні покращення при ДН без зниження рівня глюкози в крові [15].

Розглянуто можливі позитивні ефекти фукоїдану при стрептозотоцин-індукованому діабеті у щурів лінії *Wistar*. У групі тварин, що отримували препарат, рівні глюкози в крові, азоту сечовини, кліренсу креатиніну і екскреції креатиніну з сечею значно знизились, а рівні мікроальбуміну, інсуліну в сироватці і вміст $\beta 2$ -MG підвищились. Крім того, спостерігалося поліпшення ниркової морфометрії. Таким чином, фукоїдан поліпшує метаболічні порушення у щурів з ДН і зменшує прогресування діабетичних ниркових ускладнень [44].

Оцінено нефропротекторні, антиоксидантні і антиапоптозні ефекти флавоноїду кверцетину на моделі ДН у мишей. Встановлено, що застосування кверцетину привело до зниження поліурії і глікемії, усунуло гіпертригліцеридемію і мало значний вплив на функцію нирок, у тому числі викликало зниження протеїнурії і високого рівня сечової кислоти, сечовини та креатиніну в плазмі, які супроводжувалися позитивним впливом на структуру нирок, включаючи гломерулосклеротичні ураження. Протоchna цитометрія показала зниження ОС і апоптозу у мишей з ДН. Ці дані показують, що кверцетин ефективно послаблює стрептозотоцин-індуковану цитотоксичність в тканинах нирок [19].

Проведено дослідження, в якому вивчали ефект екстракту листя суніці на розвиток ДН у щурів. Щурам зі стрептозотоциновим ЦД перорально вводили три дози (50, 100 і 200 мг/кг) екстракту листя суніці

протягом 30 днів. Встановлено, що введення екстракту листя суниці суттєво знижує рівень глюкози в крові, азоту сечовини, креатиніну плазми крові, молекул пошкодження нирок (Kim)-1, ниркового маломолекулового діальдегіду (МДА), TNF- α , IL-6 і активності каспази-3 в діабетичних щурів. В той же час, рівень інсуліну в плазмі крові, альбуміну, сечової кислоти, ниркової каталази, супероксиддисмутази і росту ендотелію судин А (VEGF-A) були значно підвищені у діабетичних щурів, які отримували екстракт листя суниці. Результати проведеного дослідження вказують на роль екстракту листя суниці в якості антидіабетичного, антиоксидантного, протизапального і антиапоптозного препарату при ДН у щурів [24].

Кора евкомії (*Du-Zhong*) – трава, яка використовується для лікування ДН в китайській традиційній медицині. Встановлено, що пероральне введення *Du-Zhong* (1 г/кг/день) щурам зі стрептозотоциновим ЦД протягом 20 днів знижувало рівень в плазмі крові азоту сечовини і креатиніну, TGF- β і фактору росту тканин, процесів фосфорилування Smad2/3, а також зменшувало прояви ниркового фіброзу, тоді як рівень глюкози в плазмі крові не змінювався [34].

Застосування *Xiaokeping*-суміші (ХКР), традиційної китайської трав'яної композиції, в експериментальному дослідженні у щурів зі стрептозотоцин-індукованою ДН, показало, що при цьому знижується рівень глюкози, креатиніну в сироватці крові, азоту сечовини крові, білка в сечі і триацилгліцерину протягом 24 год. Гальмування розвитку ДН в щурів, що отримували *Xiaokeping*-суміш, автори пов'язували з пригніченням TGF-1/Smad7 сигналізації [47].

Проведено дослідження, метою якого було вивчити вплив сапоніну з *Dioscoreae hypoglaucae* при ДН і визначити потенційний основний механізм. Щури зі стрептозотоцин-індукованим ЦД отримували діоскорею в дозах 40, 80 і 160 мг/кг/добу протягом 12 тижнів. Результати показали, що сапоніни діоскореї суттєво знижували рівень глюкози в крові натще, глікозильованого гемоглобіну, білка в сечі, креатиніну сироватки і азоту сечовини в крові у діабетичних щурів. Результати гістологічного дослідження показали зменшення патологічних тубулярних клітин. Крім того, відмічено зменшення рівня ОС і кінцевих продуктів глікування, TGF-1 β , фактор росту сполучної тканини, і TNF- α [20].

В експериментальних роботах також широко досліджуються антиоксидантні властивості молсидоміну [31], ірбесартану [43], мангіферину [36] при ДН.

Перспективним напрямком у нефропротекції є застосування мезенхімальних стовбурових клітин [22].

Останнім часом активно досліджується стан системи вітаміну D3 при ЦД1 [13, 35, 39, 42]. Дефіцит вітаміну D3 пов'язують з високим ризиком мікросудинних і макросудинних ускладнень ЦД1 [13].

Відомо, що 1,25-(OH) 2D3 є потужним регулятором прозапальних процесів. Вітамін D3 і його анало-

ги також пригнічують секрецію IL-2 – ключового цитокіна *in vitro* [35, 39].

In vitro показано, що гіперглікемія та протеїнурія, які шкідливо впливають на клітини нирок при ДН, можуть спричиняти апоптоз тубулярних клітин, пов'язаний із активацією Fas-FADD-каспаз-8 шляху [39]. Встановлено, що захисний антиапоптозний ефект 1,25-(OH) 2D3 при апоптозі клітин нирок пов'язаний з регулювальним впливом на Smad, FADD, Bax Bcl-2. 1,25-(OH) 2D3 може гальмувати TGF- β 1-сигнальний шлях і активність каспази-3, інгібуючи рівні апоптозу, зв'язані з білками (Fas, FADD і Bax), збільшуючи експресію антиапоптозного білка Bcl-2 в клітинах нирок [23].

В експерименті доведено ренопротекторний вплив вітаміну D3 на нирковий фіброз у щурів із моделлю ДН [42].

Оскільки доведено протективну роль PPAR α в нирках, вивчається вплив на дану терапевтичну мішень. Встановлено, що простагліцин може діяти як індуктор і сприяти переміщенню PPAR β в ядро, де він блокує прозапальний NF- κ B [5].

Результати клінічного дослідження FIELD (*Fenofibrate Intervention for Event Lowering in Diabetes*) показали позитивний ефект фібратів щодо розвитку ДН та інших мікросудинних ускладнень [40]. У щурів з генетичним ЦД 2 типу терапія фенофібратом знижує екскрецію альбуміну і покращує мезангіальну експансію. Клофібрат пригнічує ОС-індуковану експресію прозапальних агентів в гломерулярних мезангіальних клітинах, що запобігає проліферації гломерулярного матриксу [37].

Як нові терапевтичні мішені у фармакотерапії ДН активно розглядаються декілька патологічних шляхів, включаючи AGEs, PKC каскад, JAK/STAT сигналізація, MAPK, mTOR, та SMAD, що також вказує на ОС-індуковану активацію запальних і апоптотичних шляхів, як основну в патогенезі ДН. У зв'язку з цим, для терапії ДН FDA погоджено застосування таких АО як α -ліпоєвої кислоти, вітаміну E та вітаміну C щодо поліольного шляху, інгібіторів AGEs – кремезину та бенфотіаміну, а також інших фармакологічних агентів, включаючи рубоксистаурин, телмісартан, рапаміцин, фенофібрат, аліскірен і манідіпін [12].

Крім того, активно досліджується роль рецепторів активаторів пероксисом (PPAR) у ренопротекції, зокрема при ЦД [5, 9, 10]. Доведено захисний вплив на нирки агоністів PPAR γ розіглітазону та піоглітазону [5], фенофібрату як агоністу PPAR α при стрептозотоциновому ЦД1 [10].

Ібупрофен – широко відомий нестероїдний протизапальний лікарський засіб, також є частковим агоністом рецепторів активаторів проліферації пероксисом γ (PPAR γ). В експериментальному дослідженні вивчали вплив ібупрофену на розвиток ДН у щурів з ЦД1, а також потенційні механізми, пов'язані з активацією PPAR γ . В результаті дослідження

встановлено, що хронічне введення тваринам ібупрофену привело до зниження виділення з сечею білка, сечовини, зменшення потовщення клубочкової базальної мембрани і фіброзу нирок, які супроводжувалися збільшенням експресії білка PPAR γ , рівня відновленого глутатіону (GSH) та активності супероксиддисмутизи, зменшенням циклооксигенази-2 (ЦОГ-2), а також зниженням рівня IL 1 β в кірковій речовині нирок щурів з ДН. Таким чином, ібупрофен являється потенційним лікарським засобом для запобігання розвитку ДН, викликаного ЦД1 завдяки наявності протизапальної та антиоксидантної дії, що реалізується через активацію PPAR γ [28].

Зазначається, що інші протизапальні речовини, такі як аспірин та інгібітори ЦОГ-2, також мають позитивний вплив у терапії ДН, знижуючи альбумінурію та покращуючи показник гемодинаміки у пацієнтів із ЦД, а комбінація аспірину із антагоністами рецепторів до ангіотензину II (АРА) мала кращі показники, ніж аспірину окремо, зменшуючи прогресування ДН [9].

Встановлено захисні ефекти інгібітора НАДФ-Н оксидази апоцинину та N-ацетилцистеїну (НАС) при стрептозотоцин-індукованому ЦД у щурів з ДН. Апоцинин та НАС суттєво зменшували порушення функції клубочків, концентрацію Na⁺, K⁺, рівні альфа-глутатіон S-трансферази в сечі і нейтрофільного желатиназа-асоційованого рівня ліпокаліну в плазмі крові [8].

До препаратів з вираженою антиоксидантною дією належить НАС. НАС володіє прямою та непрямою антиоксидантною активністю. Пряма антиоксидантна активність обумовлена здатністю вільних тіолових груп НАС взаємодіяти з АФК (кінцевим продуктом реакції є дисульфід НАС). Непряма антиоксидантна активність НАС пов'язана з тим, що він грає роль попередника глутатіону (трипептиду, що складається з глютамінової кислоти, цистеїну і гліцину) [30].

Досліджували вплив НАС на хронічну кадмій-індуковану нефротоксичність. Хронічна кадмій-індукована нефротоксичність характеризується незворотними порушеннями в нирках на пізніх стадіях, і на даний час не існує методів її усунення. Дослідження проводили на щурах-самках лінії *Sprague-Dawley*, які отримували 5 разів на тиждень протягом 26 тижнів ін'єкцію кадмію хлориду в дозі 5 мкмоль на 1 кг маси тіла. Явища нефротоксичності (поява білка і підвищення вмісту лактатдегідрогенази в сечі) відмічали на 10-му тижні. Введення НАС, починаючи з 13-го тижня, попереджало подальший розвиток нефротоксичності. Продовження введення НАС після 26-го тижня (тобто після припинення введення кадмію) сприяло швидкому згасанню симптомів навіть при вираженій нефротоксичності. Зроблено висновок, що НАС проявляє свою захисну дію за рахунок зниження перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) і поліпшення антиоксидантного стану внаслідок його антиоксидантних властивостей [45].

В експерименті на щурах лінії *Sprague-Dawley* встановлено, що НАС суттєво знижує нефротоксичність циклоспорину, пов'язану із погіршенням кровопостачання нирок і накопиченням у нирковій тканині АФК. Протягом 3 тижнів тварини однієї групи отримували циклоспорин у дозі 20 мг/кг, іншої групи – циклоспорин в поєднанні з НАС. Ефект оцінювали за зміною рівня сечовини і креатиніну в плазмі крові, а також за даними гістологічного дослідження біоптатів нирок. Відмічено, що застосування НАС досить успішно захищало ниркову тканину від окисних пошкоджень циклоспорину [31].

Серед клінічних випробувань НАС, зареєстрованих в реєстрі ВООЗ [46], майже третина присвячена застосуванню препарату для профілактики контраст-індукованої нефропатії (КІН), в основному при різних кардіохірургічних втручаннях і маніпуляціях на периферичних артеріях, що проводяться в т.ч. і на тлі ниркової недостатності. Препарат застосовують також при лікуванні власне ниркової недостатності (10 % досліджень), причому як на додіалізній стадії, так і при діалізі [2].

Так, систематичний огляд та мета-аналіз рандомізованих клінічних досліджень (РКД) за участю 3466 пацієнтів показав, що застосування НАС суттєво знижує КІН у хворих з раніше існуючою нирковою недостатністю або ЦД. Однак, в дев'яти РКД, які порівнювали застосування НАС в порівнянні з контролем у пацієнтів з ЦД, не виявлено впливу на запобігання КІН [25].

При ДН НАС досліджувався ще мало. Так, у експериментальному дослідженні вивчено терапевтичні ефекти застосування олеїнової кислоти та НАС при ДН у щурів. Препарати вводили тваринам перорально через зонд в дозі 100 мг/кг на добу олеїнової кислоти (ОК) чи 300 мг/кг на добу НАС протягом 20 тижнів. Введення ОК або НАС призвело до збільшення секреції інсуліну в крові і рівня супероксиддисмутизи, а також зниження рівня тригліцеридів і альбуміну/креатиніну в сечі. В уражених нирках після введення препаратів структура нирок відновилася за рахунок збільшення в нефроні і ендотелії селективних молекул адгезії та зменшення трансформуючого фактору росту β/p -smad2/3 і стресу ендоплазматичного ретикулуму (ЕПР). АФК та стрес ЕПР були збільшені при гіперглікемії, та досягли нормального рівня після введення ОК (5,0 μ M) або НАС (2,5 mM). Таким чином, результати даного дослідження дозволяють припустити, що ОК та НАС мають терапевтичний ефект для лікування ДН через антиоксидантний ефект і зниження стресу ЕПР [27].

Отже в патогенезі ДН при ЦД1 мають значення генетичні, метаболічні, гемодинамічні, гормональні, імунні порушення. Але ключову роль в пошкодженні ниркових каналців і епітеліальних клітин нирок відіграє ОС. При відсутності адекватної компенсаторної відповіді з боку ендогенної антиоксидантної

системи організму виникає оксидативний дисбаланс, що зумовлює клітинні пошкодження, запалення і апоптоз, та в кінцевому результаті призводять до розвитку діабетичних ускладнень.

Вже доведено нефропротекторний ефект від застосування при експериментальному ЦД1 ряду природних та синтетичних АО. Однак дані експериментальних досліджень являються обмеженими та фрагментарними. Тому доцільно спланувати експериментальне дослідження з вивчення ефективності комплексного антиоксидантного лікування ускладнень ЦД1, зокрема ДН, що дало б змогу підтвердити необхідність застосування АО препаратів як невід'ємної складової терапії та профілактики ураження нирок при ЦД.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що не мають конфлікту інтересів, який може сприйматися таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

ЛІТЕРАТУРА

1. Бабенко А.Ю. Диабетическая нефропатия. Зависит ли ренопротекция от выбора сахароснижающей терапии? / А.Ю. Бабенко, В.К. Байрашева // Медицинский советник. – 2015. – № 7. – С. 32-43.
2. Деньгин В.В. Перспективные направления клинического применения N-ацетилцистеина // Фарматека. – 2008. – № 4. – С. 48-52.
3. Иванов Д.Д. Диабетическая нефропатия: диагностика и лечение в свете рекомендаций ADA 2011 // Здоров'я України. – 2011. – № 1 (15). – С. 27.
4. Майданник В.Г. Стан метаболічно-гіпоксичних порушень при діабетичній нефропатії у дітей / В.Г. Майданник, Є.А. Бурлака // Експериментальна та клінічна фізіологія і біохімія. – 2015. – № 4. – С. 47-55.
5. Расин М.С. Роль рецепторов, активирующих пролиферацию пероксисом, в физиологии и патологии почек / М.С. Расин, О.А. Борзых, И.А. Мормоль // Нефрология. – 2013. – Т. 17, № 4. – С. 44-48.
6. Тугушева Ф.А. Оксидативный стресс и его участие в неиммунных механизмах прогрессирования хронической болезни почек / Ф.А. Тугушева, И.М. Зубина // Нефрология. – 2009. – Т. 13, № 3. – С. 42-48.
7. Уніфікований клінічний протокол первинної, екстреної, вторинної (спеціалізованої) та третинної (високоспеціалізованої) медичної допомоги. Цукровий діабет 1 типу у молодих людей та дорослих. Затверджено Наказ Міністерства охорони здоров'я України 29 грудня 2014 № 1021.
8. Ahmad A. Protective effect of apocynin, a NADPH-oxidase inhibitor, against contrast-induced nephropathy in the diabetic rats: a comparison with n-acetylcysteine / A. Ahmad, S. Mondello, R. Di Paola [et al.] // Eur J Pharmacol. – 2012. – Vol. 674, No. 2-3. – P. 397-406. Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22094062
9. Akira Mima. Inflammation and Oxidative Stress in Diabetic Nephropathy: New Insights on Its Inhibition as New Therapeutic Targets // Journal of Diabetes Research. – 2013. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3686081/
10. Al-Rasheed N.M. Fenofibrate attenuates diabetic nephropathy in experimental diabetic rat's model via suppression of augmented TGF- β 1/Smad3 signaling pathway / N.M. Al-Rasheed, M.A. Al-Amin, I.H. Hasan [et al.] // Arch Physiol Biochem. – 2016. – Vol. 122, No. 4. – P. 186-194. Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26959841
11. Asmat U. Diabetes mellitus and oxidative stress – A concise review / U. Asmat, K. Abad, K. Ismail // Saudi Pharmaceutical Journal. – 2016. – Vol. 24, No. 5. – P. 547-553. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5059829/
12. Bhattacharjee N. Mechanistic insight of diabetic nephropathy and its pharmacotherapeutic targets: An update / N. Bhattacharjee, S. Barma, N. Konwar, S. [et al.] // Eur J Pharmacol. – 2016. – Vol. 79. – P. 8-24.
13. Chowdhury R. Vitamin D and risk of cause specific death: systematic review and metaanalysis of observational cohort and randomised intervention studies / R. Chowdhury, S. Kunutsor, A. Vitezova // British Medical Journal. – 2014. – Vol. 348. – P. 1-13.
14. Dronavalli S. The pathogenesis of diabetic nephropathy / S. Dronavalli, I. Duka, G.L. Bakris // Nat. Clin. Pract. Endocrinol. Metab. – 2008. – Vol. 4, No. 8. – P. 444-452.
15. Elmas O. The efficacy of Aesculus hippocastanum seeds on diabetic nephropathy in a streptozotocin-induced diabetic rat model / O. Elmas, O. Erbas, G. Yigitturk // Biomed Pharmacother. – 2016. – Vol. 83. – P. 392-396.
16. Evans J. L. Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes / J. L. Evans, I. D. Goldfine, B. A. Maddux, G. M. Grodsky // Endocrine Rev. – 2002. – Vol. 23, No. 5. – P. 599-622.
17. Giacco F. Oxidative stress and diabetic complications / F. Giacco, M. Brownlee // Circ. Res. – 2010. – Vol. 107, Suppl. 9. – P. 1058-1070.
18. Goldin A. Advanced glycation end products: sparking the development of diabetic vascular injury / A. Goldin, J.A. Beckman, A.M. Schmidt, M.A. Creager // Circulation. – 2006. – Vol. 114. – P. 597-605.
19. Gomes I.B. Renoprotective, anti-oxidative and anti-apoptotic effects of oral low-dose quercetin in the C57BL/6J model of diabetic nephropathy / I.B. Gomes, M.L. Porto, M.C. Santos [et al.] // Lipids Health Dis. – 2014. – Vol. 13. – P. 184. Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4271322/
20. Guo C. Total saponin of *Dioscoreae hypoglaucae* rhizoma ameliorates streptozotocin-induced diabetic nephropathy / C. Guo, G. Ding, W. Huang [et al.] // Drug Des Devel Ther. – 2016. – Vol. 10. – P. 799-810.

21. Haleagrahara N. Protective effect of N-acetylcysteine on cyclosporine A-induced changes in lipid hydroperoxide levels and renal dysfunction in rats / N. Haleagrahara, T.M. Yee, S.Chakravarthi, N. Lee // Arch Med Sci. – 2009. – Vol. 5. – P. 16-22.
22. Hamza A.H. Mesenchymal stem cells: a future experimental exploration for recession of diabetic nephropathy / A.H. Hamza, W.M. Al-Bishri, L.A. Damiati, H.H. Ahmed // Renal Failure. – 2016. – Vol. 39, No. 1. – P. 67-76.
23. Holick M.F. Medical progress: Vitamin D deficiency / M.F. Holick // NEJM. – 2007. – Vol. 357, Issue 3. – P. 266-281.
24. Ibrahim D.S. Effect of strawberry (*Fragaria × ananassa*) leaf extract on diabetic nephropathy in rats / D.S. Ibrahim, M.A. Abd El-Maksoud // Int J Exp Pathol. – 2015. – Vol. 96, No. 2. – P. 87-93. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4459800/
25. Kang X. N-acetylcysteine for the prevention of contrast-induced nephropathy in patients with pre-existing renal insufficiency or diabetes: a systematic review and meta-analysis / X. Kang, D.Y. Hu, C.B. Li [et al.] // Ren Fail. – 2015. – Vol. 37, No. 10. – P. 297-303.
26. Kashihara N. Oxidative stress in diabetic nephropathy / N. Kashihara, Y. Haruna, V.K. Kondeti, Y.S. Kanwar // Curr Med Chem. – 2010. – Vol. 17, No. 34. – P. 4256-4269. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3708695/
27. Lee E.S. Oleanolic acid and N-acetylcysteine ameliorate diabetic nephropathy through reduction of oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in a type 2 diabetic rat model / E.S. Lee, H.M. Kim, J.S. Kang [et al.] // Nephrol Dial Transplant. – 2016. – Vol. 31, No. 3. – P. 391-400.
28. Liu Y.W. Ibuprofen attenuates nephropathy in streptozotocin induced diabetic rats / Y.W. Liu, X. Zhu, Y.Q. Cheng // Mol Med Rep. – 2016. – Vol. 13, No. 6. – P. 5326-5334.
29. Majid Tavafi. Diabetic nephropathy and antioxidants // Journal of Nephropathology. – 2013. – Vol. 2, No. 1. – P. 20-27. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3886179/
30. Manjula Ramen T. Depletion of Glutathione during Oxidative Stress and Efficacy of N-Acetyl Cysteine: An Old Drug with New Approaches // Med chem. – 2015. – Vol. 5. – P. 37-39.
31. Minaz N. Therapeutic insight into molsidomine, a nitric oxide donor in streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats / N. Minaz, R. Razdan // Indian J Pharmacol. – 2016. – Vol. 48, No. 5. – P. 544-549. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5051249/
32. Mironidou-Tzouveleki M. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in the pathogenesis of diabetic nephropathy of type 1 diabetes mellitus / M. Mironidou-Tzouveleki, S. Tsartsalis, C. Tomos // Curr Drug Targets. – 2011. – Vol. 12, No. 1. – P. 107-114.
33. Rahimi-Madiseh M. The research and development on the antioxidants in prevention of diabetic complications / M. Rahimi-Madiseh, A. Malekpour-Tehrani, M. Bahmani, M. Rafieian-Kopaei // Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. – 2016. – Vol. 9, Issue 9. – P. 825-831. – Access mode: <http://oaji.net/articles/2016/3555-1477615905.pdf>
34. Niu H.S. Eucommia bark (Du-Zhong) improves diabetic nephropathy without altering blood glucose in type 1-like diabetic rats / H.S. Niu, I.M. Liu, C.S. Niu [et al.] // Drug Des Devel Ther. – 2016. – Vol. 10. – P. 971-978. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4780717/
35. Oh J. 1,25(OH) 2 vitamin D inhibits foam cell formation and suppresses macrophage cholesterol uptake in patients with type 2 diabetes mellitus / J. Oh, S. Weng, S.K. Felton // Circulation. – 2009. – Vol. 120. – P. 687-698.
36. Pal P.B. Mangiferin attenuates diabetic nephropathy by inhibiting oxidative stress mediated signaling cascade, TNF α related and mitochondrial dependent apoptotic pathways in streptozotocin-induced diabetic rats / P.B. Pal, K. Sinha, P.C. Sil // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, No. 9: e107220. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4169432/
37. Park C.W. PPAR α agonist fenofibrate improves diabetic nephropathy in db/db mice / C.W. Park, Y. Zhang, X. Zhang [et al.] // Kidney Int. – 2006. – Vol. 69, No. 9. – P. 1511-1517.
38. Patel S. Role of NF-B in the pathogenesis of diabetes and its associated complications / Patel S., Santani D. // Pharmacological Reports. – 2009. – Vol. 61, No. 4. – P. 595-603.
39. Reidy K. Molecular mechanisms of diabetic kidney disease / K. Reidy, H.M. Kang, T. Hostetter, K. Susztak // K. J. Clin. Invest. – 2014. – Vol. 124, Issue 6. – P. 2333-2340.
40. Scott R. Fenofibrate Intervention and Event Lowering in Diabetes (FIELD) study: baseline characteristics and short-term effects of fenofibrate [ISRCTN64783481] / R. Scott, J. Best, P. Forder // Cardiovasc Diabetol. – 2005. – Vol. 4. – P. 13. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1266033/
41. Shimizu M.H.M. N-acetylcysteine protects against renal injury following bilateral ureteral obstruction / M.H.M. Shimizu, A. Danilovic, L. Andrade [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2008. – Vol. 10. – Sup. 23. – P. 3067-3073.
42. Tian Y. Effects of vitamin D on renal fibrosis in diabetic nephropathy model rats / Y. Tian, G. Lv, Y. Yang [et al.] // Int J Clin Exp Pathol. – 2014. – Vol. 7, No. 6. – P. 3028-3037. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4097221/
43. Wang C. Irbesartan can improve blood lipid and the kidney function of diabetic nephropathy / C. Wang, C. Min, X. Rong [et al.] // Discov Med. – 2015. – Vol. 20, No. 108. – P. 67-77.
44. Wang J. The protective effect of fucoidan in rats with streptozotocin-induced diabetic nephropathy / J. Wang, H. Liu, N. Li [et al.] // Mar Drugs. – 2014. – Vol. 12, No. 6. – P. 3292-3306. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4071577/
45. Wang L. Protective effect of N-acetylcysteine on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in

- immature female rats / L. Wang, D. Chen, J. Cao, Z. Liu // Hum Exp Toxicol. – 2009. – Vol. 28, No. 4. – P. 221-229.
46. World Health Organization. – Access mode: www.who.int/trialsearch
47. Xin C. Xiaokeping mixture inhibits diabetic nephropathy in streptozotocin-induced rats through blocking TGF- β 1/Smad7 signaling / C. Xin, Z. Xia, C. Jiang [et al.] // Drug Des Devel Ther. – 2015. – Vol. 9. – P. 6269-6274. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4670018/
48. Xu H.Y. Association of angiotensin-converting enzyme insertion/deletion polymorphism with type 1 diabetic nephropathy: a meta-analysis / H.Y. Xu, M.M. Liu, X. Wang, X.Y. He // Ren Fail. – 2016. – Vol. 38, No. 9. – P. 1320-1327.
49. Zemin C. Pathogenesis of diabetic nephropathy / C. Zemin, E.C. Mark // J Diabetes Invest. – 2011. – Vol. 2. – P. 243-247. – Access mode: www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4014960/

Отримано 03.02.2017

СОВРЕМЕННЫЕ НАПРАВЛЕНИЯ МЕДИКАМЕНТОЗНОЙ НЕФРОПРОТЕКЦИИ ПРИ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ 1 ТИПА

Хайтович Н.В., Івченко Н.С.

Національний медичинський університет імені А.А. Богомольця, Київ, Україна

Резюме. Сахарный диабет 1 типа – одно из самых распространенных эндокринологических заболеваний в мире, которое имеет устойчивую динамику к росту. Сахарный диабет характеризуется развитием тяжелых инвалидизирующих осложнений, среди которых диабетическое поражение почек (диабетическая нефропатия) является одним из самых опасных.

Патогенез диабетической нефропатии комплексный и включает следующие компоненты: наследственные, метаболические (гипергликемия, гиперлипидемия, гиперурикемия), гемодинамические (внутриклубочковая гипертензия, артериальная гипертензия), гормональные (гиперинсулинемия, активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы), иммунные (дисбаланс продукции про- и противовоспалительных цитокинов, факторов роста и т.д.) нарушения.

Во многих тканях гипергликемия приводит к генерированию свободных радикалов. При отсутствии адекватного компенсаторного ответа со стороны эндогенной антиоксидантной системы в организме возникает оксидативный дисбаланс, приводящий к активации стресс-чувствительных сигнальных путей, связанных с транскрипционным фактором NF- κ B, митоген-активируемой протеинкиназой, протеинкиназой C. Результатом этого является синтез генных продуктов, вызывающих клеточные повреждения, воспаление и апоптоз, что в конечном итоге приводит к развитию поздних диабетических осложнений.

Активно исследуются нефропротекторные свойства различных антиоксидантных соединений природного и синтетического происхождения (биофлавоноидов, витамина D3, ибупрофена, N-ацетилцистеина и т.д.) как в комплексном лечении сахарного диабета 1 типа, так и для предупреждения его осложнений (в частности, диабетической нефропатии).

Ключевые слова: сахарный диабет 1 типа, диабетическая нефропатия, оксидативный стресс, фармакологическая нефропротекция.

MODERN TRENDS OF MEDICAL NEPHROPROTECTION IN TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Khaitovych M.V., Ivchenko M.S.

O.O. Bogomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine

Resume. Type 1 diabetes mellitus is one of the widespread endocrinological diseases in the world that has a stable growth dynamics. Diabetes mellitus is characterized by the development of severe disabling complications, including diabetic kidney disease (diabetic nephropathy) is one of the most dangerous.

The pathogenesis of diabetic nephropathy comprehensive and includes the following components: hereditary, metabolic (hyperglycemia, hyperlipidemia, hyperuricemia), hemodynamic (intraglomerular hypertension, arterial hypertension), hormonal (hyperinsulinemia, activation of the renin-angiotensin-aldosterone system), immune (imbalance in the production of pro- and anti-inflammatory cytokines, growth factors, etc.) violations.

In many tissues hyperglycemia leads to the generation of free radicals. In the absence of adequate compensatory response by the endogenous antioxidant system in the body oxidative imbalance occurs leading to activation of stress-sensitive signaling pathways involving transcriptional factor NF- κ B, mitogen-activated protein kinase, protein kinase C. The result is the synthesis of gene products causing cell injury, inflammation and apoptosis, which eventually leads to the development of late diabetic complications.

Lately, the nephroprotective properties of variable antioxidant compounds of nature and synthetic origin (including bioflavonoids, vitamin D3, ibuprofen, N-acetylcysteine etc.) for complex treatment of type 1 diabetes mellitus and its complications (especially diabetic nephropathy) has been actively discussed.

Key words: type 1 diabetes mellitus, diabetic nephropathy, oxidative stress, pharmacological nephroprotection.

ОЛЕКСАНДР ФЕДОРОВИЧ НЕСИН. ЖИТТЯ, ЯК ВИШИТИЙ РУШНИК



27 жовтня 2016 р. виповнилося 70 років Олександрові Федоровичу Несину – кандидату медичних наук, доценту кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця.

Народився О.Ф. Несин 27 жовтня 1946 року в селі Євминка Чернігівської області на Остерщині (нині Козелецький район) в сім'ї колгоспників. Батьки були невтомними трудівниками і шанованими серед односельчан за розсудливість і безкорисну допомогу. Ото ж любов до праці і повага до людей була прищеплена ще змалечку.

На формування світогляду вплинуло не виховання в дитячому садку, звідки втік в перший же день через кілька годин після сніданку, пролізши через шпаринку для kota у хвірточці, прихопивши молодшого брата, бо там укладали вдень спати!, а “зростання на волі”, на колгоспному дворі серед трудових людей, де працював батько, і де можна було побачити душу автомобіля, покрутити гайки чи забити гвіздок у дощечку, а після роботи туди сходилися трактористи, ковалі, теслярі, шофери, закурювали духмяний тютюн і вели розмови з великої житейської філософії про війну, полон, незагоєні рани, лікарів, голод, надію на урожай і краще майбутнє.

В школі навчався старанно, прикладом була старша сестра, завдяки якій частину програми з

літератури та французької мови за п'ятий клас засвоїв ще в дошкільному віці. Виявився хист до малювання. Учитель Михайло Федорович часто хвалив за виконане домашнє завдання, возив роботи на районні виставки і пророчив бути “настоящим художником”.

З учителями везло, бо кожен викладав свій предмет самовіддано. Любив фізику і геометрію. А класний керівник Іван Павлович не просто любив свій клас, а безмежно гордився своїми учнями, адже після закінчення середньої школи двоє випускників вступили до автодорожнього інституту, двоє – до медичного і п'ятеро – в інститут іноземних мов.

З вибором професії питань не було. У 1964 році, на 3 день після закінчення середньої школи, необхідні документи здав у приймальну комісію стоматологічного факультету КМІ. Навчався наполегливо. Був гуртківцем на кафедрах терапії, патологічної фізіології, терапевтичної стоматології. На 4 курсі іспит з терапевтичної стоматології випало скласти професору М.Ф. Данилевському і, мабуть, так переконливо старався розкрити особливості лікування зубів у дітей з несформованими коренями, що Микола Федорович “примітив” студента Несина, який пізніше, з подачі доцента Л.І. Урбанович, отримав рекомендацію в науку.

В квітні 1969 р. на студентській науковій конференції була зроблена його перша наукова доповідь зі стоматології на тему: “Прояви В-12 фолієво-дефіцитної анемії в порожнині рота”. І хто знає, можливо саме це і стало початком справи впродовж усього професійного життя – дослідження питань найбільш складного розділу стоматології – захворювань слизової оболонки порожнини рота.

Державні іспити склав на “Відмінно з відзнакою”. А коли відповідав на питання білета з терапевтичної стоматології доценту З.І. Франковській, підсів Голова Державної комісії професор Е.Я. Варес (професор М.Ф. Данилевський порадив поспілкуватися “он з тим студентом”) і тактовно попросив дозволу задати запитання, попередивши, що це аж ніяк не вплине на результат оцінки. А коли почув відповідь – піднявся, потис руку і сказав: “Я вашим ответом не только удивлен, но и восхищен!”. Далі був випуск і, після вручення дипломів, напутнє побажання проректора з навчальної роботи К.С. Кабака, яке сприйняв, як благословення, і як зміст життя: “Идите работать. Вас ждут люди!”.

Про вибір місця роботи в кабінеті декана (деканом був професор М.Ф. Данилевський) розмова

була короткою: “Куди хочеш?” – “А куди треба?” – “Ну коли так, поступимо чесно”. І Микола Федорович підійшов до карти, відвернувся і торкнув пальцем: “Місто Горький, Горьківська залізниця” – “Іду!”

В управлінні дороги дали направлення на станцію “Мураши” по дорозі на Воркуту. На місці роботи тривалий час жив у поліклініці, де цілодобово чергували фельдшери, з якими молодий стоматолог “відпочивав” після своєї роботи, набирався клінічного досвіду, діагностуючи гіпертонічний криз, пневмонію, перфорацію виразки та ін., а, при необхідності, з задоволенням надавав нескладну хірургічну допомогу, за що хірурги були вдячні, що їх не будили вночі. Як же тут знадобився той перший досвід, отриманий на нічних чергуваннях на травматологічному пункті щелепно-лицевого відділення, запроваджений далекоглядним завідувачем кафедри хірургічної стоматології, професором Ю.Й. Бернадським, коли довелося зіставляти пошматоване обличчя постраждалого, бо бачив, як в подібній ситуації працювали чужі руки на той час аспіранта, а нині професора Л.В. Харькова, який без зайвих рухів, віртуозно “зібрав” спотворене заточним каменем обличчя слюсаря, а затим, знімаючи рукавички, сказав: “Головне – надійно знеболити, а затим дивись і думай, бо кожен наш прорахунок коштує хворому болю і крові!”

Стоматологічної роботи було багато, бо стоматолога в тих краях не було, а прийом хворих О. Ф. Несин вів, допоки були люди. Крім того, молодь обрала його секретарем комсомольської організації лікувального об’єднання, членом бюро РК ВЛКСМ, головою товариства “Знання” молодіжних організацій міста, а директор середньої школи запросив викладати учням основи медичних знань.

В ординатуру на кафедру терапевтичної стоматології прибув, уже, навіть, не сподіваючись, бо виклик на заняття затримався у дорозі, і звістку про зарахування в клінічну ординатуру отримав лише 1 вересня 1972 року. Через те до занять приступив 12 вересня в День Святого Олександра.

Завідувач кафедри професор Микола Федорович Данилевський призначив на робоче місце в кабінет алергології, де працювала лікарем к. мед. н. А.М. Заверна – людина надзвичайної інтелігентності, досвідчений клініцист, і поставив завдання зібрати ілюстративний матеріал для покращення наочності викладання розділу “Захворювання слизової оболонки порожнини рота”. Згодом ці накопичені ілюстрації ввійшли до “Атласа захворювань слизової оболонки порожнини рота”. Паралельно працював над кандидатською дисертацією “Лечение язвенно-некротических поражений слизистой оболочки полости рта мезфенамина натриевой солью”, яку захистив у травні 1979 року.

З вересня 1978 р. О.Ф. Несин – асистент кафедри терапевтичної стоматології КМІ імені О.О. Богомольця. В 1989 р. затверджений на посаду доцента.

Багаторічна робота в клініці та зібраний багатий ілюстративний матеріал дозволили створити і видати перший в незалежній Україні, державною мовою, гарно ілюстрований навчальний посібник “Захворювання слизової оболонки порожнини рота” (М.Ф. Данилевський, О.Ф. Несин, Ж.І. Рахній), що значно полегшило студентам засвоєння цього складного розділу терапевтичної стоматології. А Вченою радою інституту це видання рекомендовано для участі в конкурсі на Державну премію.

2001р. видано у Москві багато ілюстроване власними клінічними випадками видання “Заболевания слизистой оболочки полости рта” (Н.Ф. Данилевский, А.Ф. Несин, В.К. Леонтьев, Ж.И. Рахний), за яким вже впродовж 15 років навчаються студенти стоматологічних факультетів медичних вузів Російської Федерації.

Олександр Федорович – автор 79 наукових робіт; співавтор підручника “Терапевтична стоматологія” в 4-х томах; навчального посібника “Заболевания губ” (Н.И. Коваль, А.Ф. Несин, Е.А. Коваль, 2013); численних тестових завдань “Крок-2” та Крок-3; чотирьох патентів, семи раціоналізаторських пропозицій, багатьох методичних розробок. Протягом кожного року доцент О.Ф. Несин, як знаний фахівець у галузі діагностики та лікування захворювань слизової оболонки порожнини рота, консультує тисячі хворих з цією патологією, скерованих на кафедру з інших лікувальних закладів України та країн СНД.

З 1990р. Олександр Федорович – методист розділу “Захворювання СОПР”. Багато років керував студентським науковим гуртком кафедри. Опікується підбором та підготовкою учасників олімпіад з терапевтичної стоматології, де студенти Київської школи всі роки виборювали призові місця.

Основними рисами його характеру є: висока порядність, безмежні працелюбство і працездатність, велика любов і повага до студентства, безкорисливість і велике бажання прийти на допомогу кожному, хто її потребує.

Колектив кафедри терапевтичної стоматології НМУ імені О.О. Богомольця, колеги, учні, студенти, численні переможці наукових олімпіад зі стоматології, колишні гуртківці, всі, кому він віддавав і віддає часточку свого серця, передає знання, великий лікарський та науково-педагогічний досвід, вітають Олександра Федоровича з ювілеєм і зичать йому міцного здоров’я, невичерпної енергії. Нехай рушник долі ще довго буде стелитися і уквітчатися новими добрими справами, вдячними словами вилікуваних хворих, вихованими новими поколіннями лікарів-стоматологів та педагогів-науковців. Нехай береже Вас Бог.

Печковський К.Є.

ПАМ'ЯТІ ПРОФЕСОРА АНТОНІНИ МИХАЙЛІВНИ ПОЛІТУН



12 жовтня 2016 року пішла в неземне буття Антоніна Михайлівна Політун – відомий стоматолог-клініцист, науковець, педагог, громадський діяч, організатор вищої стоматологічної школи, доктор медичних наук, професор, академік Академії наук вищої школи, президент Української ендодонтичної асоціації, керівник центру інноваційних освітніх технологій післядипломної освіти при Асоціації стоматологів України.

Народилась А.М. Політун 30.03.1938 р. в с. Іваниця Іваницького (тепер Ічнянського) району Чернігівської області. Батько працював водієм, мати – в колгоспі. У 1956 р. вона закінчила зі срібною медаллю Іваницьку середню школу і вступила до стоматологічного факультету Київського медичного інституту, який закінчила у 1961 р. з відзнакою.

Два роки працювала викладачем у Николаївському медичному училищі та, за сумісництвом, лікарем-стоматологом у міській поліклініці.

52 роки професійного життя Антоніна Михайлівна присвятила науково-педагогічній діяльності, з них 45 – Київському медичному інституту (КМІ) – Національному медичному університету імені О.О. Богомольця, де пройшла шлях від аспіранта до профе-

сора. У 1963–1966 рр. навчалася в аспірантурі на кафедрі терапевтичної стоматології КМІ, у 1966–1967 рр. – працювала у Центральній науково-дослідній лабораторії КМІ на посаді молодшого наукового співробітника. У 1967 р. Антоніна Михайлівна захистила кандидатську дисертацію “Гінгівіти у дітей та підлітків”, а у 1996 р. – докторську дисертацію “Епідеміологія, особливості розвитку хвороб пародонта і їх профілактика в умовах біогеохімічного дефіциту фтору та йоду”. З 1968 року вона асистент, з 1977 р. – доцент, у 1997–2008 рр. – професор кафедри терапевтичної стоматології НМУ імені О.О. Богомольця. У 1989-1999 рр. роботу на кафедрі поєднувала з роботою на посаді заступника декана стоматологічного факультету. З 2008 р. очолила кафедру у ПВНЗ “Київський медичний університет УАНМ”.

А.М. Політун – автор понад 200 наукових праць, співавтор монографії “Пародонтологія дитячого віку” та трьох томів чотиритомного видання “Терапевтична стоматологія”.

Антоніна Михайлівна нагороджена орденом “Знак пошани”, медаллю “Ветеран праці” та професійними відзнаками: орденом “Золотий стаміл” (Україна), орденом “Золота свічка” (Євро FDI), медаллю ім. професора М.Ф. Данилевського.

Під керівництвом А.М. Політун захищено 1 докторську, 8 кандидатських дисертацій. Роботу над кількома кандидатськими дисертаціями завершують її учні.

А.М. Політун була надзвичайно людяною і вчила людяності інших. “Лікар повинен, в першу чергу, любити хворого. І, навіть, коли вже немає сил, а пацієнт потребує невідкладної допомоги, переконали себе й допоможі”. Ця формула, як і увесь життєвий шлях Антоніни Михайлівни, можуть слугувати взірцем для наслідування сучасним і наступними поколіннями лікарів.

Світлу пам'ять про Лікаря, Педагога, Вченого, Наставника, прекрасну маму та дружину, любиму бабусю збережуть в серцях всі, хто знали цю надзвичайно талановиту, мудру, толерантну, скромну Людину.

Печковський К.Є.

ПРАВИЛА ДЛІА АВТОРІВ

Приймаються статті українською, російською, англійською мовами за напрямками:

- Теоретична медицина
- Клінічна медицина
- Профілактична медицина
- Огляд літератури
- Хроніка

Послідовність розміщення матеріалу статті наступна:

- УДК
- Назва статті
- Прізвища та ініціали авторів
- Назва установи, в якій працюють автори, місто, країна
- Текст статті
- Конфлікт інтересів, джерело фінансування
- Список використаних джерел

– Резюме на 1 стор. українською, російською та англійською мовами. Резюме повинно бути структурованим: актуальність, ціль, матеріали та методи, результати, висновки, ключові слова. У резюме не бажано використовувати скорочення.

Текст оригінальної статті повинен мати наступні підрозділи: актуальність, ціль, матеріали та методи, результати дослідження та їх обговорення, висновки.

Оглядова стаття повинна носити проблемний характер.

Статтю друкувати через півтори інтервали, гарнітурою “Times New Roman”, 14 пунктів, з полями зліва – 3 см, справа – 1 см, зверху і знизу – 1,5 см.

Обсяг експериментальної статті (з малюнками, таблицями) 10–15 стор., оглядової статті – до 20 стор.

У списку літератури джерела наводяться за алфавітом – спочатку кирилицею, потім – латиницею. В оригінальних статтях рекомендовано до 15 джерел, в оглядових статтях – до 40 джерел. Посилатися на літературу не старше 5–10 років.

Правила складання списку літератури наведені далі.

До статті треба додати відомості про авторів (прізвища, ім'я, по-батькові, посаду, вчене звання, поштову і електронну адресу, номери телефонів для спілкування).

Статтю надсилати в електронному варіанті і на паперовому носії.

Автори несуть відповідальність за зміст публікацій.

В редакції здійснюється рецензування і редагування статті.

Рукописи редакція не повертає.

Адреса редакції: 01601, м. Київ, бульв. Т. Шевченка, 13, відповідальному секретарю редколегії журналу «Медична наука України», професору кафедри фізіології Пановій Тетяні Іванівні.

Тел. моб. 095-244-27-26

panova10000@gmail.com

ПРАВИЛА ОФОРМЛЕННЯ СПИСКА ЛІТЕРАТУРИ

Згідно ДСТУ 8302:2015

Наказ № 61 ДП «УкрНДНЦ» від 22.06.2015 р.

Наказ № 65 ДП «УкрНДНЦ» від 04.03.2016 р.

ВИДИ БІБЛІОГРАФІЧНИХ ПОСИЛАНЬ ТА ПРАВИЛА ЇХНЬОГО СКЛАДАННЯ

Законодавчі матеріали

Україна в цифрах. 2007: стат. зб. / Держ. ком. статистики України. Київ: Консультант, 2008. С. 185–191.
Або

Україна в цифрах. 2007: стат. зб. / Держ. ком. статистики України. Київ, 2008. С. 185–191.

Стандарти

ДСТУ 8302:2015. Інформація та документація. Бібліографічне посилання. Загальні положення та правила складання. Введ. 2016.03.04. Київ: ДП «УкрНДНЦ», 2016. 16 с.

ДСТУ 7152:2010. Видання. Оформлення публікацій у журналах і збірниках. Київ, 2010. 16 с.

КНИГИ (в залежності від кількості авторів)

1–3 автори

1 автор – Нагайчук Н. Г. Фінанси страхових компаній: навч. посіб. Київ: УБС НБУ, 2010. 527 с.

Петрик О. І. Шлях до цінової стабільності: світовий досвід і перспективи для України: монографія / відп. ред. В. М. Геєць. Київ: УБС НБУ, 2008. С. 302–310.

або

Петрик О. І. Шлях до цінової стабільності: світовий досвід і перспективи для України: монографія / відп. ред. В. М. Геєць. Київ, 2008. С. 302–310.

2 автори – Кушнарченко Н. М., Удалова В. К. Наукова обробка документів: навч. посіб. Київ: Знання, 2006. 223 с.

3 автори – Денисенко М. П., Догмачов В. М., Кабанов В. Г. Кредитування та ризики: навч. посіб. Київ, 2008. 213 с.

4 та більш авторів

Управління персоналом в умовах економіки знань: монографія / Г. М. Азаренкова та ін. Київ, 2011. 406 с.

Розвиток обліково-аналітичних систем суб'єктів господарювання в Україні: монографія / Львів. нац. ун-т ім. Івана Франка. Львів, 2010. 447 с.

The stop TB Strategy. Building on and enhancing DOTS to meet the TB-related Millennium Development Goals / WHO. Geneva: WHO, 2006. 20 p.

Патентні документи

Спосіб лікування синдрому дефіциту уваги та гіперактивності у дітей: пат. 76509 Україна. № 2004042416; заявл. 01.04.2004; опубл. 01.08.2006, Бюл. № 8 (кн. 1). 120 с.

Одноразовая ракета-носитель: заявка 1095735 Российская Федерация, МПК7 В 64 G 1/00. / Тернер Э. В. (США); заявитель Спейс Системз / Лорал, инк.; пат. поверенный Егорова Г. Б. № 2000108705/28; заявл. 07.04.00; опубл. 10.03.01, Бюл. № 7 (I ч.); приоритет 09.04.99, № 09/289, 037 (США). 5 с.

Устройство для захвата неориентированных деталей типа валов: А. с. 1007970 СССР, МКИЗ В 25 J 15/00. / В. С. Ваулин, В. Г. Кемайкин (СССР). № 3360585/25–08; заявл. 23.11.81; опубл. 30.03.83, Бюл. № 12. 2 с.

Багатотомні видання

Гиппиус З. Н. Сочинения: в 2 т. / [вступ. ст., подгот. текста и коммент. Т. Г. Юрченко; Рос. акад. наук, Ин-т науч. информ. по обществ. наукам]. М.: Лаком-книга: Габестро, 2001. 2 т.

Енциклопедія історії України: у 10 т. / ред. Рада: В. М. Литвин (голова) та ін.; НАН історії України, Ін-т історії України. Київ: Наук. думка, 2005. Т 9. С. 36–37.

Окремий том

Казьмин В. Д. Детские болезни / Владимир Казьмин. М.: АСТ: Астрель, 2002. 503 с. (Справочник домашнего врача: в 3 ч. / Владимир Казьмин; ч. 2).

Учбові посібники та книги, збірники

Касимов А. М., В. Т. Семенов, А. А. Романовский Промышленные отходы. Проблемы и решения. Технологии и оборудование: учеб.-метод. пособие для студентов экологических специальностей / Харьковская нац. академия городского хозяйства. Харьков: ХНАГХ, 2007. 410 с.

Текст лекцій з дисципліни „Теоретичні основи електротехніки” (для студентів усіх форм навчання напрямків 0906 – „Електротехніка” і 0922 – „Електромеханіка”) / Я. Б. Форкун и др; ред. М. З. Аляб'єв; Харківська нац. академія міського господарства. Харьков: ХНАМГ, 2007. 70 с.

Стратегія посилення самостійної роботи студентів у контексті приєднання України до Болонського процесу: матеріали Всеукр. наук.-метод. конф., Харків, 14–15 грудня 2004 р.: тези доповідей / редкол.: Г. В. Стадник (відпов. ред.) та ін. Харків: ХНАМГ, 2004. 244 с.

Депоновані наукові роботи

Разумовский В. А., Андреев Д. А. Управление маркетинговыми исследованиями в регионе / Ин-т экономики города. М., 2002. 210 с. Деп. в ИНИОН Рос. акад. наук 15.02.02, № 139876.

Більш 3 авторів

Социологическое исследование малых групп населения / В. И. Иванов и др.; М-во образования Рос. Федерации, Финансовая академия. М., 2002. 110 с. Деп. в ВИНТИ 13.06.02, № 145432.

НЕОПУБЛІКОВАНІ ДОКУМЕНТИ

Звіти про науково-дослідницьку роботу

Формирование генетической структуры стада: отчет о НИР (промежуточ.) / Всерос. науч.-исслед. ин-т животноводства; рук. Попов В. А.; исполн.: Алешин Г. П. и др. М., 2001. 75 с. № ГР 01840051145. Инв. № 04534333943.

Дисертації

Белозеров И. В. Религиозная политика Золотой Орды на Руси в XIII–XIV вв.: дис. ... канд. ист. наук: 07.00.02: защищена 22.01.02: утв. 15.07.02 / Белозеров Иван Валентинович. М., 2002. 215 с. 04200201565.

Методичні вказівки, інформаційні листи та методичні рекомендації

Галкіна Г. Д. Перспектива тіні в ортогональних проєкціях, аксонометрії та перспективі: метод. вказівки для виконання завдань з нарисної геометрії (для студентів 1 курсу денної форми навчання) / Харківська нац. акад. міського господарства. Харьков: ХНАМГ, 2004. 45 с.

Спосіб попередження зниження фізичної працездатності у хворих на бронхіальну астму: інформаційний лист / Ю. І. Фещенко та ін., НІФП НАМНУ. Київ, 2016. 4 с.

Статті та тези з журналів

Kenny A. A stylometric study of Aristotele's Metaphysics // Bull. / Assoc. for Lit. and Ling. Computing. 1979. Vol. 7, № 1. P. 12–20.

Боголюбов А. Н., Делицын А. Л., Малых М. Д. О вещественных резонансах в волноводе с неоднородным заполнением // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 3, Физика. Астрономия. 2001. № 5. С. 23–25.

Особливості сучасної ситуації з туберкульозу в Україні / Ю. І. Фещенко та ін. // Укр. пульмонол. журн. 2016. № 1. С. 5–9.

Фещенко Ю. І, Мельник В. М., Турченко Л. В. Погляд на проблему боротьби з туберкульозом в Україні / Укр. пульмонол. журн. 2016. № 3 (93). С. 5–10.

Influence singlet – oxygen therapy on clinic – functional parameters at patients with COPD / L. M Kuryk at al. // Journal Health Sciences. 2015. № 4. P. 345–356.

Автореферат

Комаров К. С. Диференційовано-комплексний підхід до ціноутворення та доходності водопостачальних підприємств України в умовах ринку: автореф. дис. ... канд. екон. наук: 08.10.01 / Комаров Костянтин Сергійович; Харківська держ. акад. міського господарства. Харків, 2004. 18 с.

Стаття з серійного видання, газети

Михайлов С. А. Езда по-європейски: система платных дорог в России находится в начал. стадии развития // Независимая газ. 2002. 7 июня.

Стаття з..., розділ, глава

Зі збірника

Двинянинова Г. С. Комплимент: коммуникативный статус или стратегия в дискурсе // Социальная власть языка: сб. науч. тр. / Воронеж. межрегион. ин-т обществ. наук, Воронеж. гос. ун-т, Фак. романо-герман. истории. Воронеж, 2001. С. 101–106.

Курик Л. М. Динаміка якості життя у хворих на бронхіальну астму легкого персистуючого перебігу в залежності від контрольованості перебігу захворювання // Матеріали всеукраїнської науково-практичної конференції на тему «Актуальні питання медицини, ветеринарії та фармакології» (м. Київ, 14"15 жовтня 2016). 2016. № 1. С. 12–15.

Розділ

Малый А. И. Введение в законодательство Европейского сообщества // Институты Европейского союза: учеб. пособие / Ал. Малый, Дж. Кемпбелл, М. О'Нейл. Архангельск, 2002. Разд. 1. С. 7–26.

Глава

Глазырин Б. Э., Глазырина И. Б, Берлинер Б. Э. Автоматизация выполнения отдельных операций в Word 2000 // Office 2000: 5 кн. в 1: самоучитель 2-е изд., перераб. М., 2002. Гл. 14. С. 281–298.

Електронний ресурс

Конституція України: Закон від 28.06.1996 № 254к/96-ВР // База даних «Законодавство України» / ВР України. URL:
<http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/254%D0%BA/96%D0%B2%D1%80> (дата звернення: 08.02.2012).

Информационный бюллетень к теме Всемирного дня борьбы с туберкулезом в 2008 г.: / Ю. И. Фещенко и др. URL: <http://www.ifp.kiev.ua/ifp.pulm/doc/news/daytub2008.htm>. (дата звернення: 08.04.2016).

На електронне видання

Інформаційні технології і засоби навчання: електронне наукове фахове видання / Гол. ред.: В. Ю. Биков; Ін-т інформ. технологій і засобів навчання АПН України, Центр ін-т післядиплом. пед. освіти АПН України. 2007. № 4. URL: <http://www.nbu.gov.ua/e-journals/ITZN/em4/emg.html>. (дата звернення: 08.04.2016).

На статтю, розміщену в електронному виданні

Биков В. Ю. Теоретико-методологічні проблеми моделювання навчального середовища сучасних педагогічних систем // Інформаційні технології і засоби навчання. 2006. № 1. URL: <http://www.nbu.gov.ua/e-journals/ITZN/em1/emg.html>. (дата звернення: 08.04.2012).

Биков, В. Ю., Гапон В. В., Плєскач М. Л. Сучасна структура автоматизованої системи статистичної інформації про діяльність і розвиток загальноосвітньої школи // Інформаційні технології і засоби навчання. 2007. № 4. URL: <http://www.nbu.gov.ua/e-journals/ITZN/em4/emg.html>. (дата звернення: 08.04.2012).