

**ПОЧТОВЫЙ АДРЕС:**

125315, Москва, ул. Балтийская, 8.  
Учреждение  
Российской академии медицинских наук  
НИИ Общей патологии  
и патофизиологии РАМН.  
Редакция журнала  
«Патологическая физиология  
и экспериментальная терапия».  
Home page: www.medlit.ru  
E-mail: path.physiol@yandex.ru

**Зав. редакцией**  
Н.Р.Соболь  
+7 906 793 5467  
**Техническая редакция**  
А.С.Акопов

ЛР №010215 от 29.04.97.

Подписные индексы  
по каталогу агентства «Роспечать»:  
для индивидуальных подписчиков **71456**  
для предприятий и организаций **72151**

Входит в Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, рекомендованных ВАК России для публикации значимых результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора и кандидата наук.

Журнал «Патологическая физиология и экспериментальная терапия» индексируется в следующих иностранных изданиях:  
*Index Medicus; Excerpta Medica; Apicultural Abstracts; Biological Abstracts; Biotechnology Research Abstracts; Chemical Abstracts; Index to Dental Literature; International Aerospace Abstracts; Nutrition Abstracts and Reviews; Ulrich's International Periodicals Directory*

Издатель: ООО «Гениус Медиа»  
E-mail: genius-media@mail.ru

ISSN 0031-2991  
Патологическая физиология и экспериментальная терапия.  
2012. №1. 1–83.

Перепечатка материалов и использование их в любой форме, в том числе и в электронных СМИ, возможны только с письменного разрешения издателя.  
За содержание рекламных публикаций ответственность несет рекламодатель.

Тираж 300 экз.  
© ООО «Гениус Медиа», 2012.

ISSN 0031-2991



9 770031 299001

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«НИИ ОБЩЕЙ ПАТОЛОГИИ И ПАТОФИЗИОЛОГИИ»  
РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК**

# **ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ТЕРАПИЯ**

*Ежеквартальный рецензируемый научно-практический журнал  
Основан в 1957 г.*

**№2, 2012**  
**АПРЕЛЬ—ИЮНЬ**

## **РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ**

**Главный редактор Б.Б. Мороз**

**Ю.В. Архипенко, Е.И. Асташкин, С.В. Грачев, Н.С. Гурко (ответственный секретарь), Т.А. Гуськова, И.С. Гушин (зам. главного редактора), А.В. Ефремов, В.Б. Кошелев, Н.А. Крупина, А.А. Кубатиев, Г.Н. Крыжановский, П.Ф. Литвицкий, В.В. Новицкий, Ю.А. Петрович, Г.В. Порядин, В.К. Решетняк (зам. главного редактора), С.А. Селезнев, В.А. Фролов**

## **Редакционный совет**

**Ю.В. Балякин (Москва), Ю.Ю. Бяловский (Рязань), В.Т. Долгих (Омск), А.М. Дыгай (Томск), А.А. Евтушенко (Кемерово), Д.А. Еникеев (Уфа), Н.И. Кочетыгов (Санкт-Петербург), В.П. Куликов (Барнаул), В.П. Михайлов (Ярославль), В.Г. Овсянников (Ростов-на-Дону), С.Н. Орлов (Москва), Н.Н. Петрищев (Санкт-Петербург), Л.А. Северьянова (Курск), С.А. Хачатрян (Ереван), Г.С. Якобсон (Новосибирск), А.П. Ястребов (Екатеринбург)**

## СОДЕРЖАНИЕ

- Дыгай А.М., Скурихин Е.Г.**  
Стволовая клетка.  
Новые подходы в терапии дегенеративных заболеваний. . . . . 3

### ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

- Тараско А.Д., Ибатуллин И.А.**  
Влияние вагосимпатической блокады на центральную гемолимфодинамику и региональную гемодинамику в малом круге кровообращения. . . . . 14
- Терёхина Н.А., Горячева О.Г., Петрович Ю.А., Реук С.Э., Зубарев М.А.**  
Исследование  $\alpha_1$ -антитрипсина, орозомукоида и церулоплазмينا в крови и ротовой жидкости при инфаркте миокарда и пародонтите. Подтверждение роли пародонтита как фактора риска инфаркта миокарда . . . . . 18
- Свиридкина Н.Б., Шакова Ф.М., Комиссарова С.В., Дубровин И.П., Турыгина С.А., Романова Г.А., Баранов В.М.**  
Морфофункциональное исследование действия антиортостатической гипокинезии при очаговом ишемическом повреждении коры головного мозга . . . . . 22
- Кобозева Л.П., Клименко Е.Д., Мичунская А.Б., Поздняков О.М.**  
Коррекция тироксином нарушений липидного обмена и расстройств микроциркуляции на ранних стадиях атерогенеза . . . . . 27
- Иванова А.С., Ситникова О.Г., Назаров С.Б.**  
Роль NO-зависимых механизмов при нормальной беременности и на фоне нарушения маточно-плацентарного кровообращения у белых крыс. . . . . 31
- Романова Л.П., Малышев И.И.**  
Роль изменения показателей крови 18-дневных крысят в заживлении механической травмы печени при применении биологически активных веществ . . . . . 35
- Адамян Ц.И., Геворкян Э.С., Восканян А.В., Минасян С.М.**  
Антиоксическое влияние таурина . . . . . 39
- Лапикова Е.С., Дрозд Н.Н., Макаров В.А., Звягинцева Т.Н., Шевченко Н.М., Кузнецова Т.А., Беседнова Н.Н.**  
Влияние внутривенного введения фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens* на антикоагулянтную активность плазмы кроликов и нейтрализация сульфатом протамина антитромбинной активности фукоиданов *in vitro* . . . . . 42
- Меркулов Ю.А., Никитин С.С., Онсин А.А., Шаповалов А.В., Щербенкова А.Л., Меркулова Д.М.**  
Патофизиологические особенности развития дорсалгии у работников железнодорожного транспорта, связанных с движением поездов . . . . . 45

### ОБЗОРЫ

- Митрофанов К.Ю., Сазонова М.А.**  
Ассоциация точковых мутаций ядерного и митохондриального геномов человека с ишемической болезнью сердца . . . . . 51
- Егорова Е.Н., Калинин М.Н., Мазур Е.С.**  
Иммунные механизмы в патогенезе хронической сердечной недостаточности. . . . . 56
- Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Теребилина Н.Н., Наумова Т.А., Баронец В.Ю., Шойбонов Б.Б.**  
Механизмы антиэндотоксической защиты печени . . . . . 62
- Астахов Д.А., Баранов М.В., Панченков Д.Н.**  
Физиологические эффекты микрогравитации как факторы риска заболеваний в космическом полете. . . . . 70

### МЕТОДИКА

- Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф., Пальцын А.А., Кубатиев А.А.**  
Простой способ определения модифицированных липопротеинов низкой плотности. . . . . 77

## CONTENTS

- Dygai A.M., Skurikhin E.G.**  
Stem cell.  
New approaches in the treatment of degenerative diseases

### ORIGINAL ARTICLES

- Tarasko A.D., Ibatullin I.A.**  
Effect of vagosympathetic block on the central hemolymphodynamic and regional hemodynamic in lesser circulation
- Terekhina N.A., Goryacheva O.G., Petrovich Yu.A., Reuk S.E., Zubarev M.A.**  
The investigation of  $\alpha_1$ -antitrypsin, orozomukoid and ceruloplasmin in peripheral blood and oral fluid. Parodontitis is one of more risk factors of cardiovascular diseases
- Sviridkina N.B., Shakova F.M., Komissarova C.V., Dubrovin I.P., Turigina S.A., Romanova G.A., Baranov V.M.**  
Morphofunctional study of antiortostatic hypokinesia action in the case of focal ischemic brain cortex damage
- Kobozeva L.P., Klimenko E.D., Michunskaya A.B., Pozdnyakov O.M.**  
The correction of lipid metabolism and microcirculation disturbances in early atherogenesis stages by thyroxin
- Ivanova A.S., Sitnikova O.G., Nazarov S.B.**  
Role of NO-dependent mechanisms at normal pregnancy and on background of disturbance of utero-placental blood circulation of white rats
- Romanova L.P., Malyshev I.I.**  
The role of blood indices changes in 18-days old young rats in healing the mechanical liver trauma at the use of biologically active substances
- Adamyants Ts.I., Gevorkyan E.S., Voskanyan A.V., Minasyan S.M.**  
Antitoxic influence of taurine
- Lapikova E.S., Drozd N.N., Makarov V.A., Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Kuznetsova T.A., Besednova N.N.**  
Influence of intravenous injection of fucoidan from brown seaweed *Fucus evanescens* by plasma rabbits anticoagulant activity and neutralization by sulphate protamin of fucoidans antithrombin activity *in vitro*
- Merkulov Yu.A., Nikitin S.S., Onsin A.A., Shapovalov A.V., Shcherbenkova A.L., Merkulova D.M.**  
Pathophysiological features of dorsalgia development among railway workers, connected with railway communication

### REVIEWS

- Mitrofanov K.Yu., Sazonova M.A.**  
Association of point mutations in human nuclear and mitochondrial genome with coronary artery disease
- Egorova E.N., Kalinkin M.N., Mazur E.S.**  
Immune mechanisms in pathogenesis of chronic heart failure
- Panchenko L.F., Pirozhkov S.V., Terebilina N.N., Naumova T.A., Baronets V.Yu., Shojbonov B.B.**  
Mechanisms of the liver anti-endotoxin defence
- Astakhov D.A., Baranov M.V., Panchenkov D.N.**  
Physiological effects of microgravity as risk factors of diseases during space flight

### METHOD

- Shoibonov B.B., Baronets V.Yu., Panchenko L.F., Paltsyn A.A., Kubatiev A.A.**  
A simple method for quantification of modified low-density lipoproteins

А.М. Дыгай, Е.Г. Скурихин

## **Стволовая клетка. Новые подходы в терапии дегенеративных заболеваний**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт фармакологии»  
Томского научного центра Сибирского отделения Российской академии медицинских наук, 634028, Томск, пр. Ленина, 3

*В статье даётся характеристика мезенхимальных и гемопоэтических стволовых клеток (СК) взрослого организма. Суммированы данные по ортодоксальным и неортодоксальным путям клеточной дифференцировки. Обсуждаются различные возможности применения стволовых клеток в клинической практике. Особое внимание уделено методам фармакологической регуляции эндогенных СК. Представлены собственные экспериментальные данные по изучению эффективности применения различных лекарственных средств (нейрофармакологические агенты, цитокиновые препараты, изменяющие структуру межклеточного матрикса соединения, пегилированные на полиэтиленгликоле биологически активные соединения) на моделях пневмофиброза и миелосупрессии, влияющих на функции стволовых клеток.*

**Ключевые слова:** *стволовая клетка, регенеративная медицина, фармакологическая регуляция, пневмофиброз, миелосупрессия*

А.М. Dygai, E.G. Skurikhin

## **Stem cell. New approaches in the treatment of degenerative diseases**

Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Centre of the Russian Academy of Medical Sciences, 3, Lenina street, Tomsk, 634028

*The review describes the mesenchymal and hematopoietic stem cells (SC) of the adult organism. The data on the orthodox and unorthodox ways of cell differentiation was summarized. We discuss various possibilities of stem cells in clinical practice. Particular attention is paid to methods of pharmacological regulation of endogenous SC. Presented their own experimental data on the efficacy of various drugs (neuropharmacological agents, cytokine drugs that alter the structure of the extracellular matrix compounds, pegylated polyethylene glycol to the biologically active compounds) on models of fibrosis and myelosuppression, influencing the function of stem cells.*

**Key words:** *stem cell, regenerative medicine, cellular technology, pharmaceutical regulation, fibrosis, myelosuppression*

Несмотря на достигнутые успехи в медикаментозном лечении ряда тяжёлых социально-значимых заболеваний (хронический гепатит, сахарный диабет, фиброз легкого, лейкопении и др.), сопровождающихся высокой степенью инвалидизации населения, полного выздоровления больных в подавляющем большинстве случаев не наблюдается. Большие надежды в дальнейшем прогрессе эффективности терапии указанных нозологий возлагают на такую активно развивающуюся в последнее десятилетие область медицинской науки, как регенеративная медицина и использование в клинической практике стволовых клеток (СК).

Впервые гипотезу о наличии общего предшественника всех клеток крови высказал А.А. Максимов в

1908 г. [115]. Экспериментальное подтверждение гипотезы было получено в середине XX века, когда удалось показать восстановление кроветворения у летально облученных мышей после внутривенного введения клеток сингенного костного мозга. В селезенке реципиентов были обнаружены [117, 159] дискретные очаги кроветворения (колонии), каждый из которых формировался из клоногенного предшественника (из одной клетки). За прошедшее столетие, гипотеза А.А. Максимова о монофилитическом происхождении клеток крови превратилась в учение о стволовой гемопоэтической клетке. По современным представлениям, гемопоэтические стволовые клетки (ГСК) представляют собой недифференцированные клетки, способные к самовоспроизведению и дифференцировке в любую линию клеток крови и иммунной системы [4, 24, 28, 58, 128, 148, 151]. К уже известным направлениям дифференцировки было добавлено представление о дифференцировке ГСК в натуральные

**Для корреспонденции:** Скурихин Евгений Германович, д-р мед. наук, вед. науч. сотр. лаб. патологической физиологии и экспериментальной терапии ФГБУ НИИФ СО РАМН. E-mail: ovpershina@gmail.com

киллеры и антиген-презентирующие дендритные клетки [31]. На сегодняшний день многими авторами признаётся гетерогенность пула гемопоэтических стволовых клеток. ГСК отличаются между собой по пролиферативному потенциалу, степени дифференцированности, рецепторам клеточной поверхности, чувствительности к цитокинам, положению в клеточном цикле и другим признакам [3, 20, 28, 31, 35, 85, 119, 151]. ГСК способны к пролиферации, самоподдержанию, миграции, коммитированию, дифференцировке, созреванию и гибели (апоптоз или некроз) [35, 129, 133, 148]. Считается, что большинство стволовых клеток находится в стадии G<sub>0</sub> клеточного цикла и лишь малая часть из них одновременно участвует в поддержании кроветворения [20, 31, 35, 36, 79].

Фенотипически ГСК характеризуются определенным составом мембранно-связанных антигенов, таких как CD34 (cluster of differentiation 34), CD 90 (thymocyte differentiation antigen 1, Thy1), CD 135 (fms-like tyrosine kinase receptor-3 (Flt3), fetal liver kinase-2 (Flk2)), рецептор для фактора стволовых клеток (c-Kit), антиген стволовых клеток (stem cell antigen 1, Sca-1), при отсутствии дифференцировочных маркеров (линейных, Lin-) [3, 29, 33, 34, 44, 46, 59, 148]. Антигенный фенотип гемопоэтической стволовой клетки человека может быть охарактеризован как Lin-c-Kit+CD34+CD38-. В качестве основного маркера ГСК человека используют молекулу адгезии CD34, трансмембранный гликопротеин, который экспрессирован на 1—3% костномозговых нуклеаров, 0,1—0,5% клеток пуповинной крови и 0,001—0,01% клеток периферической крови [3, 20, 41, 44, 46, 52, 53, 149]. Антиген CD34 выявлен на незрелых гемопоэтических клетках, части фибробластов, васкулярных эндотелиальных клетках [73, 105, 149]. Он ответствен за клеточную адгезию, опосредует взаимодействие ГСК с компонентами экстрацеллюлярного матрикса и стромальными клетками, ингибирует гемопоэтическую дифференцировку [69, 77, 105]. При созревании кроветворных прекурсоров CD34 постепенно утрачивается, дифференцированные клетки костного мозга и зрелые форменные элементы крови человека являются CD34-отрицательными [61, 155].

Многие поверхностные маркеры используются в ассоциации с CD34 для идентификации более примитивных популяций кроветворных клеток, таких, к примеру, как CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> клетки. Продемонстрировано, что в популяции CD34<sup>+</sup>CD38<sup>-</sup> количество длительно репулирующих клеток (LTRS) превышает их число во фракции клеток с фенотипом CD34<sup>+</sup>CD38<sup>lo</sup> [44, 47, 48]. Коэкспрессия антигенов CD10 или CD7 с CD34<sup>+</sup> обнаружена на ранних человеческих лимфоидных коммитированных предшественниках [85]. Для общих миелоидных прекурсоров (CMP) характерна экспрессия

IL-3R<sup>lo</sup> и CD45RA [112]. Высказывается мнение, что большинство поверхностных маркеров стволовых клеток не играют существенной роли в функционировании ГСК и, следовательно, экспрессия этих протеинов не может прямо коррелировать с потенциалом стволовых клеток. Так, при иммунофенотипировании ГСК были обнаружены клетки, которые не несут на своей поверхности молекул CD34 (имеют фенотип Lin<sup>-</sup>CD34<sup>-</sup>CD38<sup>-</sup>) [49, 70, 92]. По-видимому, в результате случайной (стохастической) генной транскрипции образуется фенотипически гетерогенная популяция гемопоэтических стволовых клеток, обладающих идентичными функциональными свойствами [44].

До настоящего времени окончательно не выяснены механизмы, отвечающие за выбор направления коммитирования ГСК. Согласно стохастической модели регуляции кроветворения коммитирование ГСК является процессом, индуцируемым случайными событиями — мутации генов, случайные эпигеномные феномены и др. [32, 80, 126, 127, 150]. При этом стохастичность не приводит к хаосу в гемопоэтической ткани, так как происходит постоянное пополнение кроветворных клеток из пула ГСК. Модель «случайно возбужденного гемопоэза» [159] постулирует, что неизвестные события превращают плюрипотентные гемопоэтические СК во все виды необратимо коммитированных предшественников с их «постоянным» распределением [27]. Только после этого существующие в ткани гемопоэтические ростовые факторы микроокружения вызывают пролиферацию и дифференцировку кроветворных прекурсоров. С позиций инструктивных моделей регуляции гемопоэза определение судьбы ГСК полностью контролируется и зависит от внешних воздействий. В соответствии с представлениями о гемопоэз-индуцирующем микроокружении (ГИМ) коммитирование ГСК регулируется локальными клеточными и гуморальными факторами микроокружения и межклеточными взаимодействиями [25, 68, 118, 124, 163]. Существует мнение о том, что созревание ГСК определяется экспрессией клеточных рецепторов для гуморальных индукторов дифференцировки (эритропоэтин, колониестимулирующие факторы, интерлейкины и т.д.) [78]. Согласно экспериментальным данным [51], регуляция коммитирования ГСК осуществляется созревающими клетками по механизму отрицательной обратной связи.

Для объяснения механизмов, с помощью которых обеспечивается самоподдержание гемопоэтических стволовых клеток, предложена гипотеза так называемых «ниш», в которых ГСК находятся в стадии покоя [145, 152, 170]. Модель предполагает, что процесс выхода родоначальных элементов из указанных образований происходит случайно [22]. В настоящее время термин «ниша» используется для обозначения совокупности факторов, обеспечивающих жизнеспособность и само-

воспроизведение стволовых клеток и дифференциацию дочерних прекурсоров [54, 57, 100, 109, 110, 123, 154, 167, 175, 181, 182]. Среди них следует выделить наличие базальной мембраны, молекул внеклеточного матрикса и присутствие соседних клеток, продуцирующих факторы роста. В последние годы был обнаружен ряд молекул (ангиопоэтин, тромбopoэтин, хемокин CXCL12, остеопоэтин и др.), нарушение экспрессии которых существенно сказывается на взаимодействии ГСК со своей микросредой.

Иммуногистохимические исследования показали, что ГСК локализуются вблизи эндоста — гетерогенного слоя клеток, выстилающего костномозговую полость (так называемая «эндостальная» ниша ГСК). Эндостальная выстилка образована остеобластами, остеогенными клетками-предшественниками (часто обозначаемыми как «клетки костной выстилки» — bone-lining cells) и остеокластами, при этом остеобласты рассматриваются как главный клеточный компонент эндоста, отвечающий за регуляцию ГСК [54, 174, 181, 182]. Эти клетки экспрессируют ряд белков, необходимых для регуляции гемопоэтических стволовых клеток. К ним относятся Ang-1, удерживающий ГСК в нише, Vmi-1, отвечающий за пролиферацию, Jagged-1, способствующий самоподдержанию ГСК, и ряд других [130, 133, 154, 157]. В непосредственной близости от остеобластов локализуются симпатические нервные окончания [97]. В свою очередь, остеобласты экспрессируют на своей поверхности  $\beta_2$ -адренергические рецепторы [67]. Через остеобласты адренергические нейроны могут являться эффектором активности ГСК. Так паратиреоидный гормон повышает уровень экспрессии Jagged-1 на поверхности остеобластов и, таким образом, через Notch-1 — Jagged-1 взаимодействие регулируется активность ГСК [174]. Положение гемопоэтических клеток относительно костномозгового микроокружения во многом определяется их дифференцировочным статусом. Так, длительно репопулирующие ГСК, а также непролиферирующие клетки располагаются ближе к остеобластам и эндосту нежели более зрелые мультипотентные или коммитированные кроветворные предшественники [110, 154].

В образцах костного мозга и селезенки мышей были обнаружены устойчивые ассоциации CD150<sup>+</sup> ГСК с эндотелием сосудов, что указывает на возможное существование еще одной, «сосудистой» ниши ГСК [99]. Действительно, через сосудистый эндотелий поступают эндокринные сигналы от циркулирующих гормонов, цитокинов и факторов роста, поэтому контакт стволовых клеток с эндотелием позволяет ускорить их функциональный ответ на внешний стимул. Расположение гемопоэтических стволовых клеток по отношению к эндосту зависит от их функционального состояния и активности клеток микроокружения [110, 172]. По мнению

Y. Tong и L. Linheng (2006), рекруктирование ГСК в сосудистую нишу происходит под действием фактора роста фибробластов (ФРФ-4), стромального клеточного фактора-1 (SDF-1) и увеличения концентрации O<sub>2</sub>. SDF-1 регулирует хоминг ГСК: мобилизацию в кровотоки (низкий уровень факторов) и обратную мобилизацию клеток в костный мозг (высокий уровень факторов) [162].

Разделение микроокружения ГСК на отдельные ниши рядом авторов подвергается сомнению, поскольку эндостальные и сосудистые компоненты находятся в тесной функциональной и структурной взаимосвязи [110, 175]. Данный вопрос остаётся дискуссионным в связи с тем обстоятельством, что влияние остальных костномозговых клеток (остеокластов, мегакариоцитов, ретикулярных клеток стромы и др.) на гомеостаз ГСК недостаточно изучено. Очевидно, имеет место «эндостально-сосудистая» ниша ГСК, объединяющая сигналы от разных клеток костного мозга [100, 110].

Длительное время существовало убеждение, что коммитирование и дифференцировка ГСК является односторонним необратимым процессом. Со временем стали появляться сведения о возможности изменения направления коммитирования кроветворных предшественников на разных стадиях развития [43, 82]. Было установлено, например, что гранулоцитарно-макрофагальные клетки-предшественники, трансдуцированные геном gata-1, приобрели способность дифференцироваться в сторону эритроидного ростка кроветворения [89]. M. Kondo с соавторами (2000) показали, что эктопическая экспрессия бета-цепи рецептора ИЛ-2 в общих лимфоидных предшественниках репрограммировала их развитие в миеломоноцитарном направлении [101].

Большой интерес представляет такое свойство взрослых стволовых клеток как «пластичность». Речь идёт о дифференцировке стволовых клеток в клетки других органов и тканей, часто происходящих даже из разных зародышевых листков. В литературе широко представлены данные о способности ГСК в определённых условиях культивирования и/или при трансплантации в кровотоки формировать не только клетки крови, но и гепатоциты, нейроны, миоциты, клетки эпителия кишечника и эндотелия сосудов,  $\beta$ -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы, дермы, кардиомиоциты [2, 14, 16, 30, 40, 56, 63, 75, 81, 93, 103, 106, 108, 158, 166, 176]. Считается, что ГСК мигрируют в повреждённые участки тканей за счёт хоминга, обусловленного рядом факторов, образующихся в месте повреждения [39, 71, 104, 107]. В частности, к хемокину SDF-1 (Stroma Derived Factor) ГСК имеют рецепторы типа CXCR4 [96]. В результате в очаге повреждения скапливаются ГСК и под влиянием нового микроокружения дифференцируются в клетки этих

тканей и тем самым осуществляют репарацию дефекта [20, 81].

Предполагают несколько механизмов пластичности ГСК: трансдифференцировка, дедифференцировка, наличие редкой плюрипотентной СК костного мозга, точное слияние [166]. Указанные потенциальные возможности гемопоэтических СК во многом определяют высокий интерес исследователей к их применению в клинике для оптимизации репаративных процессов различных тканей. Рядом авторов пластичность ГСК подвергается сомнению. Слияние клеток (fusion), присутствие в тканях кроветворных клеток (макрофаги и лимфоциты), которые маскируются под клетки органа, сложность определения маркеров, низкое содержание клеток кроветворного происхождения повышают вероятность обнаружения артефакта пластичности СК [30, 55, 165].

Активно изучается пластичность мезенхимальных стволовых клеток [5, 6, 26, 44, 55, 65, 87, 88, 90]. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) открыты А.Я. Фриденштейном и сотрудниками ещё во второй половине прошлого столетия [76]. Фенотипически МСК взрослого организма существенно отличаются от ГСК. Клетки идентифицируют по отсутствию маркеров, характерных для гемопоэтических клеток (CD34<sup>-</sup>, CD45<sup>-</sup>, glycophorin A<sup>-</sup>, CD14<sup>-</sup>, HLA-DR, антигенов CD80 и CD86) и по наличию таких сигнальных молекул, как CD105, CD129, CD166, CD90, CD44, CD29, CD13, CD106 (VCAM-1), ICAM-2, LFA-3 [95, 180]. Дифференцировка МСК более изучена, чем ГСК. При высокой плотности посева примитивные мезенхимальные клетки способны спонтанно дифференцироваться в направлении остеоцитов, адипоцитов, хондроцитов, миоцитов и клеток стромы костного мозга [31, 94, 113, 125, 136, 137, 168, 178, 183]. Это так называемые ортодоксальные пути дифференцировки.

В последние годы обсуждается вопрос о том, что МСК могут являться предшественниками кардиомиоцитов [138, 139, 161], клеток нервной ткани [5, 30]. Существуют данные о дифференцировке МСК в направлении гладких мышц сосудов [31], эндотелиальных клеток с последующим васкуло- и ангиогенезом [147], в гепатоциты и клетки бронхиального эпителия [38]. При трансплантации МСК в область 1-го сомита на ранних стадиях развития куриного эмбриона донорские клетки участвуют в формировании почки [177]. Как видно, регенераторный потенциал МСК выходит за рамки ортодоксальной дифференцировки [17]. Это значительно расширяет возможность их применения в регенеративной медицине. На сегодняшний день активно обсуждается вопрос о возможности использования мезенхимальных СК взрослого организма для лечения ряда деструктивных заболеваний, таких, как болезни Паркинсона, Альцгеймера, инфаркта миокарда, пневмофиброза, диабета, гепатита, поражения суставов, переломов костей, атрофии межпозвоночных

дисков. Однако следует отметить, что практически во всех случаях клиническое использование МСК из таких источников как жировая, костномозговая и мышечная ткани, а также сухожилия трудоёмки, сопряжены длительными и достаточно болезненными процедурами. Неизбежные при использовании трансплантатов дополнительные манипуляции вне организма (в том числе прекультивирование) значительно сокращают дифференцировочный потенциал клеток [134, 146]. Опасность заключается и в достаточно малой изученности неортодоксальных направлений дифференцировок МСК, в частности, речь идёт о неконтролируемости процесса и высоком риске новообразований. С этих позиций актуален поиск новых подходов к терапии заболеваний с использованием стволовых клеток.

В последнее десятилетие появилось множество сообщений на тему так называемой «региональной СК». Взрослые региональные СК сохраняются в постнатальном периоде, созревают в клетки органа, из которого получены, по пролиферативному и дифференцировочному потенциалу незначительно уступают стволовым клеткам костного мозга и периферической крови, многие исследователи считают их мультипотентными [6]. Известны СК печени, поджелудочной железы, кожных покровов, нервной системы, эндотелия и кишечника взрослого организма [3, 18, 37, 66, 160]. Удалось выделить нейрональные СК, которые дают в культуре нейросферы — клеточные агрегаты сферической формы [141, 143]. В нейросферах происходит спонтанная дифференцировка клеток в нейрональном, астроглиальном и олигодендроглиальном направлениях [42]. Обсуждается вопрос о региональной СК скелетной мускулатуры [18], причём некоторыми авторами оспаривается существование такой клетки. Считается, что в данном случае речь идёт о мезенхимальной стволовой клетке [60, 181, 182]. Из миокарда новорождённых крыс и взрослого животного получены пролиферирующие клетки, способные дифференцироваться в кардиомиоциты и эндотелий сосудов [45, 169]. Значение региональных стволовых клеток в физиологической и репаративной регенерации огромно [5, 23, 72].

В настоящее время активно развивается направление фармакологической регуляции эндогенных стволовых клеток, основывающееся на принципе подражания эндогенным механизмам регуляции [10, 24]. Работая в указанном направлении, мы использовали различные модели патологических состояний (цитостатическая миелосупрессия, токсический пневмофиброз, гипоксическая травма, сахарный диабет, инфаркт миокарда и др.). Как частный случай успешного применения методологии фармакологической регуляции СК при патологии выступают данные, полученные на модели пневмофиброза. Современная

терапия идиопатического фиброза лёгких представлена противовоспалительными (глюкокортикостероиды, цитостатики), антифиброзными (*D*-пеницилламин, тетраиономилидат, колхицин), антиоксидантными (*N*-ацетилцистеин) и цитокиновыми ( $\gamma$ IFN) препаратами [91, 98, 116]. Эффективность лечения не оправдывает ожиданий, поскольку лекарственные средства способны лишь притормозить прогрессирование фибротического процесса. Современные терапевтические подходы с участием СК ограничиваются использованием клеточных трансплантантов [122, 131, 142]. Собственные экспериментальные исследования позволили установить, что костномозговые ГСК и коммитированные кроветворные клетки-предшественники активно поддерживают воспалительную реакцию в лёгочной ткани мышей линии C57BL/6, инициированную однократным интратрахеальным введением блеомицина [13]. Считается, что гемопоэтические клетки способны мигрировать по кровеносному руслу в различные органы (в том числе в лёгкие) [114]. В связи с этим нами не исключается миграция мобилизованных полипотентных кроветворных предшественников, дающих в культуре рост колоний, состоящих из недифференцированных гемопоэтических клеток (КОЕ-Н), частично детерминированных гранулоцито-эритроидно-макрофагально-мегакариоцитарных клеток-предшественников (КОЕ-ГЭММ) и коммитированных предшественников эритроидного (КОЕ-Э) и миелоидного (КОЕ-Г) ростков кроветворения в поврежденную блеомицином ткань лёгких. Дополнительным механизмом, поддерживающим повышенное содержание таких клеток воспаления, как нейтрофильные гранулоциты, можно считать стимуляцию дифференцировки КОЕ-Н и КОЕ-ГЭММ в направлении клеток гранулоцитарного роста кроветворения [13].

Поиск молекул, способных снижать активность ГСК проводился в трёх направлениях:

1) нейрофармакологические средства (симпатолитик резерпин, нейролептик галоперидол, антисеротониновый препарат ципрогептадин);

2) цитокиновые препараты (Г-КСФ, фактор роста гепатоцитов и др.);

3) соединения, изменяющие структуру межклеточного матрикса (гиалуронидаза и др.).

В условиях пневмофиброза наиболее высокой противовоспалительной активностью и одновременно снижающих мобилизацию ГСК и их дифференцировку в направлении предшественников грануломоноцитопоза обладали симпатолитик и антисеротониновый препарат. Снижение содержания соединительной ткани в лёгких под влиянием ципрогептадина и галоперидола более существенно, чем при назначении симпатолитика (таблица). Выявленные различия в действии препаратов, вероятно, объясняются отсутствием активности резерпина в отношении стволовых и коммитированных клеток мезенхимопоза. Как известно, с коммитированными клетками-предшественниками фибробластов (КОЕ-Ф) связан синтез коллагеновых волокон [13, 120], а с МСК, предположительно, процессы — реконструкции — мезенхимально-эпителиальный переход (приобретение мезенхимальными стволовыми клетками характеристик альвеолярных клеток и восполнение числа альвеоцитов) [144, 147]. Нейролептик и антисеротониновый препарат оказывают мобилизирующее действие на МСК и одновременно снижают активность КОЕ-Ф.

В отличие от нейролептика, антисеротонинового препарата и симпатолитика, препараты рекомбинантного человеческого Г-КСФ (филграстим, ленграстим, нейтростим) усиливали инфильтрацию интерстиция альвеол и альвеолярных ходов воспалительными клетками (преимущественно нейтрофилами), в стенках альвеол животных регистрировалось более выраженное венозное полнокровие по отношению к блеомициновому контролю и наличие кровоизлияний, скорость разрастания соединительной ткани в лёгких повышалась. Механизмом

Таблица

Влияние нейрофармакологических агентов, препаратов Г-КСФ и гиалуронидазы на воспалительную реакцию и содержание соединительной ткани в лёгких мышей линии C57BL/6 на фоне моделирования фиброза лёгких

	Воспаление	Соединительная ткань
Резерпин	— —	—
Галоперидол	—	— —
Ципрогептадин	— —	— —
Г-КСФ	+	+
Иммобилизованный Г-КСФ	+	+
Гиалуронидаза	—	—
Иммобилизованная гиалуронидаза	—	— —

Примечание. — — угнетение; + — стимуляция

провоспалительной и фибротической активности препаратов Г-КСФ является стимуляция костномозговых КОЕ-Н и КОЕ-Г.

Большие надежды в повышении эффективности терапии лёгочных заболеваний исследователи связывают с препаратами на основе гиалуронидазы [50]. Регуляцией баланса гиалуроновая кислота — гиалуронидаза можно влиять на формирование экстрацеллюлярного матрикса и цитокиновый профиль в тканях [153, 173]. По нашим данным, гиалуронидаза снижает накопление коллагена в лёгких мышей с блеомицином. Протективное действие гиалуронидазы, по всей видимости, связано с мезенхимальными стволовыми клетками. Известно, что введение гиалуронидазы сопровождается накоплением в бронхоальвеолярном пространстве МСК, способных дифференцироваться, в том числе, и в эпителиальные клетки (мезенхимально-эпителиальный переход) [86, 153]. Не исключается и угнетение гиалуронидазой продукции трансформирующего фактора роста β.

В настоящее время модификация биологически активных соединений путём присоединения полимерных молекул является одним из способов повышения их стабильности и длительности терапевтического действия. Наибольшую известность получил метод модификации лекарственных веществ с помощью присоединения к ним молекул полиэтиленгликоля (пегилирование). Химическое пегилирование цитокинов увеличивает растворимость за счёт повышения гидрофильности, размера и массы частицы, снижая таким образом интенсивность почечной экскреции и период полувыведения из организма [62, 64, 74, 84, 121, 135, 140, 179]. При этом уменьшается доступность частиц для протеолитических ферментов и их иммуногенность [132, 135]. Безусловно, существует определённая перспектива использования в клинике препаратов данного класса. Однако технология химического синтеза пегилированных цитокинов является многостадийной, сложной, с использованием высокотоксичных соединений, требующая очистки готового продукта [84]. Альтернативой химическому пегилированию выступает электронно-лучевой (радиационный) синтез [164], который позволяет получать низкоиммуногенные и малотоксичные фармакологические средства белковой природы [1, 7, 8, 9, 11, 12, 15].

Проведённые совместно с ООО «Саентифик фьючер менеджмент» (г.Новосибирск) экспериментальные исследования позволили продемонстрировать противифибротическую активность иммобилизованной гиалуронидазы и провоспалительную активность иммобилизованного Г-КСФ (имГ-КСФ) на модели блеомицинового фиброза лёгких. Примечательно, что эффекты были сопоставимы с непегилированными формами цитокина и фермента при более низкой концентрации вводимых иммобилизованных соединений.

Как гемостимулятор иммобилизованный Г-КСФ представляет большую привлекательность. По нашим данным, пегилированный Г-КСФ ускорял восстановление подавленного циклофосфаном гранулоцитарного роста кроветворения [1, 8, 10, 11]. При сравнении гранулоцитопозэстимулирующей активности имГ-КСФ и препарата негликозилированного Г-КСФ человека филграстим (нейпоген, «Hoffman-La Roche Ltd.», Швейцария) оказалось, что эффект пегилированного цитокина был более умеренный без овершута. Действие иммобилизованного Г-КСФ связано со стимуляцией КОЕ-Н, КОЕ-ГЭММ (дифференцировка в направлении предшественников грануломоноцитопозэа) и в меньшей степени — с КОЕ-Г [1, 11]. По некоторым данным, высвобождение активного вещества из конъюгата «полиэтиленгликоль-цитокин» происходит медленно [19], этим можно объяснить постепенный прирост нейтрофилов в периферической крови при введении имГ-КСФ. С нашей точки зрения, более «мягкая» стимуляция гранулоцитопозэа пегилированным цитокином является преимуществом перед филграстином, длительное применение которого может способствовать появлению ряда побочных эффектов (описаны случаи синдрома острой дыхательной недостаточности, поражение лёгких, спленомегалия, в редких случаях, с разрывом селезенки) [21, 156], подавление тромбоцитарного роста гемопоэза [102] и развитие острого миелолейкоза (подтип М1) [111].

Таким образом, использование стволовых клеток является наиболее перспективным подходом в терапии дегенеративных заболеваний. Наиболее эффективным и в то же время безопасным методом регенеративной медицины является фармакологическая модуляция функций эндогенных стволовых клеток, основанная на принципе подражания естественным регуляторным системам.

## Список литературы

1. *Андреева Т.В., Артамонов А.В., Бекарев А.А.* и др. Роль стромальных и Thy 1,2<sup>+</sup>-клеток в механизмах действия иммобилизованного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2010. — Т. 150, №11. — С. 523—528.
2. *Ватутин Н.Т., Гринь В.К., Калинин Н.В.* и др. Роль трансплантации стволовых гемопоэтических клеток в регенерации поврежденных тканей // Украинский медицинский журнал. — 2003. — №3. — С. 42—49.
3. *Воробьев А.И.* Руководство по гематологии: в 3 т. Т. 1. / Под ред. А.И. Воробьева. 3-е изд-е, перераб. и допол. — М.: Ньюдиамед, 2002. — 280 с.
4. *Гаврилов О.К., Козинец Г.И., Черняк Н.Б.* Клетки костного мозга и периферической крови. — М.: Медицина, 1985. — 288 с.
5. *Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В.* Современные взгляды на проблему стволовых клеток и возможности их использования в медицине //



Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2002. — №4. — С. 184—189.

6. **Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В.** и др. Влияние гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на восстановление миокарда в постинфарктном периоде // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2005. — Т. 139, №3. — С. 297—301.

7. **Дыгай А.М., Артамонов А.В., Верещагин Е.И., Мадонов П.Г.** Создание нового класса лекарственных препаратов на основе нанотехнологий // Сборник тезисов докладов участников Второго Международного форума по нанотехнологиям. — М., 2009. — С. 607—609.

8. **Дыгай А.М., Верещагин Е.И., Жданов В.В.** и др. Механизмы гранулоцитопозестимулирующей активности иммобилизованного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2009. — №7. — С. 60—64.

9. **Дыгай А.М., Артамонов А.В., Бекарев А.А.** и др. Гемостимулирующие эффекты иммобилизованной гиалуронидазы и механизмы их развития при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2010. — №5. — С. 528—531.

10. **Дыгай А.М., Жданов В.В.** Гранулоцитарный колониестимулирующий фактор. Фармакологические аспекты. — М.: Изд-во РАМН, 2010. — 138 с.

11. **Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Андреева Т.В.** и др. Действие иммобилизованного гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на кроветворные предшественники различных классов при цитостатической миелосупрессии // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2010. — Т. 148, №3. — С. 255—260.

12. **Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В.** и др. Гемостимулирующие свойства иммобилизованного с помощью нанотехнологии электронно-лучевого синтеза эритропоэтина // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2011. — №2. — С. 207—210.

13. **Дыгай А.М., Скурихин Е.Г., Андреева Т.В.** и др. Реакции системы крови и стволовых клеток в условиях блеомициновой модели фиброза легких // Бюл. эксперим. биол. и медицины. — 2011. — Т. 152, №8. — С. 132—136.

14. **Ерешев С.И., Степанов С.С., Семченко В.В., Щербачков П.Н.** Структурно-функциональная характеристика неокортекса при очаговой травме мозга и внутримозговой гетеротопической трансплантации эмбриональной нервной ткани // Сибирский медицинский журнал (Томск). — 2005. — Т. 20, №1. — С. 26—31.

15. Иммобилизованный гранулоцитарный колониестимулирующий фактор / Дыгай А.М., Зюзьков Г.Н., Жданов В.В. и др. — Томск: Изд-во ООО «Печатная мануфактура», 2011. — 149 с.

16. **Карпов Р.С., Попов С.В., Марков В.А.** и др. Аутологичные мононуклеарные клетки костного мозга в процессах восстановительной регенерации при остром инфаркте миокарда // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2005. — №4. — С. 239—243.

17. **Котенко К.В., Мороз Б.Б., Надежина Н.М., Галстян И.А., Онищенко Н.А., Еремин И.И., Дешевой Ю.Б., Лебедев В.Г., Слободина Т.С., Дубицкий С.Е., Гринаковская О.С., Жутов Ю.А., Бушманов А.Ю.** Трансплантация мезенхимальных стволовых клеток при лечении лучевых поражений кожи // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. — 2011 — №1. — С. 20—26.

18. **Кругляков П.В., Соколова И.Б., Польшцев Д.Г.** Стволовые клетки дифференцированных тканей взрослого организма // Цитология. — 2008. — Т. 50, №7. — С. 557—567.

19. **Лактин В.М., Афанасьев С.С., Лактин М.В.** и др. Нанотехнологии и перспективы их использования в

медицине и биотехнологии // Вестник Российской АМН. — 2008. — №4. — С. 50—55.

20. **Малайцев В.В., Богданова И.М., Сухих Г.Т.** Современные представления о биологии стволовой клетки // Архив патологии. — 2002. — Т. 64. — №4. — С. 7—11.

21. **Нифонтова И.Н., Бизильцев А.И., Сац Н.В.** и др. Влияние длительного воздействия гранулоцитарного колониестимулирующего фактора на кроветворение // Гематология и трансфузиология: научно-практический журнал. — 2008. — №5. — С. 50—55.

22. **Скофилд Р., Декстер Т.М.** Самоподдерживание стволовых клеток-предшественников // Проблемы гематологии и переливания крови. — 1982. — Т. 17. — Вып. 7. — С. 13—18.

23. **Сухих Г.Т., Малайцев В.В., Богданов И.М., Дубровина И.В.** Мезенхимальные стволовые клетки // Бюл. эксперим. биол. — 2002. — Т. 133, №2. — С. 124—131.

24. Фармакологическая регуляция системы крови при экспериментальных невротических воздействиях / Гольдберг Е.Д., Дыгай А.М., Жданов В.В. и др. — Томск: Изд-во ТГУ, 2007. — 155 с.

25. **Фриденштейн А.Я., Лурия Е.А.** Клеточные основы кроветворного микроокружения. — М.: Медицина, 1980. — 213 с.

26. **Шумаков В.И., Онищенко Н.А., Крашенинников М.Е.** и др. Костный мозг как источник получения мезенхимальных клеток для восстановительной терапии поврежденных органов // Вестн. трансплантологии и искусств. органов. — 2002. — №4. — С. 3—6.

27. **Чертков И.Л., Фриденштейн А.Я.** Клеточные основы кроветворения. — М., 1977. — 272 с.

28. **Чертков И.Л., Гуревич О.А.** Стволовая кроветворная клетка и ее микроокружение. — М.: Медицина, 1984. — 238 с.

29. **Чертков И.Л., Дризе Н.И.** Как обеспечивается поддержание кроветворной системы // Гематол. и трансфузиол. — 1998. — Т. 43, №4. — С. 3—8.

30. **Чертков И.Л., Дризе Н.И.** Дифференцировочный потенциал стволовых клеток (Проблема пластичности) // Вестник Российской академии медицинских наук. — 2005. — №10. — С. 37—44.

31. **Чертков И.Л., Дризе Р.И., Воробьев А.И.** Схема кроветворения // Терапевтический архив. — 2006. — №7. — С. 5—12.

32. **Abkowitz J.L., Catlin S.N., Gutter P.** Evidence that hematopoiesis may be a stochastic process in vivo // Nat. Med. — 1996. — Vol. 2. — P. 190—197.

33. **Adolfsson J., Mansson R., Buza-Vidas N.** et al. Identification of Flt3+ lympho-myeloid stem cells lacking erythro-megakaryocytic potential a revised road map for adult blood lineage commitment // Cell. — 2005. — Vol. 121. — P. 295—306.

34. **Akashi K., Eto T., Shibuya T.** et al. Aclarubicin induces differentiation of leukemic progenitors in myelodysplastic syndrome cooperating with granulocyte colony-stimulating factor // Leuk. Res. — 2000. — Vol. 24, №3. — P. 243—248.

35. **Alenzi Faris Q.** Role of airway epithelium in engulfing apoptotic eosinophils // Nigerian journal of medicine: journal of the National Association of Resident Doctors of Nigeria. — 2009. — Vol. 18. — P. 149—157.

36. **Al-Hajj M., Clarke M.F.** Self-renewal and solid tumor stem cells // Oncogene. — 2004. — Vol. 23. — P. 7274—7282.

37. **Alonso L., Fuchs E.** Stem cells of the skin epithelium // Proc. Nat. Acad. Sci. USA 100. — 2003. — Vol. 11 (Suppl. 1). — P. 11830—11835.

38. **Anjos-Afonso F., Siapati E., Bonnet D.** In vivo contribution of murine mesenchymal stem cells into multiple cell-types under minimal damage conditions // *J. Cell Sci.* — 2004. — Vol. 117. — P. 5655–5664.
39. **Badiavas E.V., Abedi M., Butmarc J.** et al. Participation of bone marrow derived cells in cutaneous wound healing // *J. Cell Physiol.* — 2003. — Vol. 196, №2. — P. 245–250.
40. **Bailey A.S., Jiang S., Afentoulis M.** et al. Transplanted adult hematopoietic stem cells differentiate into functional endothelial cells // *Blood.* — 2004. — Vol. 103, №1. — P. 13–29.
41. **Baum C.M., Weissman I.L., Tsukamoto A.S.** et al. Isolation of a candidate human hematopoietic stem-cell population // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1992. — Vol. 89. — P. 2804–2808.
42. **Bazan E., Alonso F., Redondo C.** et al. In vitro and in vivo characterization of neural stem cells // *Histol. Histopathol.* — 2004. — Vol. 19. — P. 1261–1275.
43. **Beug H., Blundell P.A., Graf T.** Reversibility of differentiation and proliferative capacity in avian myelomonocytic cells transformed by tsE26 leukemia virus // *Genes Dev.* — 1987. — Vol. 1, №3. — P. 277–286.
44. **Bellantuono I.** Haemopoietic stem cells // *The international journal of biochemistry & cell biology.* — 2004. — Vol. 36. — P. 607–620.
45. **Beltrami A., Barlucchi L., Torella D.** et al. Adult cardiac stem are multipotent and support myocardial regeneration // *Cell.* — 2003. — Vol. 114. — P. 763–776.
46. **Benedetti F.** CD34+ cells: biological aspects // *Tumori.* — 1996. — Vol. 82 (2 Suppl.). — P. 3–13.
47. **Bhatia M., Bonnet D., Kapp U.** et al. Quantitative analysis reveals expansion of human hematopoietic repopulating cells after short-term ex vivo culture // *J. Exp. Med.* — 1997. — Vol. 186, №4. — P. 619–624.
48. **Bhatia M., Wang J.C., Kapp U.** et al. Purification of primitive human hematopoietic cells capable of repopulating immune-deficient mice // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1997. — Vol. 94, №10. — P. 5320–5325.
49. **Bhatia M., Bonnet D., Murdoch B.** et al. A newly discovered class of human hematopoietic cells with SCID-repopulating activity // *Nat. Med.* — 1998. — Vol. 9. — P. 1038–1045.
50. **Bitencourt C.S., Pereira P.A.T., Ramos S.G.** et al. Hyaluronidase recruits mesenchymal-like cells to the lung and ameliorates fibrosis // *Fibrogenesis & Tissue repair.* — 2011. — Vol. 4, №3. — P. 2–14.
51. **Blackett N., Botnick L.** A regulatory mechanism for the number of pluripotent haemopoietic progenitor cells in mice // *Blood Cells.* — 1981. — Vol. 7, №2. — P. 417–439.
52. **Brugger W., Bross K.J., Glatt M.** et al. Mobilization of tumor cells and hematopoietic progenitor cells into peripheral blood of patients with solid tumors // *Blood.* — 1994. — Vol. 83, №3. — P. 636–640.
53. **Brugger W., Henschler R., Heimfeld S.** et al. Positively selected autologous blood CD34+ cells and unseparated peripheral blood progenitor cells mediate identical hematopoietic engraftment after high-dose VP16, ifosfamide, carboplatin, and epirubicin // *Blood.* — 1994. — Vol. 84, №5. — P. 1421–1426.
54. **Calvi L.M., Adams G.B., Weibrecht K.W.** et al. Osteoblastic cells regulate the hematopoietic stem cell niche // *Nature.* — 2003. — Vol. 425. — P. 841–846.
55. **Camargo F.D., Chambers S.M., Goodell M.A.** Stem cell plasticity: from transdifferentiation to macrophage fusion // *Cell Prolif.* — 2004. — Vol. 37, №1. — P. 55–65.
56. **Cavazzana-Calvo M., Lagresle C., Andre-Schmutz I., Hacein-Bey-Abina S.** The bone marrow: a reserve of stem cells able to repair various tissues? // *Ann. Biol. Clin. (Paris).* — 2004. — Vol. 62. — P. 131–139.
57. **Chan C.K., Chen C.C., Luppen C.A.** et al. Endochondral ossification is required for haematopoietic stem-cell niche formation // *Nature.* — 2009. — Vol. 457, №7228. — P. 490–494.
58. **Cheung A.M., Kwong Y.L., Liang R., Leung A.Y.** Stem cell model of hematopoiesis // *Curr. Stem. Cell. Res. Ther.* — 2006. — Vol. 1, №3. — P. 305–315.
59. **Christensen J.L., Weissman I.L.** Flk-2 is a marker in hematopoietic stem cell differentiation: a simple method to isolate long-term stem cells // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2001. — Vol. 98. — P. 14541–14546.
60. **Chu J., Zhao J., Ding S.** et al. Activation of automesenchymal stem cells of skeletal muscle by bone morphogenetic protein for rescuing bone marrow failure // *Zhongguo Yi Xue Ke Xue Yan Xue Bao.* — 2002. — Vol. 24. — P. 272–275.
61. **Civin C.I., Strauss L.C., Fackler M.J.** et al. Positive stem cell selection—basic science // *Prog. Clin. Biol. Res.* — 1990. — Vol. 333. — P. 387–401, discussion P. 402.
62. **Curran M.P., Goa K.L.** Pegfilgrastim // *Drugs.* — 2002. — Vol. 62. — P. 1207–1213.
63. **Danet G.H., Luongo J.L., Butler G.** et al. ClqRp defines a new human stem cell population with hematopoietic and hepatic potential // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99, №16. — P. 10441–10445.
64. **Delgado C., Francis G.E., Fisher D.** The uses and properties of PEG-linked proteins // *Crit. Rev. Ther. Drug. Carr. Syst.* — 1992. — Vol. 9. — P. 294–304.
65. **Dezawa M., Ishikawa H., Hoshino M.** et al. Potential of bone marrow stromal cells in applications for neuro-degenerative, neuro-traumatic and muscle degenerative diseases // *Curr. Neuropharmacol.* — 2005. — Vol. 3, №4. — P. 257–266.
66. **Dunnwald M., Tomanek-Chalkley A., Alexandrunas D.** et al. Isolating a pure population of epidermal stem cells for use in tissue engineering // *Exp. Dermatol.* — 2001. — Vol. 10. — P. 45–54.
67. **Eleferiou F., Ahn J.D., Takeda S.** et al. Leptin regulation of bone resorption by the sympathetic nervous system and CART // *Nature.* — 2005. — Vol. 434, №7032. — P. 514–520.
68. **Enver T., Heyworth C.M., Dexter T.M.** Do stem cells play dice? // *Blood.* — 1998. — Vol. 92(2). — P. 348–352.
69. **Fackler M.J., Krause D.S., Smith O.M.** et al. Full-length but not truncated CD34 inhibits hematopoietic cell differentiation of M1 cells // *Blood.* — 1995. — Vol. 85, №11. — P. 3040–3047.
70. **Fang B., Liao L., Shi M.** et al. Multipotency of Flk1CD34 progenitors derived from human fetal bone marrow // *J. Lab. Clin. Med.* — 2004. — Vol. 143, №4. — P. 230–240.
71. **Fathke C., Wilson L., Hutter J.** et al. Contribution of bone marrow-derived cells to skin: collagen deposition and wound repair // *Stem Cells.* — 2004. — Vol. 22, №5. — P. 812–822.
72. **Ferrari G., Cusella-De Angelis G.** et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors // *Science.* — 1998. — Vol. 279. — P. 1528–1530.
73. **Fina L., Molgaard H.V., Robertson D.** et al. Expression of the CD34 gene in vascular endothelial cells // *Blood.* — 1990. — Vol. 75, №12. — P. 2417–2426.
74. **Frampton J.E., Keating G.M.** Spotlight on pegfilgrastim in chemotherapy-induced neutropenia // *BioDrugs.* — 2005. — Vol. 19. — P. 405–407.
75. **French S.W., Hoyer K.K., Shen R.R., Teitell M.A.** Transdifferentiation and nuclear reprogramming in

hematopoietic development and neoplasia // *Immunol. Rev.* — 2002. — Vol. 187. — P. 22–39.

76. **Friedenstein A.J., Petrakova K.V., Kurolesova A.I.** et al. Heterotypic transplants of bone marrow: analysis of precursor cells for osteogenic and hematopoietic tissues // *Transplant.* — 1968. — Vol. 6. — P. 230–247.

77. **Furness S.G., McNaghy K.** Beyond mere markers: functions for CD34 family of sialomucins in hematopoiesis // *Immunol. Res.* — 2006. — Vol. 34(1). — P. 13–32.

78. **Goldwasser E.** Erythropoietin and red cell differentiation // Cunningham D., Goldwasser E., Watson J., Fox C.F. (ed.). *Control of cellular division and development. Part A.* — N.Y.: Alan Liss., 1981. — P. 487–494.

79. **Gordon M.Y., Ford A.M., Greaves M.F.** Interactions of hematopoietic progenitor cells with extracellular matrix // *The Hematopoietic Microenvironment.* Johns Hopkins Univ. Press, Baltimore, 1993. — P. 152–174.

80. **Gordon M.Y., Amos T.A.** Stochastic effects in hemopoiesis // *Stem Cells.* — 1994. — Vol. 12. — P. 175–179.

81. **Goodell M.A., Jackson K.A., Majka S.M.** et al. Stem cell plasticity in muscle and bone marrow // *Ann. NY Acad. Sci.* — 2001. — Vol. 938. — P. 208–220.

82. **Graf T.** Differentiation plasticity of hematopoietic cells // *Blood.* — 2002. — Vol. 99(9). — P. 3089–3101.

83. **Graham G.J., Wright E.G.** Haemopoietic stem cells: their heterogeneity and regulation // *Int. J. Exp. Pathol.* — 1997. — Vol. 78. — P. 197–218.

84. **Hamidi M., Azadi A., Rafiei P.** Pharmacokinetic consequences of pegylation // *Drug Delivery.* — 2006. — Vol. 13. — P. 399–409.

85. **Hao Q.L., Zhu J., Price M.A.** et al. Identification of a novel, human multilymphoid progenitor in cord blood // *Blood.* — 2001. — Vol. 97(12). — P. 3683–3690.

86. **Hardie W.D., Glasser S.W., Hagood J.S.** // *Am. J. of Pathol.* — 2009. — Vol. 175. — P. 3–16.

87. **Hematti P., Sloand E.M., Carvalho C.A.** et al. Absence of donor-derived keratinocyte stem cells in skin tissues cultured from patients after mobilized peripheral blood hematopoietic stem cell transplantation // *Exp. Hematol.* — 2002. — Vol. 30, №8. — P. 943–949.

88. **Herzog E.L., Chai L., Krause D.S.** Plasticity of marrow-derived stem cells // *Blood.* — 2003. — Vol. 102, №10. — P. 3483–3493.

89. **Heyworth C.M., Gagen D., Edington K.G., Fairbairn L.J.** Retroviral transfer and expression of human MDR-1 in a murine haemopoietic stem cell line does not alter factor dependence, growth or differentiation characteristics // *Leukemia.* — 2002. — Vol. 16, №1. — P. 106–111.

90. **Hirschi K.K., Goodell M.A.** Hematopoietic, vascular and cardiac fates of bone marrow-derived stem cells // *Gene Ther.* — 2002. — Vol. 9. — P. 648–652.

91. **Horowitz J.C., Thannickal V.J.** Idiopathic pulmonary fibrosis: new concepts in pathogenesis and implications for drug therapy // *Treatment in Respiratory Medicine.* — 2006. — Vol. 5. — P. 325–342.

92. **Huss R.** Isolation of primary and immortalized CD34-hematopoietic and mesenchymal stem cells from various sources // *Stem Cells.* — 2000. — Vol. 18(1). — P. 1–9.

93. **Ianus A., Holz G.G., Theise N.D.** et al. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion // *J. Clin. Invest.* — 2003. — Vol. 111. — P. 843–850.

94. **Johnstone B., Hering T., Caplan A.** et al. *In vitro* chondrogenesis of bone marrow-derived mesenchymal

progenitor cells // *Exp. Cell Res.* — 1998. — Vol. 238. — P. 265–272.

95. **Jorgensen C., Djouad F., Apparailly F.** et al. Engineering mesenchymal stem cells for immunotherapy // *Gene Therapy.* — 2003. — Vol. 10. — P. 928–931.

96. **Juarez J., Bendall L.** SDF-1 and CXCR4 in normal and malignant hematopoiesis // *Histol. Histopathol.* — 2004. — Vol. 19. — P. 299–309.

97. **Katayama Y., Battista M., Kao W.M.** et al. Signals from the sympathetic nervous system regulate hematopoietic stem cell egress from bone marrow // *Cell.* — 2006. — Vol. 124, №2. — P. 407–421.

98. **Khalil N., O'Connor R.** Idiopathic pulmonary fibrosis: current understanding of the pathogenesis and the status of treatment // *Canadian Medical Association Journal.* — 2004. — Vol. 171. — P. 153–160.

99. **Kiel M.J., Yilmaz O.H., Iwashita T.** et al. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells // *Cell.* — 2005. — Vol. 121. — P. 1109–1121.

100. **Kiel M.J., Morrison S.J.** Uncertainty in the niches that maintain haematopoietic stem cells // *Nat. Rev. Immunol.* — 2008. — Vol. 8. — P. 290–301.

101. **Kondo M., Scherer D.C., Miyamoto T.** et al. Cell-fate conversion of lymphoid-committed progenitors by instructive actions of cytokines // *Nature.* — 2000. — Vol. 407, №6802. — P. 383–386.

102. **Kovacic J.C., Macdonald P., Freund J.** et al. Profound thrombocytopenia related to G-CSF // *Am. J. Hematol.* — 2007. — Vol. 82. — P. 229–230.

103. **Kotton D.N., Ma B.Y., Cardoso W.V.** et al. Bone marrow-derived cells as progenitors of lung alveolar epithelium // *Development.* — 2001. — Vol. 128, №24. — P. 5181–5188.

104. **Korbling M., Katz R.L., Khanna A.** et al. Hepatocytes and epithelial cells of donor origin in recipients of peripheral-blood stem cells // *N. Engl. J. Med.* — 2002. — Vol. 346, №10. — P. 738–746.

105. **Krause D.S., Ito T., Fackler M.J.** et al. Characterization of murine CD34, a marker for hematopoietic progenitor and stem cells // *Blood.* — 1994. — Vol. 84, №3. — P. 691–701.

106. **Krause D.S., Theise N.D., Collector M.I.** et al. Multi-organ, multi-lineage engraftment by a single bone marrow-derived stem cell // *Cell.* — 2001. — Vol. 105, №3. — P. 369–377.

107. **Labar B.** Plasticity of hematopoietic stem cells // *Acta Med. Croatica.* — 2009. — Vol. 63, №3. — P. 227–230.

108. **Lagasse E., Connors H., Al-Dhalimy M.** et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo // *Nat. Med.* — 2000. — Vol. 6, №11. — P. 1229–1234.

109. **Lin H.** The stem-cell niche theory: lessons from flies // *Nat. Rev. Genet.* — 2002. — Vol. 3, №12. — P. 931–940.

110. **Lo Celso C., Fleming H.E., Wu J.W.** et al. Live-animal tracking of individual haematopoietic stem/progenitor cells in their niche // *Nature.* — 2009. — Vol. 457. — P. 92–96.

111. **Makita K., Ohta K., Mugitani A.** et al. Acute myelogenous leukemia in a donor after granulocyte colony-stimulating factor-primed peripheral blood stem cell harvest // *Bone Marrow Transplant.* — 2004. — Vol. 33. — P. 661–665.

112. **Manz M.G., Miyamoto T., Akashi K., Weissman I.L.** Prospective isolation of human clonogenic common myeloid progenitors // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2002. — Vol. 99, №18. — P. 11872–11877.

113. **Martin D., Cox N., Hathcock T., Niemeyer G., Baker H.** Isolation and characterization of multipotential

mesenchymal stem cells from feline bone marrow // *Exp. Hematol.* — 2002. — Vol. 30. — P. 879–886.

114. **Massberg S., Schaerli P., Knezevic-Maramica I.** et al. Immunosurveillance by hematopoietic progenitor cells trafficking through blood, lymph, and peripheral tissues // *Cell.* — 2007. — Vol. 131, №5. — P. 994–1008.

115. **Maximov A.** // *Handbuch der mikroskopischen Anatomie des Menschen* / Ed. W. Mollendorf. — Berlin, 1927.

116. **Meltzer E.B., Noble P.W.** Idiopathic pulmonary fibrosis // *Orphanet Journal of Rare Diseases.* — 2008. — Vol. 3. — P. 1–15.

117. **Metcalf D., Moore M.A.S.** Hemopoietic cells. N-H comp. — Amsterdam, 1971.

118. **Metcalf D.** Cell-cell signalling in the regulation of blood cell formation and function // *Immunol. Cell. Biol.* — 1998. — Vol. 76, №5. — P. 441–447.

119. **Metcalf D.** Concise review: hematopoietic stem cells and tissue stem cells: current concepts and unanswered questions // *Stem. Cells.* — 2007. — Vol. 25, №10. — P. 2390–2395.

120. **Moeller A., Ask K., Warburton D.** et al. The bleomycin animal model: a useful tool to investigate treatment options for idiopathic pulmonary fibrosis? // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* — 2008. — Vol. 40, №3. — P. 362–382.

121. **Molineux G.** The design and development of pegfilgrastim // *Curr. Pharm. Des.* — 2004. — Vol. 10. — P. 1235–1244.

122. **Moodley Y., Aienza D., Manuelpillai U.** et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells reduce fibrosis of bleomycin-induced lung injury // *The American Journal of Pathology.* — 2009. — Vol. 175. — P. 303–313.

123. **Moore K.A., Lemischka I.R.** Stem cells and their niches // *Science.* — 2006. — Vol. 31, №311 (5769). — P. 1880–1885.

124. **Morrison S.J., Weissman I.L.** The long-term repopulating subset of hematopoietic stem cells is deterministic and isolatable by phenotype // *Immunity.* — 1994. — Vol. 1, №8. — P. 661–673.

125. **Muraglia A., Cancedda R., Quarto R.** Clonal mesenchymal progenitors from human bone marrow differentiate in vitro according to a hierarchical model // *J. Cell Sci.* — 2000. — Vol. 113. — P. 1161–1166.

126. **Nakahata T., Spicer S., Catney J., Ogawa M.** Clonal assay of mouse mast cell colonies in methylcellulose culture // *Blood.* — 1982. — Vol. 60. — P. 352–361.

127. **Novak J.P., Stewart C.C.** Stochastic versus deterministic in haemopoiesis: what is what? // *Br. J. Haematol.* — 1991. — Vol. 78, №2. — P. 149–154.

128. **Ogawa M.** Differentiation and proliferation of hematopoietic stem cells // *Blood.* — 1993. — Vol. 81, №11. — P. 2844–2853.

129. **Ogawa M.** Blast cell colony assays and LTC-IC assay (discussion) // *Stem. Cells.* — 1997. — Vol. 15. — Suppl. 1. — P. 197–198.

130. **Ohishi K., Katayama N., Shiku H.** et al. Notch signalling in hematopoiesis // *Semin. Cell. Dev. Biol.* — 2003. — Vol. 14, №2. — P. 143–150.

131. **Ortiz L.A., Gambelli F., McBride C.** et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 2003. — Vol. 100. — P. 8407–8411.

132. **Patinkin D., Hidmi A., Weiss L.** et al. The effect of pegylated antisense acetylcholinesterase on hematopoiesis // *Oligonucleotides.* — 2003. — Vol. 13, №4. — P. 207–216.

133. **Pazianos G., Ugoezwa M., Reya T.** The elements of stem cell self-renewal: a genetic perspective // *Biotechniques.* — 2003. — Vol. 35, №6. — P. 1240–1247.

134. **Phinney D., Kopen G., Isaacson R., Prockop D.** Plastic adherent stromal cells from the bone marrow of commonly used strains of inbred mice: variations in yield,

growth, and differentiation // *J. Cell. Biochem.* — 1999. — Vol. 72. — P. 570–585.

135. **Piedmonte D.M., Treuheit M.J.** Formulation of Neulasta (pegfilgrastim) // *Advanced Drug Delivery Reviews.* — 2008. — Vol. 60. — P. 50–58.

136. **Pittenger M., Mackay A., Beck S.** et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells // *Science.* — 1999. — Vol. 284, №5411. — P. 143–147.

137. **Pittenger M., Mosca J., Mc Intosh K.** Human mesenchymal stem cells: progenitor cells for cartilage, bone, fat and stroma // *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* — 2000. — Vol. 251. — P. 3–11.

138. **Pittenger M.F., Martin B.J.** Mesenchymal stem cells and their potential as cardiac therapeutics // *Circ. Res.* — 2004. — Vol. 95. — P. 9–20.

139. **Pochampally R., Neville B., Schwartz E.** et al. Rat adult stem cells (marrow stromal cells) engraft and differentiate in chick embryos without evidence of cell fusion // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2004. — Vol. 101. — P. 9282–9285.

140. **Rajan R.S., Li T., Aras M.** et al. Modulation of protein aggregation by polyethylene glycol conjugation: G-CSF as a case study // *Protein Sci.* — 2006. — Vol. 45. — P. 1063–1075.

141. **Reynolds B., Rietze R.** Neural stem cells and neurospheres — re-evaluating the relationship // *Nat. Methods.* — 2005. — Vol. 2. — P. 333–336.

142. **Rojas M., Xu J., Woods C.R.** et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells in repair of the injured lung // *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology.* — 2005. — Vol. 33. — P. 145–152.

143. **Romanko M., Rothstein R., Levison S.** Neural stem cells in the subventricular zone are resilient to hypoxia/ischemia whereas progenitors are vulnerable // *J. Cereb. Blood Flow. Metab.* — 2004. — Vol. 24. — P. 814–825.

144. **Ruddell R.G., Oakley F., Hussain Z.** et al. // *Am. J. Pathol.* — 2006. — Vol. 169. — P. 861–876.

145. **Schofield R.** The relationship between the spleen colony-forming cell and the haemopoietic stem cell // *Blood Cells.* — 1978. — Vol. 4, №1–2. — P. 7–25.

146. **Sekiya I., Larson B., Smith J.** et al. Expansion of human adult stem cells from bone marrow stroma: conditions that maximize the yields of early progenitors and evaluate their quality // *Stem Cells.* — 2002. — Vol. 20. — P. 530–541.

147. **Shukla M.N., Rose J.L., Ray R.** et al. Hepatocyte growth factor inhibits epithelial to myofibroblast transition in lung cells via Smad7 // *Am. J. Respir. Cell Mol. Biol.* — 2009. — Vol. 40. — P. 643–653.

148. **Sicora M.A., Olszewski W.L.** Stem cells — biology and therapeutic application // *Postepy Hig. Med. Dosw.* — 2004. — Vol. 5. — P. 202–210.

149. **Simmons D.L., Satterthwaite A.B., Tenen D.G., Seed B.** Molecular cloning of a cDNA encoding CD34, a sialomucin of human hematopoietic stem cells // *J. Immunol.* — 1992. — Vol. 148, №1. — P. 267–271.

150. **Socolovsky M., Lodish H.F., Daley G.Q.** Control of hematopoietic differentiation: lack of specificity in signaling by cytokine receptors. Commentary // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1998. — Vol. 95. — P. 6573–6575.

151. **Spangrude G.L., Heimfield S., Weissman I.L.** Purification and characterization of mouse hematopoietic stem cells // *Science.* — 1988. — Vol. 241. — P. 58.

152. **Spradling A., Drummond-Barbosa D., Kai T.** Stem cells find their niche // *Nature.* — 2001. — Vol. 414, №6859. — P. 98–104.

153. **Strieter R.M.** What differentiates normal lung repair and fibrosis [text] // Proceedings of the American thoracic society. — 2008. — Vol. 5. — P. 305–310.
154. **Suda T., Arai F., Hirao A.** Hematopoietic stem cells and their niche // Trends Immunol. — 2005. — Vol. 26, №8. — P. 426–433.
155. **Sutherland H.J., Eaves C.J., Eaves A.C.** et al. Characterization and partial purification of human marrow cells capable of initiating long-term hematopoiesis in vitro // Blood. — 1989. — Vol. 74, №5. — P. 1563–1570.
156. **Szumilas P., Barcew K., Baskiewicz-Masiuk M.** et al. Effect of stem cell mobilization with cyclophosphamide plus granulocyte colony-stimulating factor on morphology of haematopoietic organs in mice // Cell Prolif. — 2005. — Vol. 38. — P. 47–61.
157. **Taichman R.S.** Blood and bone: two tissues whose fates are intertwined to create the hematopoietic stem-cell niche // Blood. — 2005. — Vol. 105, №7. — P. 2631–2639.
158. **Theise N.D., Krause D.S.** Suggestions for a new paradigm of cell differentiative potential // Blood Cells Mol. Dis. — 2001. — Vol. 27, №3. — P. 625–631.
159. **Till J., McCulloch E.A.** Hemopoietic stem cell differentiation // Biochim. Biophys. Acta. — 1980. — Vol. 605. — P. 431–459.
160. **Toma J., Akhavan M., Fernandes K.** et al. Isolation of multipotent adult stem cells the dermis of mammalian skin // Nat. Cell Biol. — 2001. — Vol. 3. — P. 778–784.
161. **Toma C., Pittenger M.F., Cahill K.S.** et al. Human mesenchymal stem cells differentiate to a cardiomyocyte phenotype in the adult murine heart // Circulation. — 2002. — Vol. 105. — P. 93–98.
162. **Tong Yin, Linheng Li.** The stem cell niches in bone // J. Clin. Invest. — 2006. — Vol. 116. — P. 1195–1201.
163. **Trentin J.** Determination of bone marrow stem cell differentiation by stromal hemopoietic inductive microenvironment (HIM) // Amer. J. Path. — 1971. — Vol. 65. — P. 621–628.
164. **Vereschagin E.I., Khan Do-Hung** et al. Radiation Technology in the Preparation of Polyethylene Oxide Hydrophilic Gels and Immobilization of Proteases for Use in Medical Practice // Arch. Pharm. Res. — 2001. — Vol. 24, №3. — P. 229–233.
165. **Vogel G.** Swedish research. New stem cell fund raises hackles // Science. — 2002. — Vol. 298, №5593. — P. 517.
166. **Wagers A.J., Sherwood R.I., Christensen J.L., Weissman I.L.** Little evidence for developmental plasticity of adult hematopoietic stem cells // Science. — 2002. — Vol. 297. — P. 2256–2259.
167. **Wagner W., Horn P., Bork S., Ho A.D.** Aging of hematopoietic stem cells is regulated by the stem cell niche // Exp. Gerontol. — 2008. — Vol. 43, №11. — P. 974–980.
168. **Wakitani S., Saito T., Caplan A.I.** Myogenic cells derived from rat bone marrow mesenchymal stem cells exposed to 5-azacytidine // Muscle Nerve. — 1995. — Vol. 18. — P. 1417–1426.
169. **Warejcka D., Harvey R., Taylor B.** et al. A population of cells isolated from rat heart capable of differentiating into several mesodermal phenotypes // J. Surg. Res. — 1996. — Vol. 62. — P. 233–242.
170. **Watt F.M., Hogan B.L.** Out of Eden: stem cells and their niches // Science. — 2000. — Vol. 287, №5457. — P. 1427–1430.
171. **Weber J.M., Forsythe S.R., Christianson C.A.** et al. Parathyroid hormone stimulates expression of the Notch ligand Jagged1 in osteoblastic cells // Bone. — 2006. — Vol. 39, №3. — P. 485–493.
172. **Wilson A., Trumpp A.** Bone-marrow haematopoietic-stem-cell niches // Nature Rev. Immunol. — 2006. — Vol. 6. — P. 93–106.
173. **Wilson M.S., Wynn T.A.** Pulmonary fibrosis: pathogenesis, etiology and regulation // Mucosal Immunology. — 2010. — Vol. 2. — P. 103–121.
174. **Wu J.Y., Scadden D.T., .** Role of the osteoblast lineage in the bone marrow hematopoietic niches // J. Bone Miner. Res. — 2009. — Vol. 24, №5. — P. 759–764.
175. **Xie Y., Yin T., Wiegraebe W.** et al. Detection of functional haematopoietic stem cell niche using real-time imaging // Nature. — 2009. — Vol. 457. — P. 97–101.
176. **Yamashita J., Itoh H., Hirashima M.** et al. Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular progenitors // Nature. — 2000. — Vol. 408. — P. 92–96.
177. **Yokoo T., Ohashi T., Shen J.** et al. Human mesenchymal stem cells in rodent whole-embryo culture are reprogrammed to contribute to kidney tissues // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. — 2005. — Vol. 102. — P. 3296–3300.
178. **Young H., Mancini M., Wright R.** et al. Mesenchymal stem cells reside within the connective tissues of many organs // Develop. Dyn. — 1995. — Vol. 202. — P. 137–144.
179. **Zamboni W.C.** Pharmacokinetics of pegfilgrastim // Pharmacotherapy. — 2003. — Vol. 23. — P. 9–14.
180. **Zhao R.C., Liao L., Han Q.** Mechanisms and perspectives on the mesenchymal stem cell in immunotherapy // J. Lab. Clin. Med. — 2004. — Vol. 143. — P. 284–291.
181. **Zhang J., Niu C., Ye L.** et al. Identification of the haematopoietic stem cells niche and control of the niche size // Nature. — 2003. — Vol. 425. — P. 836–841.
182. **Zhang M., Guo Z., Liu X.** et al. Development of methodology for isolation and culture of mesenchymal stem cells derived from mouse skeletal muscle // Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi. — 2003. — Vol. 11. — P. 538–541.
183. **Zuk P., Zhu M., Ashjian P.** et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells // Mol. Biol. Cell. — 2002. — Vol. 13. — P. 4279–4295.

Поступила 17.01.12

#### Сведения об авторе:

Дыгай Александр Михайлович — д-р мед. наук, проф., акад. РАМН, дир. ФГБУ НИИФ СО РАМН

© А.Д. Тараско, И.А. Ибатуллин, 2012  
УДК 617-089.578.16

А.Д. Тараско<sup>1</sup>, И.А. Ибатуллин<sup>2</sup>

## **Влияние вагосимпатической блокады на центральную гемолимфодинамику и региональную гемодинамику в малом круге кровообращения**

<sup>1</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Новокузнецкий государственный институт усовершенствования врачей», 654005, Новокузнецк, пр-т Строителей, 5  
<sup>2</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение дополнительного профессионального образования «Казанская государственная медицинская академия», 420012, Казань, ул. Муштари, 11

*В остром эксперименте на собаках изучены изменения, возникающие в центральной гемолимфодинамике, и региональной гемодинамике в малом круге кровообращения после выполнения новокаиновой вагосимпатической блокады (ВСБ). Наблюдение после блокады проводилось в течение 4 часов. Установлено отсутствие достоверных изменений системного артериального давления. При изучении изменений ударного индекса (УИ) и общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС) установлена возможность развития двух вариантов реакций: несколько чаще (в 60% случаев) возникает уменьшение УИ и повышение ОПСС, реже (в 40% случаев) — увеличение УИ и снижение ОПСС. Первый вариант обычно сопровождается увеличением объемной скорости лимфоистечения в течение 15–30 мин после ВСБ. В малом круге кровообращения по данным реопульмографии происходит уменьшение объемного кровотока в легких после ВСБ, уменьшение кровенаполнения легочной ткани, причем уменьшается и емкость венозного русла. Факт уменьшения кровенаполнения легких после ВСБ подтверждается гистологическим исследованием.*

**Ключевые слова:** вагосимпатическая блокада, центральная гемолимфодинамика, региональная гемодинамика, малый круг кровообращения

A.D. Tarasko<sup>1</sup>, I.A. Ibatullin<sup>2</sup>

## **Effect of vagosympathetic block on the central hemolymphodynamic and regional hemodynamic in lesser circulation**

<sup>1</sup> State Educational Institution of Further Vocational Education «Novokuznetsk State Institute of Postgraduate Medical», 5, Stroiteley str., Novokuznetsk, 654005, Russia  
<sup>2</sup> State Educational Institution of Further Vocational Education «Kazan State Medical Academy», 11, Mushtari str., Kazan, 420012, Russia

*Our experimental study was undertaken to determine the effect of bilateral novocaine vagosympathetic block (VSB) on central hemolymphodynamic and regional hemodynamic in lesser circulation. Follow-up period lasted for 4 hours. No statistically significant arterial pressure changes were detected. Studies of stroke index (SI) and general peripheral vascular resistance (GPVR) changes indentified the development of two responses: (1) a 60% SI decline and PVR increase were accompanied with elevation (mean 37%) of volumetric lymph flow rate within 15–30 min following VSB; (2) there was only a 40% SI elevation and GPVR decline. Rheopulmographic findings detected the reduction of volumetric pulmonary blood flow following VSB, and the decline of both pulmonary tissue-filling and venous bed capacity demonstrated by a significant fall of diastolic wave amplitude within 30 min following VSB. Histologic findings verified the reduction in pulmonary blood-filling following VSB.*

**Key words:** vagosympathetic block, central hemolymphodynamic, regional hemodynamic, lesser circulation

Вагосимпатическая блокада (ВСБ) была предложена в 1934 г. А.В. Вишневским для лечения и профилактики плевропульмонального шока [2]. С тех пор ВСБ наряду с другими региональными блокада-

ми широко используется во многих клинических дисциплинах [1, 3, 4]. Региональные блокады патогенетически обоснованы и доказана их клиническая эффективность. В то же время уже в 80-х годах XX века о региональных блокадах стали упоминать реже в связи с возникновением такой клинической дисциплины, как анестезиология и реаниматология, и появлением большого числа селективно действующих лекарственных препаратов [5]. Кроме того, у региональных

**Для корреспонденции:** Тараско Андрей Дмитриевич, д-р мед. наук, проф. каф. хирургии, урологии и эндоскопии ГОУ ДПО «Новокузнецкий ГИУВ» Минздравсоцразвития РФ.  
E-mail: anta19562008@yandex.ru

блокад есть недостаток — это инвазивные манипуляции и для их выполнения требуются асептические условия. Этим объясняется тот факт, что при создании методических рекомендаций и алгоритмов действия региональные блокады стали выпадать, несмотря на то, что они остаются непревзойденными методами неспецифической терапии целого ряда заболеваний и патологических состояний.

Суть методики ВСБ хорошо известна [2]. ВСБ приводит к изменению динамического равновесия между тонусом симпатической и парасимпатической системы, что влечет за собой более или менее выраженные изменения центральной и региональной гемодинамики, микроциркуляции, изменению функциональной активности эндокринного аппарата, способствует расслаблению гладкой мускулатуры бронхиального дерева, стимулирует пропульсивную активность желудочно-кишечного тракта и некоторые другие эффекты [3]. ВСБ увеличивает амплитуду медленных колебательных процессов в организме и в комплексе с другими методами терапии способна включать механизмы саногенеза.

Понятно, что такое воздействие не должно быть очень жестким, так как организм, подвергаемый лечению, находится в критическом состоянии (закрытая травма груди, травматический или ожоговый шок и т.д.).

*Цель работы* — оценка влияния ВСБ на центральную гемолимфодинамику и гемодинамику в малом круге кровообращения.

### Методика

Выполнено 32 острых эксперимента на 32 беспородных взрослых собаках обоего пола массой от 6 до 38 кг, преимущественно в дневное время периода. Под внутривенным барбитуровым наркозом (тиопентал-натрий, гексенал — 20—30 мг/кг в виде 1%-ного раствора) животных фиксировали на столе в положении на спине, интубировали трахею и производили:

1) введение канюли в грудной лимфатический проток (ГЛП) в области шеи для измерения объемной скорости лимфоистечения (ОСЛ);

2) катетеризацию яремной вены слева для измерения венозного давления в краниальной полой вене (ВДКрПВ, см вод. ст.);

3) через эту же вену в правое предсердие проводился катетер Шванн-Ганса для определения минутного объема крови [5], для чего использовали термодилутор фирмы «Midis»;

4) катетеризацию бедренной артерии и вены для измерения артериального давления мембранным ма-

нометром (АД, мм рт. ст.), и венозного давления в каудальной полой вене (ВДКдПВ, см. вод. ст.).

Ударный объем сердца определялся методом термодилуции с последующим расчетом ударного индекса (УИ) и общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС). В течение эксперимента подерживался неглубокий наркотический сон путем дополнительного внутривенного введения 1%-ного раствора барбитурата из расчета 20 мг/кг·час, при этом корнеальный и глоточные рефлексы сохранялись.

Гемодинамику в малом круге изучали методом биоплярной реопульмографии с использованием реографической приставки 4РГ-2М и регистратора «ЭЛКАР-4». Для анализа использовались следующие показатели: реографический индекс (РИ), амплитудно-частотный показатель (АЧП), диастолический индекс (ДИ, %), средняя скорость медленного наполнения ( $V_{ср.}$ , Ом/с).

Реакция лимфатической системы изучалась путем измерения объема лимфы при ее свободном истечении в градуированную пробирку за единицу времени. Объемную скорость лимфоистечения (ОСЛ) измеряли в литрах за минуту на килограмм массы (л/мин · кг).

Через 30 мин после предварительного вмешательства производили регистрацию исходных показателей. В группе животных ( $n=12$ ) показатели регистрировали каждый час в течение 4 ч (контрольная группа). В основной группе ( $n=20$ ) после регистрации исходных показателей выполнялась двусторонняя ВСБ путем паратрахеального введения 0,25% раствора новокаина из расчета 1 мл/кг, с последующей регистрацией показателей через 30 и 60 мин, 2, 3, 4 ч. Эксперимент заканчивали эвтаназией животного путем внутривенного введения 5 мл 2%-ного раствора дитилина или листенона. После прекращения сердечной деятельности производили вскрытие для оценки распространения раствора новокаина и забора органов (легких) для гистологического исследования. Перед забором органов сосудистая система инъецировалась 5%-ным раствором черной туши. Органы фиксировали в 12%-ном нейтральном растворе формалина. Парафиновые срезы окрашивали гематоксилин-эозином по общепринятой методике. Для изучения микроциркуляторного русла готовили срезы 50-100 мкм, которые просветляли и фиксировали на предметных стеклах. Препараты изучались на микроскопах МБС-9 и Биолом Р-11. На основе полученных показателей строили вариационные ряды, рассчитывали средние величины и среднюю ошибку. Сравнение показателей производили с исходными величинами. Достоверность различий средних показателей определялась при величине коэффициента достоверности ( $\rho$ ) по Стьюденту менее 0,05.

## Результаты и обсуждение

Анализ данных, полученных в результате эксперимента в контрольной группе, показал, что состояние наркоза и предварительное оперативное вмешательство не приводят к значительным и закономерным изменениям центральной гемодинамики и гемодинамики в малом круге кровообращения.

При гистологическом исследовании легких выявлены умеренные явления застоя и снижения пневматизации в нижних долях, инъецируемость микроциркуляторного русла удовлетворительная.

После выполнения двусторонней ВСБ АД как интегральный гомеостатический гемодинамический показатель в среднем не изменяется. У семи животных из 20 в течение 60 мин после ВСБ АД повышается на 5—10 мм рт. ст., у 10 животных — снижается в пределах 5—10 мм рт. ст., а у трех животных не изменяется. Ударный индекс определен в динамике у 20 собак. Статистически достоверных различий средних величин на этапах эксперимента не установлено. У 10 животных в течение 60 мин после ВСБ УИ снижается на 12—50%, у семи — увеличивается на 10—83%, у трех не изменяется. ОПСС также имеет разнонаправленные изменения: у 10 животных в течение первых 15 мин после ВСБ отмечается повышение ОПСС на 3—57%, в 6 случаях — снижение на 3—63%, в четырех случаях не изменяется. Через 30—60 мин сохраняются указанные тенденции с уменьшением степени отклонения от исходной величины. Давление в краниальной и каудальной полых венах в течение эксперимента закономерно не изменяются.

Объемная скорость лимфоистечения возрастает через 15—30 мин после ВСБ на 34—50%, но уже через 60 мин и в более поздние сроки она имеет тенденцию к снижению ниже исходной величины. Изменения показателей центральной гемодинамики после ВСБ отражены в таблице.

Корреляционный анализ показал наличие отрицательной корреляционной связи средней силы между

УИ↔ОСЛ в сроки от 15 до 30 мин после ВСБ ( $r=-0,51$ ,  $n=20$ ,  $p<0,01$ ), а также сильная положительная корреляционная связь между ОПСС↔ОСЛ ( $r=0,76$ ,  $n=20$ ,  $p<0,001$ ).

Для оценки регионального кровотока в малом круге кровообращения проведен анализ реопульмограмм, зарегистрированных в динамике после ВСБ у 16 собак. Результаты исследования показали, что наряду с определенной корреляцией показателей реограммы и показателей центральной гемодинамики, однозначного параллелизма не существует, что говорит об относительной автономности регионарного кровотока.

После ВСБ отмечается, как правило, снижение амплитуды систолической волны, и уменьшение реографического индекса в сроки от 15 мин до 4 ч после ВСБ, что указывает на уменьшение пульсового кровотока, являющееся следствием снижения ударного объема сердца или спазма артерий среднего калибра. В сроки от 15 мин до 4 ч после ВСБ реографический индекс в среднем составил 83—59% от исходной величины ( $p<0,05$ ).

В ряде случаев наблюдали двухфазную реакцию: через 15 мин после ВСБ отмечалось кратковременное увеличение РИ с последующим снижением. Через 60 мин после ВСБ появляется тенденция к повышению РИ, но исходных значений он обычно не достигает и остается сниженным до конца эксперимента. В единичных наблюдениях при гиперводемической реакции (увеличение УИ, снижение ОПСС) РИ заметно выше исходных значений в течение всего срока наблюдения. Как правило, отмечается уменьшение амплитуды диастолической волны, наиболее часто определяющееся через 30 мин после блокады.

В течение первых 30 мин после ВСБ отмечается статистически значимое увеличение средней скорости малого наполнения в среднем на 84% через 15 мин и 142% через 30 мин ( $p<0,05$ ). Это указывает на то, что ВСБ вызывает повышение тонуса крупных и средних артерий с увеличением скорости кровотока по артериям малого калибра. После ВСБ уменьшается амплитудно-частотный показатель, характеризую-

Таблица

Изменение показателей центральной гемодинамики под влиянием ВСБ

Параметры	Стат. показатели	До блокады	После ВСБ			
			Через 30 мин	Через 60 мин	Через 2 ч	Через 4 ч
АД, мм рт. ст.	$M \pm m$ (n)	152±4,3 (20)	150±8,6 (20)	149±8,6 (20)	148±7,5 (16)	142±7,5 (10)
УИ (мл/кг) в % к исходному	$M \pm m$ (n)	100 (20)	90,9±6,1 (20)	98,9±14,8 (20)	83,5±10,2 (16)	85,6±26,8 (10)
ОПСС в % к исходному	$M \pm m$ (n)	100 (20)	107±11,3 (20)	133±19,9 (20)	129±19,4 (16)	100±17,6 (10)
ВДКдПВ (мм вод. ст.)	$M \pm m$ (n)	69±6,4 (20)	82±11,8 (20)	84±10,7 (20)	85±9,6 (16)	78±13,9 (10)
ВДКрПВ (мм вод. ст.)	$M \pm m$ (n)	6,12±8,87 (20)	8,63±7,55 (20)	8,6±6,3 (20)	6,12±7,14 (16)	...
ОСЛ 10 <sup>-5</sup> л/кмин	$M \pm m$ (n)	3±0,2 (16)	4,5±0,2* (16)	2,8±0,2 (11)	2,7±0,3 (11)	2,5±0,2 (9)

Примечание. Звездочкой отмечены достоверные различия ( $p<0,05$ ) с показателями до блокады (число наблюдений)



щий объемный кровоток в единицу времени. Показатель существенно уменьшается (на 37%) на 30-й мин после ВСБ, с последующим увеличением. На других этапах различия показателя с исходным статистически недостоверны.

В отдельных случаях после ВСБ имеют место ярко выраженные признаки прекапиллярной легочной гипертензии: зазубренность анакроты, уплощение вершины систолической волны, высокое расположение инцизуры, горизонтальный ход кривой в диастоле. Ни в одном случае не выявлено признаков посткапиллярной гипертензии. Пресистолическая волна, если она имеет место, в динамике исчезает или значительно уменьшается.

Таким образом, после двусторонней ВСБ в эксперименте отмечаются следующие изменения РПГ:

1) частое уменьшение РИ говорит об уменьшении ударного объема правого сердца;

2) увеличение средней скорости медленного наполнения, что говорит об усилении циркуляции в функционирующих капиллярах на фоне уменьшения притока;

3) уменьшение амплитудно-частотного показателя.

Описанные изменения наиболее выражены в течение первых 60 мин после ВСБ, но в отдельных случаях отмечаются до 4 ч.

При гистологическом исследовании легких отмечается удовлетворительная пневматизация легочной ткани, на просветленных препаратах инъецирование микроциркуляторного русла фрагментарное, местами очень слабое или отсутствует.

Таким образом, в эксперименте после ВСБ можно наблюдать два вида реакции центральной гемодинамики: гиповолемическую (снижение УО и повышение ОПСС) и гиперволемическую (повышение УО и сни-

жение ОПСС). Чаще встречается первый вариант. При нем отмечается кратковременное лимфостимулирующее действие ВСБ. Величина интегрального гемодинамического показателя — АД имеет разнонаправленные незначительные колебания. По данным реопульмографии, происходит уменьшение объемного кровотока в легких после ВСБ. Как при снижении УО, так и при повышении тонуса ветвей легочной артерии, происходит уменьшение кровенаполнения легочной ткани, причем уменьшается и емкость венозного русла, на что указывает достоверное уменьшение амплитуды диастолической волны через 30 мин после ВСБ. Факт уменьшения кровенаполнения легких после ВСБ подтверждается гистологическим исследованием.

### Список литературы

1. Вагнер Е.А. Хирургия повреждений груди. — М., 1981. — 288 с.
2. Вишневский А.В. Местное обезболивание по методу ползучего инфильтрата. — Медгиз, 1956. — 351 с.
3. Ибатуллин И.А., Тараско А.Д., Фаизов Т.Т. и др. Регионарные блокады в хирургии: Руководство для врачей. — Казань: Медицина, 2003. — 336 с.
4. Пашук А.Ю. Регионарное обезболивание. — М., 1987. — 160 с.
5. Тараско А.Д. Реакция лимфатической системы в остром периоде тяжелой закрытой травмы груди (экспериментально-клиническое исследование): Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 1989. — 28 с.
6. Winter R.I. Use of the Swan-Ganz catheter // Surgery. — 1990. — Vol. 11. — P. 1999—2002.

Поступила 10.12.10

### Сведения об авторах:

Ибатуллин Ильгиз Абдуллович — д-р мед. наук, засл. деят. науки республики Татарстан, проф. каф. клинической анатомии и амбулаторной хирургии ГОУ ДПО КазГМА Минздравсоцразвития России

Н.А. Терёхина<sup>1</sup>, О.Г. Горячева<sup>1</sup>, Ю.А. Петрович<sup>2</sup>, С.Э. Реук<sup>1</sup>, М.А. Зубарев<sup>1</sup>

## **Исследование $\alpha_1$ -антитрипсина, орозомукоида и церулоплазмينا в крови и ротовой жидкости при инфаркте миокарда и пародонтите. Подтверждение роли пародонтита как фактора риска инфаркта миокарда**

<sup>1</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная медицинская академия им. акад. Е.А. Вагнера»

Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 614990, Пермь, ул. Петропавловская, 26

<sup>2</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет»

Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 127473, Москва, ул. Делегатская, 20, стр. 1

*Показано наличие связи патогенеза пародонтита и сердечно-сосудистых заболеваний, а определение содержания белков острой фазы воспаления в ротовой жидкости при инфаркте миокарда представляется важным для клиники неинвазивным методом диагностики. Результаты собственных исследований изменения содержания трех белков острой фазы воспаления: церулоплазмينا,  $\alpha_1$ -антитрипсина и орозомукоида в ротовой жидкости и плазме крови при пародонтите и инфаркте миокарда позволяют считать пародонтит ещё одним фактором риска сердечно-сосудистой патологии, кроме хорошо известных гипертонии, курения, сахарного диабета.*

**Ключевые слова:** белки острой фазы, инфаркт миокарда, ротовая жидкость, пародонтит, кровь

N.A. Terekhina<sup>1</sup>, O.G. Goryacheva<sup>1</sup>, Yu.A. Petrovich<sup>2</sup>, S.E. Reuk<sup>1</sup>, M.A. Zubarev<sup>1</sup>

## **The investigation of $\alpha_1$ -antitripsin, orozomukoid and ceruloplasmin in peripheral blood and oral fluid. Parodontitis is one of more risk factors of cardiovascular diseases**

<sup>1</sup> Vagner's Perm State Medical Academy, 26, Petropavlovskaya str., Perm, 614990, Russia

<sup>2</sup> Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20-1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russia

*This article presence the connection between parodontitis and cardiovascular diseases, and definition of the maintenance of acute phase proteins in an oral fluid at patients with acute myocardial infarction is obviously important for clinic. Results of own researches of change of the maintenance of three acute phase proteins: ceruloplasmin,  $\alpha_1$ -antitripsin and orosomucoid in an oral fluid and blood plasma at parodontitis and myocardial infarction allow to consider the parodontitis as one more risk factor of a cardiovascular pathology, except well-known hypertension, smoking, a diabetes.*

**Key words:** acute phase proteins, myocardial infarction, oral fluid, parodontitis, blood

Сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ), несмотря на современные технологии диагностики и лечения, продолжают лидировать по распространенности, инвалидизации и смертности населения. Острый инфаркт миокарда (ИМ) занимает печально лидирующее положение среди всех летальных исходов, обусловленных кардиологической патологией. Количество факторов риска

развития ИМ все возрастает. Факторы риска ССЗ приводят к эндотелиальной дисфункции и инициируют воспалительную реакцию. Определение содержания белков острой фазы (БОФ) воспаления в плазме крови используют в диагностике, оценке эффективности терапии, прогнозировании коронарных катастроф и в качестве маркеров факторов риска [1, 3, 4, 5].

В исследованиях последних лет к факторам риска развития сердечно-сосудистых заболеваний относят пародонтит [8, 9, 14, 15]. Показано, что у больных ИМ показатели липидного спектра и результаты обследования полости рта были значительно хуже. Выявлена тес-

**Для корреспонденции:** Терёхина Наталья Александровна, д-р мед. наук., зав. каф. биохимии ГБОУ ВПО ПГМА им. акад. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России. E-mail: terekhina@list.ru

ная взаимосвязь между рентгенологически идентифицированными периодонтальными повреждениями и развитием атеросклероза коронарных сосудов.

**Цель исследования** — сравнение изменений содержания БОФ воспаления в ротовой жидкости (РЖ) и плазме крови больных ИМ и больных с хроническим генерализованным пародонтитом для подтверждения роли пародонтита как фактора риска ИМ.

### Методика

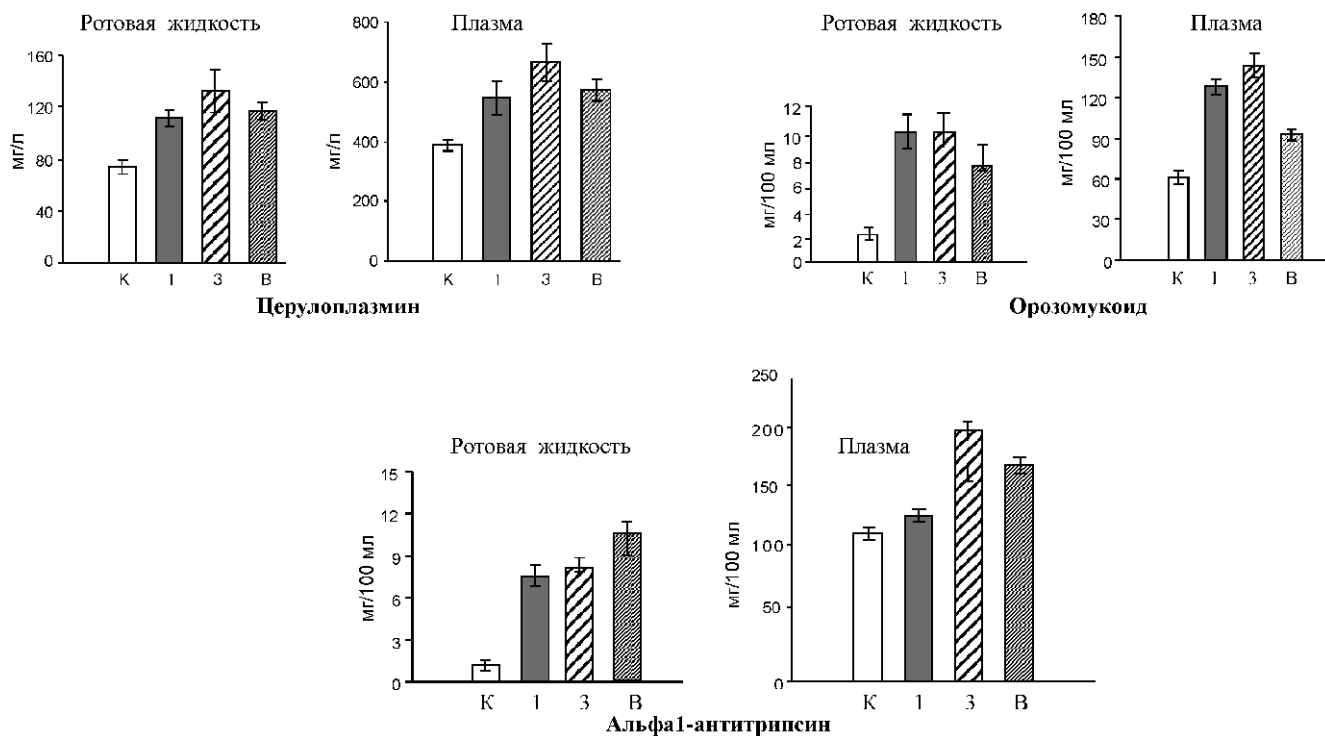
Уровень трех БОФ воспаления: кислого  $\alpha_1$ -гликопротеина (орозомукоида),  $\alpha_1$ -антитрипсина и церулоплазмينا исследовали в плазме крови и РЖ 59 больных крупноочаговым ИМ в динамике на первые, третьи, 14-е — 16-е сутки заболевания и у 10 пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом (ХГП). РЖ собирали после ополаскивания полости рта водой утром до еды, затем 10 мин центрифугировали при 3000 об./мин. Уровень орозомукоида и  $\alpha_1$ -антитрипсина в надосадочной жидкости определяли турбидиметрическим методом иммунохимического анализа [10]. Содержание церулоплазмينا определяли по методу [2]. Принцип метода основан на окислении пара-фенилендиамина при участии церулоплазмينا. Ферментативную реакцию останавливали добавлением фтористого натрия и по оптической плотности образующихся продуктов судили о концентрации церулоплаз-

мина. Контролем служила плазма крови и РЖ 36 практически здоровых людей. Возраст здоровых испытуемых, больных ИМ и больных пародонтитом находился в пределах 40—70 лет. Материалы обработаны статистически.

### Результаты и обсуждение

У здоровых людей содержание церулоплазмينا в 5 раз, орозомукоида в 18 раз,  $\alpha_1$ -антитрипсина почти в 100 раз выше в плазме крови, чем в РЖ (рис.1). В РЖ при ХГП содержание церулоплазмينا и орозомукоида достоверно увеличивается до  $105,7 \pm 6,6$  мг/л ( $p < 0,001$ ) и  $5,2 \pm 0,75$  мг/дл ( $p < 0,05$ ) соответственно по сравнению с контролем:  $74,1 \pm 5,7$  мг/л и  $3,42 \pm 0,50$  мг/дл. Уровень  $\alpha_1$ -антитрипсина обнаруживает тенденцию к снижению  $0,54 \pm 0,24$  мг/дл по сравнению с контролем  $1,22 \pm 0,36$  мг/дл ( $p > 0,05$ ), что может способствовать повышению активности агрессивных протеиназ в очаге воспаления и поддержанию хронического воспаления тканей пародонта.

Мы впервые сопоставили характер клинического течения ИМ с уровнем маркеров воспаления БОФ в РЖ и плазме [5], учитывая, что изменения биохимических параметров РЖ могут преимущественно отражать морфологические и функциональные нарушения пародонта при пародонтите, а биохимические нарушения в плазме крови связаны с нарушениями при ИМ.



Содержание церулоплазмينا, орозомукоида и альфа1-антитрипсина в плазме крови и ротовой жидкости больных инфарктом миокарда. По оси абсцисс: К — контроль; 1 — первые сутки заболевания; 3 — третьи сутки заболевания; В — время выписки из стационара

Так, в первые сутки ИМ содержание церулоплазмينا увеличено в 1,5 раза в плазме и РЖ по сравнению с уровнем у здоровых людей (рисунок). На третьи сутки уровень церулоплазмينا в плазме крови и РЖ возрастал ещё больше. К моменту выписки больного из стационара на 14-е — 16-е сутки после перенесенного ИМ он сохранялся повышенным у 60% пациентов. На основе анализов церулоплазмينا разработан патент РФ неинвазивного способа диагностики окончания острого воспаления в зоне некроза при ИМ [5]. По патенту при содержании в РЖ церулоплазмينا ниже 106 мг/л диагностируют завершённость острого воспаления в зоне некроза. Способ можно использовать при оценке рубцевания в зоне некроза в подостром периоде ИМ, что подтверждено данными ЭКГ при выписке пациента из стационара. Повышенное содержание церулоплазмينا в РЖ свидетельствует о незавершенности острой фазы воспаления в зоне некроза в подострую стадию ИМ. Эти данные следует учитывать при уточнении времени выписки пациента из лечебного учреждения.

В плазме крови и РЖ при ИМ содержание орозукоида достоверно увеличено в 2,0—2,5 раза и не нормализуется к моменту выписки больного из стационара (рисунок).

На первые сутки ИМ содержание  $\alpha_1$ -антитрипсина в плазме крови достоверно не отличается от значений здоровых лиц. На третьи сутки ИМ содержание этого белка в 1,5 раза выше, чем через сутки, на 14-е — 16-е сутки в 1,5 раза выше контроля. В РЖ уровень  $\alpha_1$ -антитрипсина в острый период ИМ увеличен в 6—7 раз, при выписке больного почти в 10 раз превышает уровень контроля. В РЖ рост данных показателей по отношению к контролю в несколько раз выше, чем в крови.

Таким образом, развитие ИМ приводит к системной и локальной воспалительной реакции, в результате чего концентрация БОФ изменяется как в плазме крови, так и в РЖ, причём их амплитуда и характер в определённой степени зависят от выраженности заболевания, размеров зоны инфаркта. Резкое изменение содержания БОФ в РЖ в остром периоде ИМ может быть использовано в качестве дополнительного критерия острого коронарного события.

Здесь уместно упомянуть, что неинвазивное получение РЖ безболезненно, атравматично в любом возрасте, методы анализа БОФ надёжны, доступны рядовым клинико-биохимическим лабораториям. Особую ценность анализ РЖ представляет при многократных повторных определениях у больного в динамике заболеваний. Исследование РЖ важно не только в теоретическом плане. Оно имеет диагностическое и прогностическое значение. Важно, что рост уровня

БОФ в РЖ может быть маркером нарушений стоматологического и общемедицинского профиля, а также предвестником возможных коронарных катастроф.

Переходя к обсуждению значений обнаруженных изменений, отметим, что во многих работах, опубликованных в последние годы, высказывается мнение о ХГП как факторе риска ССЗ. При пародонтите возникает системное воспаление, дисфункция эндотелия, имеется патогенетическая взаимосвязь с атеросклерозом, в результате чего повышается риск ССЗ [15]. Применяя мета-анализ, нашли, что заболевания, связанные с хроническими инфекциями, в их числе пародонтит, являются факторами риска инсульта, как и давно известные факторы риска инсульта гипертония, сахарный диабет, гиперхолестеринемия и фибрилляция предсердий [13]. Аналогичны результаты наблюдений, согласно которым пародонтит является фактором риска ИМ и других ССЗ [8, 9, 14]. Метаболический синдром, высокая гиперхолестеринемия и окислительный стресс с накоплением продуктов перекисного окисления липидов, способствуют возникновению пародонтита и ССЗ [7]. Основываясь на плетизмографическом определении отношения скорости кровотока к эндотелиальнонезависимому вазодилататору ацетилхолину и к эндотелиальнонезависимому вазодилататору нитропруссиду натрия у 48 пациентов с пародонтитом и 53 лиц без пародонтита, а также на повышении содержания интерлейкина-6 и циркулирующего С-реактивного белка, авторы заключили, что пародонтит ассоциирован с фактором риска патологии коронарных артерий сердца [11]. Этим представлениям соответствуют материалы, подтверждающие, что в основе пародонтита как фактора риска ишемической болезни сердца и вызываемых им ССЗ, лежат механизмы развития воспаления, нарушения гемостаза и дисметаболизма липидов, генерируемые бактериями и их эндотоксинами [12]. Подтверждено, что у больных ХГП достоверно выше риск возникновения ССЗ, чем у людей без пародонтита [6]. К такому выводу авторы пришли, проанализировав 29 публикаций разных авторов, исследовавших ИМ, болезни коронарных артерий и летальные исходы ССЗ.

Можно выделить два основных механизма, определяющих значение ХГП как факторов риска ССЗ: бактериальный и атеросклеротический. Особо важна роль пародонтальных патогенов *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Treponema denticola* и других граммотрицательных бактерий и их эндотоксинов. После поступления в ток крови они инфицируют эндотелий сосудов и атеросклеротические бляшки сосудов, способствуют ишемии миокарда, увеличивают синтез агрессивных БОФ воспаления. Взаимодействуя с тканями пародонта, микробы и их эндотоксины повышают выделение цитокинов, провоспалительных интерлейкинов, фактора некроза опухоли, вызывающих гиперемии, нарушающих метабо-

лизм, проницаемость сосудов, антиоксидантную защиту, характерные для воспаления, снижают иммунный ответ организма на микробный антиген. Все это создает условия для развития ССЗ и убеждает, что кроме классических факторов риска ИМ (гипертонии, курения, сахарного диабета), пародонтит занимает существенное место в ряду факторов риска ИМ, а определение БОФ воспаления в РЖ и крови позволяет оценить степень риска. Полноценная профилактика и терапия пародонтита могут снизить количество, либо смягчить выраженность ИМ и других кардиологических катастроф.

### Список литературы

1. **Богова О.Т., Чукаева И.И.** Инфаркт миокарда. Воспаление и прогноз // Росс. кардиологический журнал. — 2003. — №4. — С. 95–97.
2. **Камышиников В.С.** Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник: В 2 т. Т. 2. 2-е изд.-е. — Минск: Интерпрессервис, 2003. — 463 с.
3. **Ким Л. Б., Калмыкова Е.Ю.** Диагностическое и прогностическое значение сывороточного церулоплазмينا // Клин. лаб. диагностика. — 2006. — №5. — С. 13–18.
4. **Терёхина Н.А., Горячева О.Г., Зубарев М.А.** Прогностическое значение параметров антиоксидантной защиты при инфаркте миокарда // Клин. лаб. диагностика. — 2007. — №9. — С. 48.
5. **Терёхина Н.А., Зубарев М.А., Горячева О.Г., Реук С.Э.** Способ диагностики окончания процесса острого воспаления в зоне некроза при инфаркте миокарда // Патент на изобретение №2362998 Зарегистрирован 27 июля 2009 г.
6. **Blaizot A., Vergnes J.N., Nuwwareh S.** et al. Periodontal diseases and cardiovascular events: meta-analysis of observational studies // *Int. dent. j.* — 2009. — Vol. 59, №4. — P. 197–209.
7. **Bullon P., Morillo J.M., Ramirez-Tortosa M.C.** et al. Metabolic syndrome and periodontitis: is oxidative stress a common link? // *J. dent. res.* — 2009. — Vol. 88, №6. — P. 503–518.
8. **Cronin A.** Periodontal disease is a risk marker for coronary heart disease? // *Evid. based dent.* — 2009. — Vol. 10, №1. — P. 22.
9. **Cueto A., Mesa F., Bravo M.** et al. Periodontitis as risk factor for acute myocardial infarction. A case control study of Spanish adults // *J. Periodontal Res.* — 2005. — Vol. 40, №1. — P. 36–42.
10. **Dati F., Schumann G., Thomas L.** Consensus of a group of professional societies and diagnostic companies on guidelines for interim reference ranges for 14 proteins in serum based on the standardization against the IFCC/BCR/CAP Reference Material (CRM 470) // *Eur. j. clin. chem. clin. biochem.* — 1996. — Vol. 34. — №6. — P. 517–520.
11. **Higashi Y., Goto C., Hidaka T.** et al. Oral infection-inflammatory pathway, periodontitis, is a risk factor for endothelial dysfunction in patients with coronary artery disease // *Atherosclerosis.* — 2009. — Vol. 206, №2. — P. 604–610.
12. **Luis-Delgado O., Echevarria-Garcia J.J., Berini-Ayres L., Gay-Escoda C.** Periodontitis as a risk factor in patients with ischemic heart disease // *Med. oral.* — 2004. — Vol. 9, №2. — P. 131–137, 125–131.
13. **Palm F., Urbanek C., Girau A.** Infection, its treatment and the risk for stroke // *Curr. vascul. pharmacol.* — 2009. — Vol. 7, №2. — P. 146–152.
14. **Persson G.R., Persson R.E.** Cardiovascular disease and periodontitis: an update on the associations and risk // *J. Clin. Periodontol.* — 2008. — Vol. 35. — Suppl. 8. — P. 362–379.
15. **Tonetti M.S.** Periodontitis and risk for atherosclerosis: an update on intervention trials // *J. Clin. Periodontol.* — 2009. — Vol. 36. — P. 15–19.

Поступила 29.01.12

### Сведения об авторах:

**Горячева Ольга Георгиевна** — аспирант каф. пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО ПГМА им. акад. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России

**Петрович Юрий Александрович** — д-р мед. наук, засл. деят. науки РФ, проф. ГБОУ ВПО МГМСУ Минздравсоцразвития России

**Реук Светлана Эльмировна** — канд. мед. наук, доцент каф. биохимии ГБОУ ВПО ПГМА им. акад. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России

**Зубарев Михаил Анатольевич** — д-р мед. наук, проф. каф. пропедевтики внутренних болезней ГБОУ ВПО ПГМА им. акад. Е.А. Вагнера Минздравсоцразвития России

Н.Б. Свиридкина<sup>1</sup>, Ф.М. Шакова<sup>1</sup>, С.В. Комиссарова<sup>1</sup>,  
И.П. Дубровин<sup>1</sup>, С.А. Турыгина<sup>2</sup>, Г.А. Романова<sup>1</sup>, В.М. Баранов<sup>1</sup>

## ***Морфофункциональное исследование действия антиортостатической гипокинезии при очаговом ишемическом повреждении коры головного мозга***

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования

«Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова»

Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 117997, Москва, ул. Островитянова, 1

*При моделировании эффектов антиортостатической гипокинезии (АНОГ) в различных комбинациях с фототромбозом префронтальной зоны коры головного мозга крыс исследованы количественные показатели сохранения условного рефлекса пассивного избегания и регенеративного процесса в коре — слияния нервных клеток, образования дикарионов. Полученные данные позволяют предполагать, что антиортостатическая гипокинезия (АНОГ) усугубляет течение ишемии и снижает уровень регенерации в коре.*

**Ключевые слова:** антиортостатическая гипокинезия, фототромбоз, кора головного мозга, регенеративный процесс, дикарион

N.B. Sviridkina<sup>1</sup>, F.M. Shakova<sup>1</sup>, S.V. Komissarova<sup>1</sup>,  
I.P. Dubrovin<sup>1</sup>, S.A. Turigina<sup>2</sup>, G.A. Romanova<sup>1</sup>, V.M. Baranov<sup>1</sup>

## ***Morphofunctional study of antiortostatic hipokinesia action in the case of focal ischemic brain cortex damage***

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, 8, Baltiyskaya str., 125315, Moscow, Russia

<sup>2</sup> The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, 1, Ostrovityanova street, Moscow, 117997

*It was investigated the influence of antiortostatic hipokinesia (ANOG) with different combinations with photothrombosis of prefrontal cortex of rat brain by quantitative measures of passive avoidance reflex and reparative processes on the creation of dikaryons in cortex. Recieved data let to suppose, that ANOG increase ischemic damages and decrease quantity of dikaryons in cortex.*

**Key words:** antiortostatic hipokinesia, photothrombosis, cortex of brain, reparative process, dikaryon

Фрагментарность знаний о влиянии невесомости на ЦНС млекопитающих объясняет интерес исследователей к проведению экспериментов на моделях, в частности, в условиях антиортостатической гипокинезии (АНОГ). АНОГ моделирует такие эффекты невесомости как перераспределение жидких сред с повышением гидростатического давления в голове, разгрузку задних и частично передних конечностей.

В нашем предыдущем исследовании было показано, что 14-суточная АНОГ под углом 30° является сильным экстремальным фактором для крыс, способным

вызвать как снижение когнитивных функций, так и замедление темпа физиологической регенерации нейронов [6]. Когнитивные расстройства, выражающиеся в нарушениях памяти, способности к обучению и анализу ситуации, затруднениях принятия решений, часто являются следствием хронической цереброваскулярной недостаточности, инсульта, что может происходить и в условиях невесомости. В связи со сказанным представляло интерес изучить влияние АНОГ на когнитивные и регенеративные процессы при создании ишемического очага в префронтальной коре головного мозга, т.е. на модели когнитивного дефицита.

Ранее мы нами показано, что в ходе нормального постнатального онтогенеза региональные клетки мозга:

**Для корреспонденции:** Свиридкина Надежда Борисовна, канд. биол. наук, зав. клиникой подопытных животных ФГБУ «НИИОПП» РАМН. E-mail: lrrp@mail.ru

олигодендрциты и нейроны сливаются между собой и образуют двуядерные гетерокарионы [2—4]. В гетерокарионе ядро олигодендрцита подвергается репрограммированию в нейрональном направлении и в результате гетерокарион превращается в клетку с двумя одинаковыми нейрональными ядрами — дикарион [4]. Появление второго ядра повышает функциональные возможности клетки [4, 7—9]. Этот факт указывает на то, что путем слияний может осуществляться регенерация нейронов коры. Роль слияний в физиологической и репаративной регенерации была установлена исследованиями, показавшими увеличение числа слияний при старении животных и при постинсультном восстановлении мозга [3, 4]. Феномен слияния региональных клеток мозга рассматривается как один из механизмов регенерации ЦНС.

*Цель работы* — морфофункциональное исследование влияния АНОГ на когнитивные и репаративные процессы в условиях очагового ишемического повреждения (фототромбоз — ФТ) префронтальной коры головного мозга крыс.

### Методика

У нелинейных крыс-самцов, массой в начале эксперимента 230—240 г, вырабатывали условный рефлекс пассивного избегания (УРПИ) по методике [1]. В исследование отбирали животных с выработанным УРПИ, т.е. тех, у которых латентный период (ЛП) перехода из светлого отсека камеры в темный составлял не менее 300 с. Проверку сохранения УРПИ по показателю ЛП производили до операции ФТ и по окончании эксперимента.

Для создания АНОГ животных одевали в специальные костюмы и подвешивали в сконструированных для таких экспериментов клетках головой вниз под углом 30°. Угол между плоскостью пола и позвоночным столбом животного измерялся при помощи транспортира. Костюмы были сшиты из плотной синтетической ткани с отверстиями для передних и задних лап; в области спины в ткань костюма вшивали металлические пластины, которые обеспечивали прямое положение позвоночного столба и исключали прогибание спины животного во время эксперимента. Стенки клетки были выполнены из органического стекла, пол — сетчатый. Подвеска на блоке и карабин позволяли животному беспрепятственно перемещаться по клетке, иметь свободный круглосуточный доступ к корму и воде. Поскольку задние конечности крысы не имели контакта с полом, животное передвигалось при помощи передних лап.

Двусторонний фокальный ишемический инфаркт префронтальной коры головного мозга крыс (поля F1 и F2 согласно атласу Paxinos and Watson, 1986) создавали методом фотоиндуцируемого тромбоза (ФТ) [10]. Животных наркотизировали хлоралгидратом (300 мг/кг, в/б). Фотосенсибилизируемый краситель

бенгальский розовый (Sigma Chem.Co.) вводили в яремную вену (3% раствор, 40 мг/кг). Голову животных фиксировали в стереотаксисе (фирма Medicor, Hungary) и после продольного разреза кожи удаляли надкостницу. Световод (диаметр светового пучка на выходе 3 мм) устанавливали на расстоянии 1 мм от поверхности черепа по координатам: 2,0 мм роstralнее брегмы и 2,0 мм латеральнее сагитального шва. Облучение холодным светом (источник — ксеноновая лампа 25 В, 250 Вт) проводили в течение 15 мин с каждой стороны. Температуру тела животных поддерживали в диапазоне 36,8°C до 37,6°C.

Для морфологического исследования под эфирным наркозом производили транскардиальную перфузию мозга 2,5%-ным раствором глутаральдегида. Мозг погружали на сутки в тот же фиксирующий раствор, затем вырезали кусочки (1 мм<sup>3</sup>) префронтальной коры так, чтобы, видимая невооруженным глазом, область некроза не попадала в анализируемые образцы. Образцы коры заливали в эпоксидную смолу по общепринятой методике приготовления электронно-микроскопических препаратов. Количество двуядерных нейронов (дикарионов) и площадь анализируемого среза подсчитывали в полутонких (1 мкм) срезах при помощи светового микроскопа BX51 Olympus, снабженного фотокамерой Color View II для регистрации полученных изображений, и программой компьютерного анализа Cell F. Определенную компьютером площадь среза делили на число найденных в нем дикарионов, т.е. устанавливали среднюю площадь (мкм<sup>2</sup>) на 1 дикарион, при этом меньшая площадь свидетельствует о более активном процессе регенерации [4]. Этот показатель использовали для установления плотности расположения слившихся клеток у подопытных и контрольных животных, т.е. могли сравнивать интенсивность процесса регенерации в опыте и контроле.

Интактных обученных крыс (n=9) содержали в обычных условиях вивария до проверки сохранения рефлекса через 9 сут. после выработки УРПИ, затем животных декапитировали и извлекали головной мозг для морфологического анализа (1-я группа, пассивный контроль).

Животных 2-й группы (n=5) после ФТ префронтальной зоны коры вывешивали на 7 сут. Затем их снимали, содержали в обычных условиях вивария 2 сут., проверяли степень сохранения УРПИ и готовили для морфологического исследования.

Животных 3-й группы (n=11) сначала вывешивали на 7 сут., затем снимали и в этот же день оперировали, создавая очаг ФТ в префронтальной коре, а после выхода животных из наркоза вывешивали их еще на 7 суток при тех же условиях. Через неделю крыс снимали и содержали в обычных условиях вивария 2 сут. Дальнейшие действия были аналогичны второй группе.

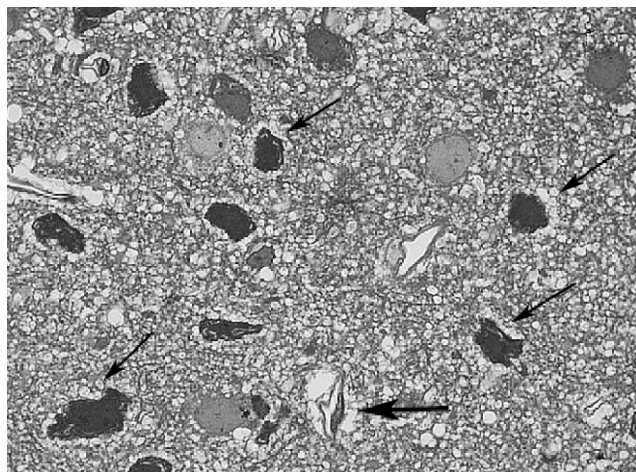


Рис. 1. Кора животного из первой группы: гиперхромные нейроны (тонкие стрелки), вакуолизация нейропиля, толстой стрелкой указан сосуд с резким периваскулярным отеком, ув. 1000

Животных 4-й группы (n=8) после ФТ коры содержали в обычных условиях вивария 9 сут. до проверки сохранения УРПИ и забоя для морфологических исследований мозга (активный контроль).

Все манипуляции с животными производили в соответствии с требованиями Совета Европейского сообщества 86/609/ЕЕС об использовании животных для экспериментальных исследований.

### Результаты и обсуждение

Исследование влияния АНОГ на когнитивные и репаративные процессы в ишемизированном мозге проводили, применяя это воздействие в различных комбина-

циях с ФТ префронтальной коры головного мозга крыс. Ранее в наших работах было неоднократно показано, что инсульт в префронтальной коре сопровождается стойкой утратой выработанных до операции поведенческих навыков [5]. Такая модель когнитивного дефицита адекватна для объективной оценки влияния как на когнитивные функции ЦНС, так и на процессы регенерации, происходящие после повреждения соответствующей области коры.

Результаты эксперимента по исследованию когнитивных функций при действии АНОГ в условиях ишемического повреждения префронтальной коры головного мозга крыс представлены на рис. 1.

Полученные данные позволяют заключить, что АНОГ, примененная до и после ФТ префронтальной коры, не оказывает влияния на сохранение памятного следа, достоверно сниженного ишемическим повреждением коры. Снижение ЛП УРПИ после создания двустороннего ишемического очага в когнитивной корковой зоне головного мозга крыс остается на прежнем уровне (см. рис. 1)

В префронтальной коре интактных животных 1-й группы не было обнаружено никаких структурных изменений, был проведен подсчет дикарионов на среднюю площадь среза — плотность слияний равна  $167\ 532\ \text{мкм}^2$ .

Во 2-й группе встречалось большое количество гиперхромных нейронов (признак гипоксии), была резко выражена вакуолизация нейропиля. Просвет многих сосудов был расширен, отмечались явления выраженного периваскулярного отека и отек эндотелиоцитов (рис. 2).

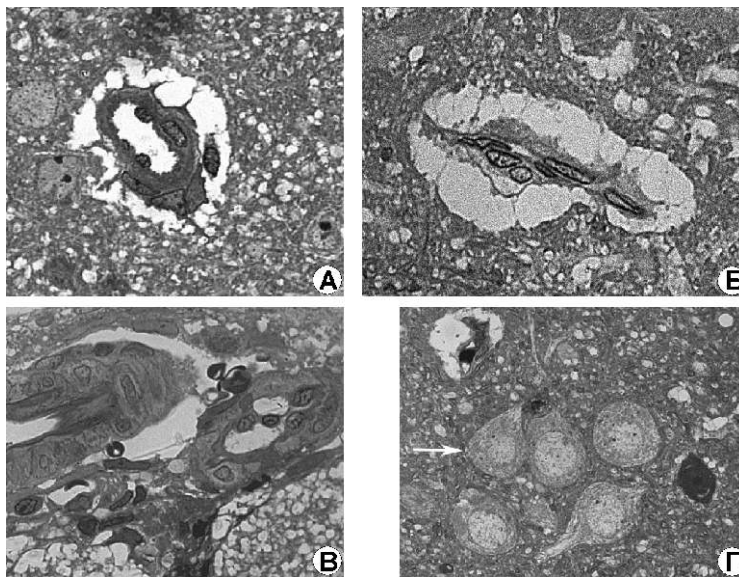


Рис. 2. Кора животного второй группы:

А — периваскулярный отек и отек эндотелиоцитов; Б — резкое сужение, почти полное сжатие, сосуда; по-видимому, сдавливание сильным периваскулярным отеком; В — отек эндотелия, вакуолизация нейропиля; Г — дикарион указан стрелкой и гиперхромный нейрон, ув. 1000



В 3-й группе наблюдались как расширенные (рис. 3А), так и сужение сосуды (рис. 3Б), но всегда отмечался периваскулярный отек и довольно часто отек эндотелиоцитов (рис. 3А, В). Нейропил был вакуолизирован, встречались дикарионы (рис. 3Г). Вместе с тем, деструктивные изменения не были столь значительными, как у животных 2-й группы.

В 4-й группе деструктивные изменения в коре были выражены заметно слабее, чем во 2-й и 3-й группах. Периваскулярные отеки встречались реже, и во многих сосудах признаки отека отсутствовали. Занимаемое отечной жидкостью пространство часто содержало клеточные тела (рис. 4В). Число и размер вакуолей в нейропиле было существенно меньше (рис. 4). Гиперхромные нейроны не встречались. Интересно отметить, увеличение числа дикарионов в мозге животных четвертой группы (рис. 4А, Б).

Сравнение результатов плотности слияний подтверждает морфологическую картину. В образцах мозга крыс 4-й группы плотность слияний ( $173\ 461\ \text{мкм}^2$ ) значительно превышает таковую во второй ( $455\ 236\ \text{мкм}^2$ ) и третьей ( $309\ 433\ \text{мкм}^2$ ) группах. Это обстоятельство подтверждается и тем фактом, что в материале животных 4-й группы не обнаружено ни одного среза (их величина не более  $1\ \text{мм}^2$ ) не содержащего дикарионов. В материале от крыс 2-й и 3-й групп такие срезы встречались.

По результатам эксперимента можно сделать заключение о неблагоприятном влиянии АНОГ на процессы регенерации мозга после ФТ. Исследуемая модель позволяет объективно оценить влияние АНОГ, и различных внешних воздействий на животных во время моделирования невесомости.

### Список литературы

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. Р. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. — М.: Высш. шк., 1991. — С. 399.
2. Константинова Н.Б., Шакова Ф.М. Морфологическое изучение регенерации префронтальной (когнитивной) зоны коры головного мозга крыс // Вестник РАМН. — 2008. — Приложение №6. — С. 209—210.
3. Пальцын А.А., Колокольчикова Е.Г., Константинова Н.Б., Романова Г.А. и др. Образование гетерокарионов как способ регенерации нейронов при постшемическом повреждении коры мозга крыс // Бюлл. Эксперим. Биол. и Мед. — 2008. — №8. — С. 467—470.
4. Пальцын А.А., Константинова Н.Б., Романова Г.А. и др. Роль слияния клеток в физиологической и репаративной регенерации коры головного мозга // Бюлл. Эксперим. Биол. и Мед. — 2009. — №11. — С. 580—583.
5. Романова Г.А. Дизрегуляционные нарушения интегративной деятельности мозга при фокальной ишемии коры // Дизрегуляционная патология. — М.: Медицина, 2002. — С. 605—615.

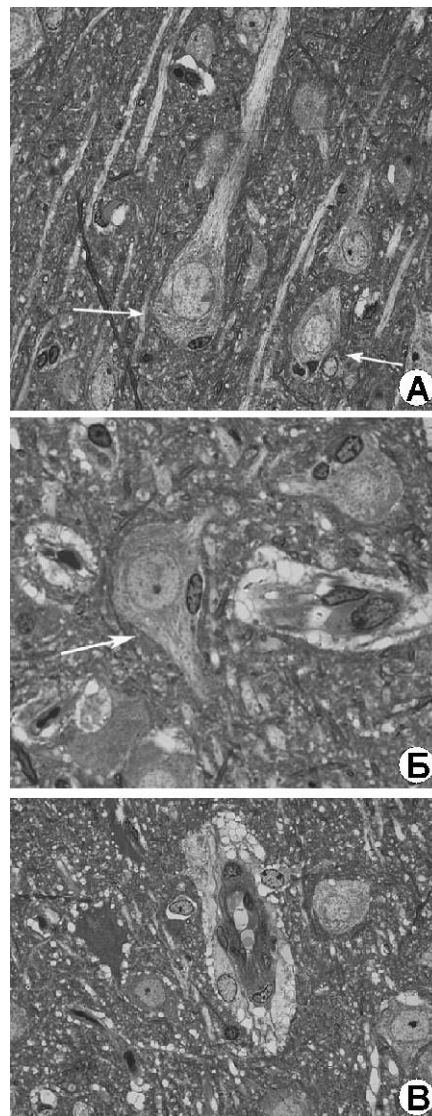


Рис. 3. Кора животного третьей группы: А — слабо выраженная вакуолизация нейропиля, слияние клеток, гетерокарионы нейрон-олигодендроцит (один с массивным дендритом) указаны стрелками; Б — сосуды отечны, вакуолизация нейропиля значительно меньше, чем в первых двух группах. В центре гетерокарион, указан стрелкой; В — периваскулярный отек с меньшей степенью деструкции отечной ткани, чем в группах 1 и 2, ув. 1000

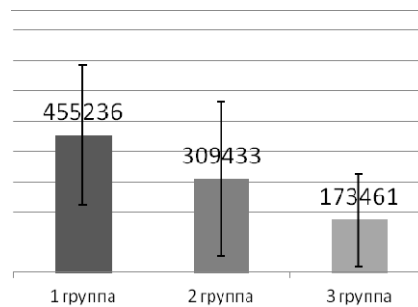


Рис. 4. Средняя площадь срезов (мкм<sup>2</sup>), на которой встречалось одно слияние

6. *Романова Г.А., Пальцын А.А., Шакова Ф.М., Константинова Н.Б., Баранов М.В., Баранов В.М.* Структурные и функциональные особенности префронтальной коры мозга крыс после 14 — суточной антиортостатической гипокинезии // Авиакосмическая и экологическая медицина. — 2011. — №3. — С. 39—43.

7. *Gregory T.R., Hebert P.D.* The modulation of DNA content: proximate causes and ultimate consequences // Genome Res. — 1999. — Vol. 9, №4. — P. 317—324.

8. *Gregory T.R.* Coincidence, coevolution, or causation? DNA content, cell size, and the C-value enigma // Biol. Rev. Camb. Philos. Soc. — 2001. — Vol. 76, №1. — P. 65—101.

9. *Kubatiev A.A., Palcyn A.A., Konstantinova N.B.* et al. Cell Fusion and reprogramming nuclei — mechanism of regeneration of brain cortex // 6<sup>th</sup> International Congress of Pathophysiology in Montreal. — 2010. — P. 87.

10. *Watson B.D., Dietrich W.D., Busto R.* et al. Induction of reproducible brain infarction by photochemically initiated thrombosis // Ann. Neurol. — 1985. — Vol. 17. — P. 497—504.

Поступила 16.02.12

#### Сведения об авторах:

*Шакова Фатимат Мухамедовна* — канд. мед. наук, с.н.с. лаб. ишемических повреждений мозга ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Комиссарова Светлана Владимировна* — младш. науч. сотр. лаб. регуляции репаративных процессов ФГБУ «НИИОПП» РАМН;

*Дубровин Иван Петрович* — младш. науч. сотр. лаб. регуляции репаративных процессов ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Турыгина Светлана Анатольевна* — канд. биол. наук, доцент кафедры гистологии и эмбриологии ГБОУ ВПО РНИМУ им. Н.И.Пирогова Минздравсоцразвития России

*Романова Галина Александровна* — д-р биол. наук, проф., зав. лаб. ишемических повреждений мозга ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Баранов Виктор Михайлович* — д-р мед. наук, акад. РАМН, зав. лаб. физиологических проблем невесо-  
сти ФГБУ «НИИОПП» РАМН

Л.П. Кобозева, Е.Д. Клименко, А.Б. Мичунская, О.М. Поздняков

## **Коррекция тироксином нарушений липидного обмена и расстройств микроциркуляции на ранних стадиях атерогенеза**

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

*Показано, что тироксин (Т4) тормозит развитие нарушений липидного обмена и экспериментального атеросклероза у кроликов (модель Н.Н.Аничкова). Изучение гипоталамо-гипофизарной системы, щитовидной железы и микроциркуляторного русла при этом также выявило благоприятный эффект тироксина на их морфофункциональное состояние. Таким образом, показана роль нарушений нейроэндокринной регуляции и микроциркуляции в атерогенезе.*

**Ключевые слова:** экспериментальный атеросклероз, тироксин, щитовидная железа, гипоталамо-гипофизарная система, микроциркуляция

L.P. Kobozeva, E.D. Klimenko, A.B. Michunskaya, O.M. Pozdnyakov

## **The correction of lipid metabolism and microcirculation disturbances in early atherogenesis stages by thyroxine**

The Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

*Thyroxine (T4) inhibits the development of lipid metabolism disorders and experimental atherosclerosis in rabbits (model N.N. Anichkov). The study of the hypothalamic-pituitary system, thyroid, and the microvascular bed also revealed a beneficial effect of thyroxine on their morpho-functional state. Thus, the role of neuroendocrine regulation and disorders of microcirculation in atherogenesis shown.*

**Key words:** experimental atherosclerosis, thyroxine, thyroid, hypothalamic-pituitary system, microcirculation

Поиск новых методов лечения и профилактики атеросклероза остается актуальной проблемой современной медицины. Клинические наблюдения и результаты экспериментальных исследований свидетельствуют о важной роли некоторых эндокринных желез и их гормонов в развитии атеросклероза. Особая роль принадлежит щитовидной железе. Известно, что гормоны щитовидной железы (ЩЖ) оказывают непосредственное влияние на регуляцию липидного обмена [9, 12, 16]. Удаление ЩЖ у животных, угнетение ее функции метилтиоурацилом приводит к росту уровня атерогенных липопротеидов (АЛП) в крови и к развитию атеросклероза даже у животных, резистентных к атерогенной диете (АТД). У людей с гипофункцией ЩЖ также наблюдается повышенный уровень АЛП в крови и раннее развитие атеросклероза. Примером могут служить больные микседемой

[7]. В настоящее время установлено [13—15], что уже на ранних стадиях дислипидемии (ДЛП) происходит повреждение эндотелия, нарушение его проницаемости в микроциркуляторном русле (МЦР). Реакция МЦР на повышенное содержание АЛП в крови носит генерализованный характер и лежит в основе развития и прогрессирования полиорганной патологии [2, 3, 5, 6].

Важная роль в регуляции липидного гомеостаза отводится гипоталамо-гипофизарной нейросекреторной системе (ГНС) [8, 10, 11]. Продуцируемый этой системой гормон вазопрессин оказывает влияние на тонус микрососудов. Артериолярный отдел МЦР иннервируется также адренергическим компонентом симпато-адреналовой системы (САС). Как было установлено, эти две системы самым тесным образом коррелируют между собой при регуляции состояния МЦР [4]. В свою очередь, в литературе имеются данные о взаимосвязи ЩЖ и ГНС в поддержании нормального уровня гомеостаза организма, обеспечивая тем самым адекватную реакцию со стороны ней-

**Для корреспонденции:** Людмила Петровна Кобозева, канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. экспериментальной морфологии ФГБУ НИИОПП РАМН. E-mail: niiopp@mail.ru

Влияние тироксина (Т<sub>4</sub>) на биохимические показатели крови и ИАП аорты (M±m)

Группа кроликов	АЛП (мг/100 мл)	ЛПВП (мг/100 мл)	ИАП аорты (%)	Масса животных, г
1-я группа (интактные), n=12	131,5±8,2	81,2±6,3	0	2200
2-я группа (2 мес. АД), n=10	2805,2±16,4*	406,1±10,5*	20	3300*
3-я группа (2 мес. АД+Т <sub>4</sub> ), n=10	373,0±28,3**	143,0±12,8**	7,2	2800*

Примечание. \* —  $p < 0,05$  по сравнению с интактными животными; \*\* —  $p < 0,05$  при сравнении опытных групп (2-й и 3-й)

рорегуляторных механизмов на изменения в различных органах, в том числе и в сердечно — сосудистой системе, включая МЦР [1].

**Цель исследования** — изучение влияния тироксина на показатели липидного обмена, нарушения нейроэндокринной регуляции и состояние микроциркуляторного русла на ранних стадиях атерогенеза.

### Методика

Опыты проведены на 32 кроликах-самцах породы «шиншилла» массой 2,5—3,0 кг, получавших стандартный рацион (1-я гр.) и атерогенную диету (АД) — холестерин в дозе 0,3 г на 1 кг массы тела (модель Н.Н.Аничкова) на протяжении 2 мес. (2-я гр.). Животные 3-й группы на фоне АД со 2-й недели от начала эксперимента получали тироксин (Т<sub>4</sub>) в дозе 100 мкг на кролика (per os) в течение 2 недель. Далее следовал перерыв 1 неделя. Затем животные получали Т<sub>4</sub> по описанной выше схеме еще 2 недели. О выраженности атеросклеротического процесса судили по величине индекса атеросклеротического поражения аорты (ИАП) по Г.Г. Автандилову. В сыворотке крови животных определяли различные фракции липопротеидов [9]. Состояние МЦР оценивали на тотальных пленочных препаратах брыжейки тонкой кишки, импрегнированных азотно-кислым серебром по В.В.Куприянову. Морфометрию микрососудов проводили на полуавтоматической системе анализа изображения «Leitz-ASM». Адренергическую иннервацию терминального отдела сосудистого русла исследовали по методу Фалька-Овмена. Интенсивность флуоресценции катехоламинов определяли фотометрически на микроскопе «ЛЮМАМ» и выражали в условных единицах.

На серийных срезах мозга исследовали супраоптические (СО) ядра гипоталамуса и нейрогипофиз методами Ниссля и Гомори—Майоровой. Функциональное состояние ГГНС оценивали по схеме А.Л. Поленова [10] с учетом количества гомори-положительного вещества в нейросекреторных клетках, гипоталамо-гипофизарном тракте и нейрогипофизе. В СО-ядрах подсчитывали процент «светлых» и «темных» клеток. Площадь ядра и тела нейронов измеряли с использованием «Leitz-ASM». При анализе изменений в щитовидной железе использовали комплекс гистологических

и гистохимических методик. Статистическую обработку полученных результатов проводили методами вариационной статистики в программе «Excel». Для сравнения количественных показателей использовали двухвыборочный t-критерий Стьюдента с поправкой Бонферрони для множественных сравнений с контрольной группой. Межгрупповые различия считали достоверными при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

К концу 2-го месяца эксперимента уровень атерогенных липопротеидов (АЛП) в крови животных 2-й группы превысил исходный уровень более чем в 20 раз, антиатерогенных (ЛПВП) — в 5 раз. ИАП аорты составил 20%. Масса животных увеличивалась в среднем в 1,5 раза (табл. 1).

В паренхиме щитовидной железы обнаружены фолликулы малых, средних и крупных размеров, в которых скапливается значительное количество компактного, плотно прилегающего к стенке фолликула гомогенного коллоида. Эпителий, выстилающий фолликулы, представлен в виде уплощенных клеток кубической формы, в которых отмечены явления жировой дистрофии. В строме желез наблюдали элементы диффузного и интерстициального склероза. В ГГНС также обнаружены структурные изменения. В нейросекреторных ядрах гипоталамуса уменьшалось количество «светлых» клеток по сравнению с интактными животными (рисунок). Во всех отделах ГГНС имело место накопление нейросекреторного вещества. Отмечено значительное количество нейронов в стадии «красного пикноза». Совокупность перечисленных морфологических признаков в щитовидной железе и ГГНС позволяет оценить функциональную активность нейроэндокринных желез как пониженную с тенденцией к истощению.

При анализе морфофункционального состояния адренергического компонента иннервации микрососудов отмечено значительное усиление специфического свечения катехоламинов (табл. 2). Во всех звеньях микрососудистого русла (МЦР) наблюдались выраженные сосудистые, внутри- и внесосудистые изменения: неравномерность калибра микрососудов, извитость венул, микроаневризмы, внутрисосудистые агрегаты из форменных элементов крови, диапедез

Таблица 2

Влияние тироксина (Т<sub>4</sub>) на состояние различных звеньев МЦР и адренергическую иннервацию микрососудов (М±m)

Группы кроликов	Площадь поперечного сечения сосудов (мкм <sup>2</sup> )					Интенсивность свечения катехоламинов, усл.ед.
	Артериолы	Венулы	Пре-капилляры	Капилляры	Пост-капилляры	
1-я группа — интактные, n=12	205,6±7,2	310,30±13,02	40,36±2,32	35,95±1,20	85,63±4,95	4,6±0,05
2-я группа — 2 мес. АД, n=10	108,21±5,24*	459,24±18,5*	28,5±2,49*	29,95±1,60*	114,74±5,23*	6,3±0,4*
3-я группа — 2 мес. АД + тироксин, n=10	189,3±13,28	377,40±10,62*	36,29±3,13	31,66±2,92	102,89±7,04*	5,4±0,2*

Примечание. \* — достоверные различия по сравнению с показателями у животных с контрольной группой; n — число животных в группе

Таблица 3

Влияние тироксина (Т<sub>4</sub>) на морфометрические показатели нейросекреторных нейронов (М±m)

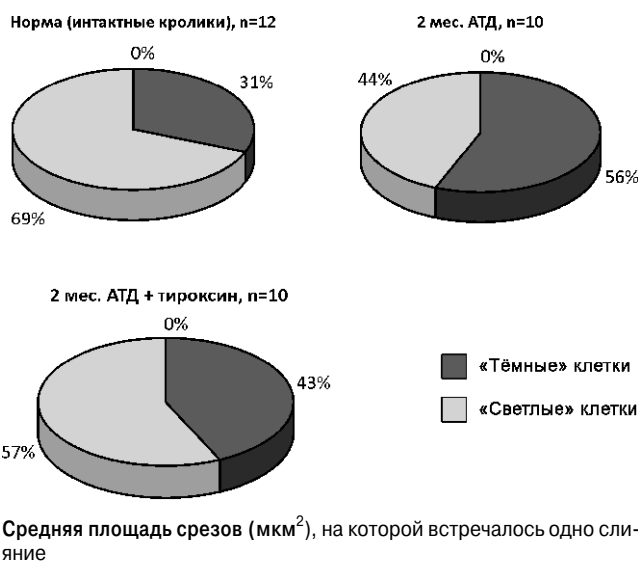
Группы кроликов	Супраоптические ядра (SO) гипоталамуса	
	Площадь ядра клетки (мкм <sup>2</sup> )	Площадь тела клетки (мкм <sup>2</sup> )
1-я группа (интактные), n=12	39,3±1,7	113,5±2,7
2-я группа (2 мес. АД), n=10	34,5±0,8*	121,3±7,3*
3-я группа (2 мес. АД+Т <sub>4</sub> ), n=10	35,4±2,5**	106,8±3,1**

Примечание. \* — p<0,05 в сравнении групп интактных животных; \*\* — p<0,05 в сравнении опытных групп между собой

эритроцитов, периваскулярный отек, частичное закупоривание капилляров. Существенно изменились морфометрические показатели, характеризующие состояние МЦР (табл. 2).

У кроликов, получавших АД в сочетании с Т<sub>4</sub>, поражение аорты атеросклеротическим процессом было значительно слабее (табл. 1). Менее выраженными были изменения в МЦР и адренергической иннервации микрососудов (табл. 2). В щитовидной железе и ГГНС по морфологическим и морфометрическим критериям имело место некоторое снижение функциональной активности, однако отсутствовали признаки ее истощения (табл. 3).

Таким образом, введение Т<sub>4</sub> на фоне АД по разработанной схеме оказывало положительный терапевтический эффект на липидный гомеостаз и регуляторные системы, что приводило к купированию микроциркуляторных нарушений (табл. 2). Известно, что щитовидная железа имеет хорошо выраженную васкуляризацию. Каждый фолликул покрыт сетью разветвленных капилляров. Поэтому нарушения в МЦР могут непосредственным образом влиять как на синтез гормонов, так и на их поступление в кровеносное русло. Результаты исследования дают основание полагать, что не только повышение уровня атерогенных липопротеидов в крови, но и нарушения в МЦР уже на ранних стадиях дислипидемии приводят к нейроэндокринопатии, что усугубляет патологический процесс. Вышеизложенное необходимо учитывать при профилактике и терапии атеросклероза.



### Список литературы

1. Губский В.И. Внутренняя среда организма как фактор регуляции гипоталамо-тиреоидных взаимоотношений // Сб. «Эндокринология». — Киев: Здоровье, 1977. — С. 16—21.
2. Клименко Е.Д., Поздняков О.М. Роль повреждения микроциркуляторного русла в атерогенезе // Вестник АМН СССР. — 1985. — №8. — С. 12—18.
3. Клименко Е.Д., Поздняков О.М. Роль дислипидемии в генезе хронического гепатита // Бюлл. экпер. биол. — 1992. — Т. 114, №10. — С. 437—439.
4. Кобозева Л.П. Морфофункциональное состояние гипоталамо-гипофизарной системы и адренергической иннервации терминального сосудистого русла на раз-

личных стадиях экспериментального атеросклероза: Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н. — М., 1984.

5. **Кобозева Л.П., Мичунская А.Б., Клименко Е.Д., Поздняков О.М.** Коррекция верапамилом нарушения состояния нейрорегуляторных систем на ранних стадиях атерогенеза // Бюлл. exper. биол. — 2000. — Т. 129, №1. — С. 61–63.

6. **Кобозева Л.П., Клименко Е.Д., Мичунская А.Б., Поздняков О.М.** Взаимосвязь некоторых звеньев атерогенеза у высоко- и низкоустойчивых к дислипидемии кроликов // Бюлл. exper. биол. — 2001. — Т. 132, №10. — С. 378–381.

7. **Королюк И.П., Поляруш Н.Ф.** Функциональное состояние щитовидной железы на разных стадиях атеросклероза по данным радиодиагностики in vitro // Кардиология. — 1978. — №10. — С. 134–136.

8. **Лившиц И.Б.** Состояние системы гипоталамус — гипофиз — кора надпочечников у кроликов в процессе нагрузки холестерином // Проблемы эндокринологии. — 1978. — Т. 24, №6. — С. 50–53.

9. **Никольская О.Н., Тихонов В.П.** Методика и клиническое значение определения липопротеидов турбидиметрическим методом при атеросклерозе // Лабораторное дело. — 1968. — №10. — С. 579–581.

10. **Поленов А.Л.** // Гипоталамическая нейросекреция. — 1971.

11. **Acbari C.M., Saouaf R.** et al. Endothelium — dependent vasodilatation is impaired in both microcirculation and macrocirculation during acute hyperglycemia // Vasc. Surg. — 1998. — Oct. — 28(4). — P. 687–694.

12. **Auer J., Berent R., Weber T., Lassing E., Eber B.** Thyroid function is associated with presence and severity of coronary atherosclerosis // Clin. Cardiol. — 2003. — Dec. — Vol. 26(12). — P. 569–573.

13. **Elliot H.L.** Endothelial dysfunction in cardiovascular disease: risk factor, risk marker, or surrogate end point? // Cardiovasc. Pharmacol. — 1998. — Vol. 32. — Suppl. 3. — P. 74–77.

14. **Harrison D.G.** Endothelial dysfunction in atherosclerosis // Basic. Res. Cardiol. — 1998. — Vol. 89. — Suppl. 1. — P. 87–102.

15. **Hein T.W., Kuo L.** LDLs impair vasomotor function of the coronary microcirculation: role of superoxide anions // Circ. Res. — 1998. — Vol. 83. — P. 404–414.

16. **Ichiki T.** Thyroid hormone and atherosclerosis // Vascular Pharmacol. — 2010. — Mar.–Apr. — Vol. 52(3–4). — P. 151–156.

Поступила 01.12.11

#### Сведения об авторах:

**Поздняков Олег Михайлович** — д-р мед. наук, проф., чл.-корр. РАМН, рук. лаб. экспериментальной морфологии НИИОПП РАМН

**Клименко Елена Даниловна** — д-р мед. наук, вед. науч. сотр., лаб. экспериментальной морфологии НИИОПП РАМН

**Мичунская Александра Борисовна** — канд. биол. наук, вед. науч. сотр., лаб. экспериментальной морфологии НИИОПП РАМН

А.С. Иванова<sup>1</sup>, О.Г. Ситникова<sup>2</sup>, С.Б. Назаров<sup>1,2</sup>

## **Роль NO-зависимых механизмов при нормальной беременности и на фоне нарушения маточно-плацентарного кровообращения у белых крыс**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Ивановская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России», 153012, Иваново, пр. Ф. Энгельса, 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова Минздравсоцразвития России», 153045, Иваново, ул. Победы, 20

*Изучено состояние NO-зависимых механизмов, свободнорадикальных процессов и уровня кальция в норме и на фоне нарушения маточно-плацентарного кровообращения у белых крыс. При нормальной беременности у животных повышается активность NO-зависимых механизмов, активируются свободнорадикальные процессы, возникает гипокальциемия. При введении антагониста NO (10 мг/кг) и при нарушении маточно-плацентарного кровообращения наблюдаются сходные изменения в виде снижения уровня нитритов, активации свободнорадикальных процессов и гиперкальциемии. При сочетанной патологии повышается образование NO и нитротирозина, что в этих условиях играет защитную роль, обеспечивая приспособление нарушенного фето-плацентарного кровотока к потребностям плода.*

**Ключевые слова:** маточно-плацентарное кровообращение, оксид азота, свободно-радикальное окисление

A.S. Ivanova<sup>1</sup>, O.G. Sitnikova<sup>2</sup>, S.B. Nazarov<sup>1,2</sup>

## **Role of NO-dependent mechanisms at normal pregnancy and on background of disturbance of utero placental blood circulation of white rats**

<sup>1</sup> Ivanovo State Medical Academy, 8, Engels str., Ivanovo, 153462, Russia

<sup>2</sup> Ivanovo Scientific Research Institute of Maternity and Childhood, 20, Pobedy str., Ivanovo, 153731, Russia

*Condition of NO-dependent mechanisms, free-radical processes and calcium level in normal and on background of disturbance of uteroplacental circulation of white rats is studied. At normal pregnancy at animals activity of NO-dependent mechanisms increases, free radical processes are activated, hypocalcemia is appeared. Being injected of antagonist NO (10 mg/kg) and disturbance of uteroplacental circulation similar changes in the form of reducing of a level of nitrites, activation of free radical processes and hypercalcemia are observed. At the combined pathology synthesis of NO and nitrotyrosine increases, that in such conditions plays the protective role, providing adaptation of disturbance of uteroplacental circulation for needs of a fetus.*

**Key words:** uteroplacental blood circulation, NO-dependent mechanisms

Нормальная беременность характеризуется рядом гемодинамических изменений, включающих увеличение почечного, маточного, фето-плацентарного кровотока, снижение сосудистого сопротивления и уменьшение прессорного ответа на сосудосуживающие агенты. За эти преобразования ответственен оксид азота [18]. NO — уникальное соединение, выполняющее роль физиологического мессенджера, а в некоторых условиях цитотоксической эффекторной молекулы. NO имеет важное значение в регуляции сосу-

дистого тонуса, влияет на активность растворимой гуанилатциклазы и внутриклеточную концентрацию ионов кальция [3] — ведущего вазоконстрикторного агента.

Вопросы влияния донаторов оксида азота, ингибиторов индуцибельной NO-синтазы, свободнорадикальных процессов на протекание беременности и антенатальное развитие активно изучаются [1, 5, 6, 8, 12]. Известно, что изменение уровня NO и свободных радикалов кислорода приводит к появлению классических симптомов эклампсии, нарушению развития плаценты, изменению ее кровообращения, эмбрио- и фетопатиям, внутриутробной задержке роста и гибели плода. Оксид азота может выступать фактором пато-

**Для корреспонденции:** Иванова Анастасия Сергеевна, канд. мед. наук, ст. преп. каф. нормальной физиологии ГБОУ ВПО ИГМА Минздравсоцразвития России. E-mail: asivanova@mail.ru

и саногенеза при фето-плацентарной недостаточности, одним из ведущих механизмов которой является нарушение маточно-плацентарного кровотока [4].

*Цель работы* — изучение состояния NO-зависимых механизмов, свободнорадикальных процессов и уровня кальция при нормальной беременности и на фоне нарушения маточно-плацентарного кровообращения у белых крыс.

### Методика

Исследование проведено на 70 белых беспородных крысах-самках. Выбор крыс как объекта исследований обусловлен тем, что подобно человеку, у них формируется гемохориальный тип плаценты, что имеет значение для интерпретации результатов. Первый день беременности регистрировался по обнаружению сперматозоидов во влагалищных мазках.

Животные были разделены на 6 групп:

- 1) интактные небеременные крысы-самки;
- 2) животные с нормальной беременностью;
- 3) беременные крысы, получавшие внутримышечно с 1-го дня беременности неселективный ингибитор синтеза оксида азота *N<sup>w</sup>-nitro-L-arginine methyl ester (L-NAME)* в дозе 10 мг/кг (производитель — фирма SIGMA) [10];
- 4) беременные крысы с экспериментальным нарушением маточно-плацентарного кровообращения [2];
- 5) беременные крысы с экспериментальным нарушением маточно-плацентарного кровообращения и введением неселективного ингибитора синтеза оксида азота *L-NAME* внутримышечно в дозе 10 мг/кг с 1-го дня беременности;
- 6) ложноперированные беременные крысы (группа сравнения).

Операцию по нарушению маточно-плацентарного кровообращения проводили под нембуталовым наркозом (40 мг/кг) по методике М.М. Вартановой [2] путем перевязки части преплацентарного сосудистого пучка на 16-е сут. беременности, т.е. в тот период, когда плацентация уже завершена и плод полностью переходит на плацентарное кровообращение.

Забор крови из подъязычного сплетения производили на 20-е сут. беременности. В сыворотке крови определяли следующие показатели: концентрацию суммарных нитратов и нитритов ( $\text{NO}_x$ ), нитротирозина, уровень кальция, оценивали состояние свободнорадикальных процессов и антиоксидантную активность. Уровень суммарных нитратов и нитритов ( $\text{NO}_x$ ) измеряли путем восстановления нитратов в нитриты в присутствии хлорида ванадия по методике Miranda K. Концентрацию нитротирозина определяли с использованием набора для ИФА-исследований фирмы NBT (Нидерланды). Уровень кальция определяли с использованием набора для биохимических

исследований фирмы Human (Германия). Содержание свободных радикалов и состояние антиоксидантной системы оценивали хемилюминесцентным методом на биохемилюминометре БХЛ-06М. Активность свободнорадикальных процессов в организме определяли по светосуммным свечениям (*S*) и максимальной интенсивности сигнала (*I<sub>m</sub>*), состояние антиоксидантной защиты — по тангенсу угла наклона кривой (*tg2*). Эвтаназию взрослых животных осуществляли под нембуталовым наркозом путем дислокации шейных позвонков.

Статистическую обработку полученных результатов производили методами вариационного анализа с использованием *t*-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

На 20-е сут. при нормальной беременности у животных в сыворотке крови достоверно повышается концентрация суммарных нитратов и нитритов ( $\text{NO}_x$ ) и нитротирозина, активизируются свободнорадикальные процессы (таблица). Показатели ложноперированных животных (6-я группа) достоверно не отличались от соответствующих показателей интактных беременных крыс. Изменение  $\text{NO}_x$  связано с увеличением образования оксида азота в плаценте, необходимого для адекватного кровообращения [7]. Также в сосудах матки повышается образование эндотелиальной NO-синтазы и кальций-зависимая активность NO-синтаз [14]. При нормальной беременности наблюдается перераспределение пула аргинина в пользу плода, что уменьшает его поступление в эндотелий сосудов матери. NO-синтаза при дефиците этой аминокислоты образует свободнорадикальные соединения [9]. Плацента также способна продуцировать перекиси [20]. Усиление свободнорадикальных процессов сопровождается снижением активности многих ферментов антиоксидантной защиты. В результате увеличивается образование стойкого высокоактивного свободнорадикального соединения пероксинитрита. Об этом свидетельствует нитрификация ароматических аминокислот, в частности, тирозина, с образованием нитротирозина [13]. Вышеперечисленные изменения приводят к возникновению латентной эндотелиальной дисфункции, при изменении выраженности которой формируются различные виды патологии беременности [15]. Снижение уровня кальция в сыворотке может быть результатом использования этого катиона плодами, а также следствием физиологической гемодилюции и повышенной фильтрации почками [17]. Кроме того, как уже упоминалось выше, повышается кальций-зависимый синтез NO и образование эндотелиальной NO-синтазы по сравнению с кальций-независимым синтезом, и кальций используется в этих процессах [14].



Активность NO-зависимых механизмов, свободнорадикальных процессов и уровень кальция в сыворотке у белых крыс

Показатели	1 группа	2 группа	3 группа	4 группа	5 группа
NO <sub>x</sub> , ммоль/л	144,5±6,30	242,7±23,86*	178,2±8,10#	165,6±8,36#	211,4±16,94°
Нитротирозин, нмоль/л	3,35±0,44	4,56±0,26*	4,92±0,40*	4,57±0,56	6,23±0,42*°
кальций, ммоль/л	1,98±0,18	1,28±0,16*	2,11±0,13#	2,10±0,20#	1,44±0,31°
S, импульсов/с	7,66±0,84	12,46±0,98*	19,36±1,81**	15,28±0,92**	18,36±1,08**
I <sub>max</sub> , импульсов/с	1,53±0,06	1,91±0,08*	2,93±0,11**	2,76±0,09**	2,72±0,08**
tg2	0,48±0,03	0,52±0,02	0,72±0,04**	0,66±0,05**	0,30±0,02**

Примечание. \* — достоверное отличие от небеременных крыс (p<0,05); # — достоверное отличие от интактных беременных животных (p<0,05); ° — достоверное отличие животных 5-й группы от 3-й группы (p<0,05)

При введении неселективного антагониста NO-синтазы L-NAME в организм беременных животных (3-я группа) активность свободнорадикальных процессов повышается, антиоксидантная активность увеличивается, что является ответной реакцией на любое стрессорное воздействие (табл.). В сыворотке крови достоверно снижается концентрация NO<sub>x</sub>, содержание нитротирозина не меняется, что можно объяснить торможением активности NO-синтазы [17]. Уровень кальция в сыворотке достоверно повышается. Это, вероятно, связано с блокадой кальций-зависимого синтеза NO и образования эндотелиальной NO-синтазы [14]. Увеличение концентрации кальция можно объяснить также снижением его поступления к плоду вследствие нарушения фетоплацентарного кровотока, который прямо пропорционален уровню оксида азота [18], так как в присутствии антагониста NO увеличивается чувствительность миоцитов сосудов к вазоконстрикторному действию кальция, эндотелина и тромбосана, и снижается чувствительность к гуморальным вазодилаторам [11, 19].

При нарушении маточно-плацентарного кровообращения (4-я группа) наблюдаются изменения, сходные с предыдущей группой животных (таблица). В сыворотке крови содержание нитротирозина достоверно не меняется, снижается концентрация NO<sub>x</sub>. Уровень свободнорадикальных процессов и антиоксидантная активность достоверно повышаются. Эти изменения можно объяснить возникновением при перевязке преплацентарного сосуда пучка эндотелиальной дисфункции, связанной с облитерацией части сосудов и существенным перераспределением кровотока в плаценте на фоне развития гипоксии плода. В условиях сниженного синтеза оксида азота происходит оксидантное повреждение эндотелиальных клеток, увеличивается адгезия и агрегация тромбоцитов и лейкоцитов, повышается активность ангиотензина, что в совокуп-

ности приводит к нарушению микроциркуляции, возникновению тканевой гипоксии, которая еще более усугубляет степень повреждения сосудов и сопряженных с этим осложнений [1]. Концентрация кальция в сыворотке увеличивается, что может быть связано со сниженным его потреблением плодом, а также нарушением кальций-зависимых механизмов синтеза NO [14].

При нарушении маточно-плацентарного кровообращения на фоне введения антагониста оксида азота концентрация NO<sub>x</sub> (5-я группа) и содержание нитротирозина достоверно повышаются по сравнению с изолированным введением L-NAME (3-я группа), а концентрация кальция снижается. Активность свободнорадикальных процессов достоверно не меняется (таблица). Повышение уровня NO при сочетанном нарушении связано, вероятно, с активацией NO-синтазы при длительном введении антагониста оксида азота [17], что необходимо для существования плодов в этих условиях. Повышение уровня нитротирозина свидетельствует о значительном увеличении образования пероксинитрита, который выполняет относительно саногенетическую роль, являясь вазодилатором, но при этом он ингибирует активность других сосудорасширяющих веществ, увеличивая сосудистую дисфункцию [11, 19].

Таким образом, при нормальной беременности у крыс повышается активность NO-зависимых механизмов, активируются свободнорадикальные процессы, возникает гипокальциемия. При введении антагониста оксида азота и при нарушении маточно-плацентарного кровообращения наблюдаются сходные изменения в виде снижения уровня NO<sub>x</sub>, активации свободнорадикальных процессов и гиперкальциемии. При сочетанной патологии повышается концентрация NO<sub>x</sub> и нитротирозина, что в этих условиях играет защитную роль, обеспечивая приспособление нарушенного фето-плацентарного кровотока к потребностям плода.

## Список литературы

1. Белокрицкая Т.Е., Казанцева Е.В., Витковский Ю.А. Некоторые патогенетические механизмы развития нарушений в фетоплацентарной системе у пациенток с артериальной гипертензией // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. — 2005. — Т. 1. — С. 12—16.
2. Вартамова М.М. Патогенез и профилактика синдрома отставания в развитии плода при плацентарной недостаточности и его отдельные последствия: Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.м.н. — Л., 1984.
3. Реутов В.П., Каюшин Л.П., Сорокина Е.Г. Физиологическая роль окиси азота в организме животных // Физиология человека. — 1994. — Т. 20, №3. — С. 165—174.
4. Сидорова И.С., Марков И.О. Фетоплацентарная недостаточность. Клинико-диагностические аспекты. — М.: Знание. — 2000. — 127 с.
5. Шестопалов А.В. Метаболическая активность плацентарных макрофагов и молекулярные механизмы формирования плаценты при различных вариантах течения беременности: Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.м.н. — Ростов-на-Дону, 2007.
6. Biondi C., Pavan B., Lunghi L., Fiorini S., Vesce F. The role and modulation of the oxidative balance in pregnancy // Curr. Pharm. Des. — 2005. — Vol. 16, №11. — P. 112075—112089.
7. Conrad K.P., Joffe G.M., Kruszyna H. Identification of increased nitric oxide biosynthesis during pregnancy in rats // FASEB J. — 1998. — №7. — P. 566—571.
8. Fujii J., Iuchi Y., Okada F. Fundamental roles of reactive oxygen species and protective mechanisms in female reproductive system // Reprod. Biol. Endocrinol. — 2005. — №3. — P. 43—56.
9. Goodrum L.A., Saade G.R., Belfort M.A. et al. Arginine flux and nitric oxide production during human pregnancy and postpartum // J. Soc. Gynecol. Investig. — 2003. — Vol. 10, №7. — P. 400—405.
10. Huang H.-S., Ma M.-Ch., Chen J. Chronic L-arginine administration increases oxidative and nitrosative stress in rat hyperoxaluric kidneys and excessive crystal deposition // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. — 2008. — Vol. 295. — P. 388—396.
11. Liu S., Beckman J.S., Ku D.D. Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 1994. — Vol. 268. — P. 1114—1121.
12. Ma C., Zyung Y., Xu Y. The effect of inhibition of nitric oxide synthesis on vasoregulatory factors in pregnant rat // Zhonghua Fu Chan Ke Zhi. — 1999. — Vol. 34, №9. — P. 521—524.
13. Myatt L., Rosenfield R.B., Eis A.L. Nitrotyrosine residues in placenta. Evidence of peroxynitrite formation and action // Hypertension. — 1996. — Vol. 28. — P. 488—493.
14. Nelson S.H., Steinsland O.S., Wang Y. Increased nitric oxide synthase activity and expression in the human uterine artery during pregnancy // Circ. Res. — 2000. — Vol. 87. — P. 406—411.
15. Reshef R., Schwartz D., Ingbir M. A profound decrease in maternal arginine uptake provokes endothelial nitration in the pregnant rat // Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol. — 2008. — Vol. 294. — P. 1156—1163.
16. Ritchie L.D., Fung E.B., Halloran B.P. A longitudinal study of calcium homeostasis during human pregnancy and lactation and after resumption of menses // Am. J. Clin. Nutr. — 1998. — Vol. 67. — P. 693—701.
17. Rosselli M., Keller P.J., Dubey R.K. Role of nitric oxide in the biology, physiology and pathophysiology of reproduction // Hum. Reprod. Update. — 1998. — №4. — P. 3—24.
18. Sladek S.M., Magness R.R., Conrad K.P. Nitric oxide and pregnancy // Am. J. Physiol. — 1997. — Vol. 272. — P. 441—463.
19. Villa L.M., Salas E., Darley-Usmar M., Radomski M.W. Peroxynitrite induces both vasodilation and impaired vascular relaxation in the isolated perfused rat heart // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. — 1994. — Vol. 91. — P. 12383—12387.
20. Walsh S.W., Wang Y. Secretion of lipid peroxides by the human placenta // American Journal of Obstetrics and Gynecology. — 1993. — №169. — P. 1462—1466.

Поступила 15.06.11

## Сведения об авторах:

Ситникова Ольга Григорьевна — канд. биол. наук, старш. научн. сотр. биохимической лаборатории ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России

Назаров Сергей Борисович — д-р мед. наук, проф., зам. дир. по науке ФГБУ «Ивановский НИИ материнства и детства им. В.Н. Городкова» Минздравсоцразвития России, зав. каф. нормальной физиологии ГБОУ ВПО ИГМА Минздравсоцразвития России

Л.П. Романова, И.И. Малышев

## **Роль изменения показателей крови 18-дневных крысят в заживлении механической травмы печени при применении биологически активных веществ**

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования  
«Чувашский государственный университет им. И.Н. Ульянова», 428015, Чувашская Республика, Чебоксары, Московский проспект, 15

*Роль изменений показателей крови 18-дневных крысят в заживлении механической травмы печени при применении биологически активных веществ. Представлены результаты исследования показателей крови при заживлении механической травмы печени в условиях применения биологически активных веществ «Трепел» и «Сувар». Одновременно изучалась пролиферация гепатоцитов. Сравнительный анализ показателей крови и митотической активности гепатоцитов в ходе заживления механической травмы у крысят свидетельствует о том, что при применении биологически активных цеолитов пролиферация гепатоцитов находится в прямой зависимости от улучшения констант крови.*

**Ключевые слова:** крысята, печень, механическая травма, показатели крови, биологически активные вещества

L.P. Romanova, I.I. Malyshev

## **The role of blood indices changes in 18-days old young rats in healing the mechanical liver trauma at the use of biologically active substances**

Chuvash State University named after I.N. Ulyanov, 15, Moskovskii, Cheboksary, 428015

*The results of the study of blood indices during mechanical liver trauma healing in conditions of using the biologically active substances «Trepel» and «Suvar» are presented. Simultaneously hepatocytes proliferation was studied as well. The comparative analysis of blood indices and mitotic activity of hepatocytes during healing of mechanical liver trauma in young rats indicates that when using biologically active substances hepatocytes proliferation is directly dependent on improvement of blood constants.*

**Key words:** young rats, liver, mechanical trauma, biologically active substances, blood indices

В условиях продолжающегося ухудшения экологии одним из факторов, снижающих вредное воздействие загрязнения окружающей среды на организм человека и животных являются естественные цеолиты. Как показывают многочисленные исследования, они обладают сочетанием каталитических, детоксикационных, ионообменных, адсорбционных и многих других свойств. Это создаёт предпосылки для применения их в ветеринарии и в медицине как средство, прежде всего, восполнения минеральной недостаточности [3, 6, 7, 8].

Интерес представляет использование цеолитов Алатырского месторождения Чувашской Республики катионный состав которых выгодно отличается от других хорошо изученных месторождений [6]. Многочисленные исследования показали, что их применение

в ветеринарии в сочетании с другими иммунокорректорами оказывает выраженный ростостимулирующий и иммуностимулирующий эффекты [1, 2], улучшает гематологические и биохимические спектры крови продуктивных животных [5].

В ранее опубликованной работе [4] было показано, что биологически активные вещества «Трепел» и «Сувар» активизируют регенераторные процессы у крысят при заживлении механической травмы печени, в результате чего травматический дефект на большем протяжении оказывается заполненным пролиферирующими гепатоцитами. Поэтому интерес представляет исследование влияния этих биологически активных веществ на показатели крови с точки зрения их участия в активизации регенерацию печени.

*Цель исследования* — изучение физиологических показателей крови у крысят при заживлении механической травмы печени в условиях применения биологически активных веществ «Трепел» и «Сувар».

**Для корреспонденции:** Романова Любовь Петровна, канд. биол. наук, старш. преп. каф. нормальной анатомии ФГБОУ ЧГУ им. И.Н. Ульянова. E-mail: romanoff\_med@mail.ru

## Методика

В качестве экспериментальных животных использовано 39 крысят 18-дневного возраста массой 23—28 г, которым под эфирным масочным наркозом осуществляли прокол печени. Прокол осуществляли в месте проекции печени стальной иглой длиной 8 см и диаметром 0,2 см, которая на расстоянии 0,4 см от конца имела стальной ограничитель, препятствующий более глубокому проникновению иглы в ткани, благодаря чему получали стереотипные участки повреждения.

Сразу после операции в основной рацион крысам добавляли природные цеолиты Алатырского месторождения под названием биологически активного вещества «Трепел» из расчета 1,25 мг/кг и иммунокорректорный препарат «Сувар», созданный на основе природных терпеноидов, из расчёта 50 мг/кг; питание животных осуществляли в режиме свободного доступа к пище и воде. Контролем служили 30 крысят аналогичного возраста, которым после аналогичной операции питание ограничивалось стандартным рационом, без добавления биогенных веществ.

Статистическая обработка цифровых данных проводилась по правилам вариационной статистики с помощью программного обеспечения MS Excel. Статистическую значимость различий определяли с помощью t-критерия Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Микроскопически через 1 сут. после нанесения травмы у опытных животных участок повреждения был представлен щелевидной полостью, заполненной эритроцитами и погибающими гепатоцитами. Через 3—5 сут. вокруг очага травмы обнаруживалось небольшое количество воспалительных клеток. С 5-х суток зона повреждения была представлена полостью, по краю которой лежало небольшое количество лимфоидных клеток и с 7—9-х суток — фибробластов. На 9-е — 11-е сутки среди клеток

начинали проследиваться тонкие, нежные волокна, окрашивающиеся по методу ван Гизон в бледно-розовый цвет. Размеры полости постепенно уменьшались. На 15-е, 20-е и 30-е сутки на месте погибшей ткани печени обнаруживался небольшой очаг волокнистой соединительной ткани.

У контрольных крысят с 3-х суток вокруг очага повреждения появлялось значительное количество воспалительных клеток. Фибробласты начинали преобладать в клеточном инфильтрате с 7-х и, особенно, с 9-х суток; при этом по периферии начинали проследиваться нежные волокна. Постепенно развивающаяся соединительная ткань заполняла участок травмы и на 11-е сутки он полностью замещался волокнистой соединительной тканью. Очаг фиброза у контрольных животных был во много раз больше, чем такой же участок у опытных животных.

На основании гистологического исследования было сделано заключение, что биологически активные вещества «Трепел» и «Сувар» снижают выраженность воспалительной реакции, замедляют появление фибробластов, уменьшают их количество вокруг очага травмы и, тем самым, препятствуют коллагенизации и развитию соединительной ткани.

Произведенный в работе подсчет митозов показал, что у животных, получающих биогенные вещества имеют место более высокие показатели митотического индекса по сравнению с контролем (табл. 1).

Учитывая данные пролиферативной активности гепатоцитов, можно заключить, что у опытных крысят биологически активные вещества, снижая мезенхимальную и фибробластическую реакции, одновременно стимулируют пролиферацию печеночных клеток; при этом размножающиеся гепатоциты постепенно уменьшают участок повреждения, и он на большем протяжении оказывается заполненным пролиферирующими гепатоцитами. Развивающаяся позднее соединительная ткань занимает лишь небольшую зону очага повреждения печени.

Таблица 1

Количество митозов гепатоцитов (%) у животных опытной и контрольной групп (M±m)

Время после операции (сут.)	Количество митозов гепатоцитов	
	Опыт	Контроль
1	1,4±0,3	—
3	3,6±0,7	3,1±1,5
5	6,4±2,8*	4,5±2,1
7	6,3±2,6*	3,8±1,9
9	5,6±2,7*	0,9±0,4
11	4,5±3,4	—
15	0,8±0,1	—

Примечание. \*p<0,001

У контрольных крысят пролиферация гепатоцитов была значительно слабее, а воспалительная и фибробластическая реакция в ответ на повреждение, напротив, более выражена. Поэтому зона повреждения у них на большем протяжении замещается соединительной тканью.

Исследование крови выявило различия в содержании гемоглобина и эритроцитов у животных опытной и контрольной групп (табл. 2).

Из таблицы можно видеть, что у опытных крысят уровень гемоглобина и количество эритроцитов

Таблица 2

Показатели крови у опытных и контрольных крысят (M±m)

Время после операции (сут.)	Опытные животные			Контрольные животные		
	Эритроциты, млн/мкл	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л	Эритроциты, млн/мкл	Гемоглобин, г/л	Лейкоциты, 10 <sup>9</sup> /л
1	5,6±0,30	119±0,5	4,7±0,01	5,5±0,08	120±0,1	5,4±0,01
3	5,7±0,08	121±0,9	4,9±0,02	5,6±0,01	121±0,1	6,5±0,92
5	6,4±0,01*	129±0,1*	5,4±0,01*	5,6±0,01	120±0,1	7,3±0,01
7	6,6±0,01*	128±0,1*	5,6±0,01*	5,4±0,01	119±0,1	7,5±0,01
9	7,0±0,01*	135±0,1*	5,6±0,01*	5,3±0,01	119±0,1	7,1±0,02
11	7,1±0,01*	135±0,1*	5,6±0,01*	5,4±0,01	120±0,1	6,5±0,01
15	7,3±0,01*	137±0,1*	5,4±0,01*	5,0±0,01	118±0,1	6,3±0,01
20	7,4±0,01*	137±0,1*	5,3±0,01*	4,6±0,01	116±0,1	6,1±0,02
30	7,3±0,01*	137±0,1	5,7±0,03	5,0±0,01	118±0,1	5,7±0,01

Примечание. \*p<0,01

Таблица 3

Содержание общего белка в сыворотке крови у опытных и контрольных животных (M±m)

Время после операции (сут.)	Общий белок в сыворотке крови (г/л) (опытные животные)	Общий белок в сыворотке крови (г/л) (контрольные животные)
1	47,2±0,15	48,1±0,16
3	51,7±0,17	49,0±0,21
5	58,1±0,23	53,6±0,15
7	64,5±0,20*	51,9±0,23
9	62,8±0,19**	47,3±0,24
11	65,2±0,21**	52,7±0,17
15	67,1±0,22**	53,4±0,21
20	70,4±0,07**	50,9±0,15
30	71,8±0,25**	56,3±0,18

Примечание. \*p<0,05; \*\*p<0,001

Таблица 4

Показатели ферментативной активности крови у опытных и контрольных крысят (M±m)

Время после операции (сут.)	Опытные животные			Контрольные животные		
	АЛТ, Ед/л	АСТ, Ед/л	ЛДГ, Ед/л	АЛТ, Ед/л	АСТ, Ед/л	ЛДГ, Ед/л
1	12,1±0,37	26,7±0,52	58,1±2,08	14,5±1,64	24,5±2,73	44,6±3,72
3	12,8±1,08*	27,3±1,63*	60,5±1,70*	23,6±2,17	31,9±1,81	50,2±1,26
5	11,9±0,91*	27,5±0,21*	64,3±0,81*	22,7±1,72	36,4±0,10	51,7±0,25
7	10,8±0,07*	24,3±1,91*	66,5±1,14*	24,3±0,05	35,1±0,09	50,9±0,16
9	7,3±0,83*	20,7±0,70*	67,1±2,52*	24,5±1,56	32,4±1,82	51,8±1,63
11	7,0±0,02*	19,2±0,09*	66,3±1,73*	16,3±2,35	24,5±1,62	52,6±0,92
15	5,7±0,62*	9,6±1,05*	60,6±1,55*	12,5±1,73	15,6±0,93	49,2±2,47
20	6,1±0,09*	7,4±1,08*	58,2±1,93*	10,9±1,54	14,4±1,08	50,7±1,93
30	5,3±0,05*	6,5±0,64*	58,4±0,91*	9,3±0,57	10,7±0,82	45,3±0,91

Примечание. \*p<0,05

значительно выше, чем у контрольных животных. Число лейкоцитов у опытных крысят увеличивалось относительно в небольших пределах.

В табл. 3 представлены данные о содержании общего белка в сыворотке крови.

Как видно из данных таблицы, содержание общего белка в сыворотке крови у опытных животных существенно превышает таковой у контрольных крысят.

Исследование активности ряда ферментов также установило значимые различия показателей у опытных и контрольных животных (табл. 4).

Так, активность АСТ и АЛТ у опытных крысят была ниже, а активность ЛДГ — значительно выше, чем у контрольных.

При исследовании кальция в сыворотке крови животных были отмечены волнообразные изменения уровня в течение эксперимента (колебания в узком диапазоне:  $1,90 \pm 0,01$  —  $2,60 \pm 0,02$  ммоль/л), но различия не были статистически значимыми.

Таким образом, скармливание 18-дневным крысятам биологически активных веществ «Трепел» и «Сувар» оказывает стимулирующее воздействие на организм. Сопоставляя данные морфологического, гематологического и биохимического исследования можно заключить, что между ними прослеживаются определенные параллели. В частности, меньшая активность АСТ и АЛТ в сыворотке крови опытных крысят подтверждает полученные в ранее опубликованной работе [4] морфологические данные о том, что у животных насчитывается значительно меньше дистрофически и некротически измененных гепатоцитов по сравнению с контролем. Сравнительный анализ показателей крови и митотической активности гепатоцитов в ходе заживления механической травмы у крысят свидетельствует о том, что при применении биологически активных цеолитов

пролиферация гепатоцитов находится в прямой зависимости от улучшения констант крови.

### Список литературы

1. *Архипова М.Н., Шуканов А.А.* Совершенствование функциональных систем у боровков в биогеохимических условиях Чувашского Центра с назначением биогенных соединений // Мат. I Всерос. молодежн. научн. конф. — Сыктывкар, 2008. — С. 198—199.
2. *Григорьев С.Г., Шуканов А.А.* Корреляционный анализ физиологических процессов у боровков, содержащихся в биогеохимических условиях Чувашского Засурья // Аграрная наука. — М., 2009. — №1. — С. 22—24.
3. *Романова Л.П., Малышев И.И., Воробьева О.В.* Микроскопическая морфология заживления механической травмы печени у плодов и новорожденных крысят при применении биологически активных веществ «Трепел» и «Сувар» // Вестн. Чувашск. Гос. пед. ун-та. — 2010. — №4 (68). — С. 117—121.
4. *Пешкумов О.А.* Особенности биохимической картины сыворотки крови свиней при назначении биогенных препаратов // Естественные и технические науки. — 2009. — №6 (44). — С. 160—162.
5. *Скрёбков Г.П.* О месторождениях и свойствах трепелов Чувашии // Применение местных сырьевых ресурсов в народном хозяйстве. Трепел. — Чебоксары: Изд-во Чув. гос. ун-та, 1997. — С. 6—123.
6. *Bernal M.P., Lopes-Real J.M., Scott K.M.* Application of natural zeolites for the reduction of ammonia emissions during the composting of organic wasters in a laboratory composting stimulator // Bioresource Technology. — Vol. 43. — P. 35—39.
7. *Mumpton F.A., Fishman P.A.* The application zeolites in animal science and aquaculture // J. Anim. Sci. — 1977. — Vol. 45. — P. 1188—1202.

Поступила 16.11.11

### Сведения об авторах:

*Малышев Игорь Иванович* — д-р мед. наук, проф., зав. каф. патологической анатомии ГБОУ ВПО ЧГУ им. И.Н. Ульянова

Ц.И. Адамян, Э.С. Геворкян, А.В. Восканян, С.М. Минасян

## Антитоксическое влияние таурина

Ереванский государственный университет, Армения, 375025, Ереван, ул. А. Манукян, 1

*Изучено влияние однократного введения таурина на динамику морфофункциональных показателей периферической крови крыс, подверженных воздействию яда гюрзы. Установлено, что введение таурина купирует выраженность отрицательных сдвигов, наблюдаемых в показателях крови под воздействием яда. Предполагается, что таурин мобилизует адаптивно-компенсаторные механизмы организма против воздействия токсинов.*

**Ключевые слова:** экспериментальная терапия, таурин, яд левантской гадюки

Ts.I. Adamyan, E.S. Gevorkyan, A.V. Voskanyan, S.M. Minasyan

## Antitoxic influence of taurine

Yerevan State University, 1, A.Manukyan st., Yerevan 0025, Armenia

*The investigation of single injection of taurine on *Lebetina viper*' venom-induced shifts of morpho-functional indices of rats' peripheral blood was carried out. It was revealed that taurine eliminates negative effects of influence of venom. The results of investigation allow us to assume that taurine trigger adaptive and compensatory mechanisms of organism in conditions of toxins' influence.*

**Key words:** experimental therapy, taurine, *Lebetina viper* venom

В последние годы участились случаи укуса змеями людей, что зачастую приводило к летальному исходу. В настоящее время, возрос интерес к исследованию сдвигов, возникающих в организме под воздействием змеиного яда и поиску активных, быстро действующих противоядий, не обладающих побочными действиями. Яд змей представляет собой комплекс биологически активных веществ в который входят фосфолипаза-А<sub>2</sub>, жирорастворимые ферменты, гиалуронидаза и др. Под воздействием яда развивается геморрагический отек, внутрисосудистый гемолиз, возникает некроз тканей, понижается кровяное давление, способность гемоглобина присоединять О<sub>2</sub>, что становится причиной гипоксии тканей, подавляется адгезия и агрегация тромбоцитов [3, 4, 6, 10]. С этой точки зрения особое место отводится свободной аминокислоте небелковой природы — таурину. Установлено участие таурина в регуляции жирового и углеводного обмена, осмотической регуляции, иммунных реакциях, состоянии тромбоцитов [7, 10]. Таурин, содержится в наибольшем количестве в лейкоцитах. При недостатке таурина белые клетки крови теряют активность, что ослабляет иммунную систему [1, 4]. Некоторые повреждающие факторы, действуя на организм, приводят к повышению уровня таурина в

крови и некоторых органах [5, 8, 12]. Под воздействием яда змей процессы метаболизации таурина изменяются [2, 11].

*Цель исследования* — изучение антитоксического влияния таурина.

### Методика

Эксперименты проведены на крысах-самцах Вистар массой 200—250 г, содержащихся в стандартных условиях вивария. В первой серии изучали изменение показателей периферической крови после внутрибрюшинного введения яда гюрзы в дозе 2,5 ЛД<sub>50</sub> (ЛД<sub>50</sub> равно 1,8—2,0 мг/кг массы). Исследованиями ряда авторов показано, что для крыс оптимальной суточной дозой таурина, повышающей физическую выносливость, возбудимость и сократимость мышц и ряд других физиологических функций, является 100—500 мг/кг [2, 9]. Исходя из этого, во второй серии аналогичные исследования проведены при внутрибрюшинной инъекции таурина в количестве 100 мг/кг. Крысам третьей серии в тех же дозировках вводились змеиный яд и таурин. В норме на 30, 60 и 120 мин после инъекций исследовали следующие показатели периферической крови: абсолютное количество эритроцитов и лейкоцитов, уровень гемоглобина, определяли лейкоцитарную формула, цветной показатель. Кровь для исследований бралась из хвостовой вены животных.

**Для корреспонденции:** Адамян Цовинар Ишхановна, канд. биол. наук, доцент каф. физиологии человека и животных, Биологический факультет, ЕГУ. E-mail: anatom@ysu.am

Полученные данные подвергнуты статистической обработке с использованием пакета программ «Bios-tatistika», статистическую значимость различий оценивали с помощью t-критерия Стьюдента.

### Результаты и обсуждение

Через 30 мин после введения яда наблюдалось снижение количества эритроцитов и гемоглобина на 14,63% ( $p < 0,01$ ) и 17,65% ( $p < 0,01$ ), соответственно. Цветной показатель уменьшался до 0,67 ед. На 11% снижалось общее количество лейкоцитов. В лейкоцитарной формуле отмечено увеличение числа сегментоядерных нейтрофилов (117,23%). Относительный процент эозинофилов и моноцитов значительных изменений не претерпевал, однако абсолютное их количество уменьшалось на 10,5%. Число лимфоцитов снижалось на 27,54% ( $p < 0,001$ ). На 60 мин количество эритроцитов, гемоглобина и лейкоцитов несколько повышалось, в наблюдались нейтрофилез и моноцитоз — 136,79% ( $p < 0,001$ ) и 153,20% ( $p < 0,001$ ) соответственно. Относительный процент лимфоцитов существенных изменений не претерпевал, абсолютное их количество повышалось на 16,0%, оставаясь, все же, ниже исходного уровня. Через 2 ч количество гемоглобина и эритроцитов превышало исходный уровень на 7,05% и 8,47%, наблюдалась лейкопения (снижение на 30%). В лейкоцитарной формуле отмечена эозинопения, количество лейкоцитов снижалось в пределах 50,0% ( $p < 0,001$ ). Полученные данные дают основание полагать, что яд гюрзы в начальный период своего действия благодаря содержащимся в нем цитотоксинами, вызывает гемолиз, что приводит к падению количества эритроцитов и уровня гемоглобина [6, 7]. Развивающаяся в результате гемолиза тканевая гипоксия способствует выбросу крови из депо, чем и объясняется некоторое увеличение числа эритроцитов и гемоглобина на 60 мин исследований. Причиной подъема этих показателей может являться и обусловленное воздействием яда увеличение гематокрыта.

Во 2-й серии экспериментов, через 30 мин после внутрибрюшинного введения таурина наблюдалось умеренное снижение количества эритроцитов и гемоглобина, цветовой показатель оставался нормальным. В указанные сроки в картине периферической крови наблюдался перераспределительный лейкоцитоз, количество лейкоцитов по отношению к контрольным показателям повышалось на 20,37% ( $p < 0,01$ ). В лейкоцитарной формуле отмечен нейтрофилез, моноцитоз, возрастание числа эозинофилов. Количество лимфоцитов превосходило исходные данные на 7,9%. На 60 мин исследований наблюдалась гипохромия эритроцитов и снижение уровня гемоглобина. Общее количество лейкоцитов снижалось на 7,41%. В лейкоцитарной формуле наблюдалось умеренное уменьшение числа нейтрофилов, мо-

ноцитов и лимфоцитов (на 5, 8 и 10% соответственно). Повышенный уровень эозинофилов при этом сохранялся. Через 2 ч после введения таурина в периферической крови прослеживалась тенденция к восстановлению исходного уровня показателей. Наблюдаемые нами сдвиги подтверждают имеющиеся в литературе данные, согласно которым 90-сут введение таурина приводит к определенным сдвигам показателей периферической крови, являющимся следствием активации процессов кроветворения в костном мозге [6, 7].

В третьей серии экспериментов показано, что на 30 мин сочетанного влияния яда и таурина наблюдается нормохромное снижение числа эритроцитов и уровня гемоглобина до 89,13% ( $p < 0,02$ ) и 88,75% ( $p < 0,01$ ) соответственно. Количество лейкоцитов снижается до 90,26% ( $p < 0,05$ ). В лейкоцитарной формуле наблюдается повышение абсолютного числа нейтрофилов (116,05%,  $p < 0,01$ ) и моноцитов (108,31%). Абсолютное количество лимфоцитов понижается на 26,0% ( $p < 0,001$ ). На 60-й минуте исследований наблюдается тенденция к умеренному повышению количества эритроцитов и гемоглобина до 93,99 и 93,75% соответственно. Количество же лейкоцитов продолжает снижаться за счет моноцитов, эозинофилов и нейтрофилов. На 120-й мин показатели красной крови возвращаются к исходному уровню, число лейкоцитов, несмотря на некоторое повышение их числа, продолжает оставаться сниженным, по сравнению с нормой. Необходимо отметить, что в мазках крови обнаруживались также молодые формы нейтрофилов — миелоциты, появлялись плазматические клетки.

Таким образом, сочетанное введение яда и таурина приводит к менее выраженным изменениям показателей периферической крови, чем изолированное введение яда, что по всей вероятности, обусловлено антиоксидантным, сосудостабилизирующим влиянием таурина. Последний активизирует защитно-компенсаторные механизмы организма. Однако установлено, что антиоксидантное действие таурина не обусловлено прямым действием последнего на ферментативные компоненты яда, или наличием сульфогруппы как носителя отрицательного заряда. Эффект вероятнее всего связан со свободным таурином, который вовлекается в процессы, развивающиеся в клеточных и сосудистых структурах при интоксикации [2, 11].

### Список литературы

1. Бурова И.И., Дошкина Г.Я., Шустова Т.И. Гипогликемическое действие таурина // Вест. мед. химии. — 1984. — Т. 3. — Вып. 6. — С. 15–17.
2. Восканян А.В., Антонян М.В., Геворкян С.С. Влияние гепарина, аспирина и таурина на развитие патологических процессов в организме при действии яда гюрзы // Вестник МАНЕБ. — 2005. — Т. 10, №5. — С. 214–215.



3. **Орлов Б.Н., Вальцева И.А.** Яды змей (токсикологические, биохимические и патофизиологические аспекты). — М.: Наука, 2002.

4. **Таркунов П.А., Сапронов Н.С.** Кардиопротекторное действие таурина // Экспериментальная и клиническая фармакология. — 1997. — Т. 60, №5. — С. 70—77.

5. **Anderzhanova E., Rayevsky K., Saransaari P., Oja S.** Effects of acute toxic doses of psychostimulants on extracellular levels of excitatory amino acids and taurine in rats: comparison of damphetamine and sydnocard // Ann. N.Y. Acad. Sci. — 2002. — Vol. 96(5). — P. 193—203.

6. **Aroch I., Harrus S.** Retrospective study of the epidemiological clinical, haematological and biochemical findings in 109 dogs poisoned by *Vipera xanthira palestinae* // Vet. Rec. — 1999. — Vol. 144(19). — P. 532—535.

7. **Chen Y.H., Hu C.T., Yang J.T.** Membrane disintegration and hemolysis of human erythrocytes by snake venom cardiotoxin (A membrane-destructive polypeptide) // Biochem. Int. — 1984. — Vol. 8. — P. 329—338.

8. **Ishizuka K., Miyamoto Y., Satsu H., Sato R., Shimizu M.** Characteristics of Lyso-phosphatidylcholine in Its

inhibition of Taurine Uptake by Human Intestinal Caco-2 Cells, BBB. 2002. — Vol. 66, №4. — P. 730.

9. **Miyazaki T., Matsuzaki Y., Ikegami T., Miyakawa S., Doy M., Tanaka N., Bouscarel B.** Optimal and effective oral dose of taurine to prolong exercise performance in rat // Amino Acids. — 2004. — Vol. 22, №10. — P. 241—245.

10. **Murina M.A., Fesenko V.I., Chudina N.A., Roshchupkin D.I.** Antithrombotic activity of N,N-dichlorotaurine on mouse model of thrombosis *in vivo* // Bull. Exp. Biol. Med. — 2002. — Vol. 134, №1. — P. 36—38.

11. **Voskanyan A.V.** Effect of aspirin, heparin and taurine on Levantine viper venom toxicity in rats *in vivo* // The 15<sup>th</sup> Taurine Meeting, June 12—15, Finland, 2005. — P. 116.

12. **Zhang Y., Xiong Y., Bon C.** An activator of blood coagulation factor X from thy venom of *Bungarus fasciatus* // Toxicon. — 1995. — Vol. 33. — P. 1277—1288.

Поступила 29.12.10

### Сведения об авторах:

**Геворкян Эмма Сергеевна** — канд. биол. наук., старш. науч. сотр. каф. физиологии человека и животных ЕГУ  
**Минасян Сирануш Минасовна** — д-р биол. наук, проф., зав. каф. физиологии человека и животных ЕГУ

Е.С. Лапикова<sup>1</sup>, Н.Н. Дрозд<sup>1</sup>, В.А. Макаров<sup>1</sup>, Т.Н. Звягинцева<sup>2</sup>,  
Н.М. Шевченко<sup>2</sup>, Т.А. Кузнецова<sup>3</sup>, Н.Н. Беседнова<sup>3</sup>

## **Влияние внутривенного введения фукоидана из бурой водоросли *Fucus Evanescens* на антикоагулянтную активность плазмы кроликов и нейтрализация сульфатом протамина антитромбиновой активности фукоиданов *in vitro***

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Гематологический научный центр»

Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 125167, Москва, Новый Зыковский пр-д, 4

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова  
Дальневосточного отделения Российской академии наук, 690022, Владивосток, пр-т 100 лет Владивостоку, 159

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии»  
Сибирского отделения РАМН, 690087, г. Владивосток, ул. Сельская, 1

С увеличением дозы фукоидана из *Fucus evanescens* от 1 до 5 мг/кг время свертывания плазмы в тесте АЧТВ увеличивается. Сульфат протамина в конечных концентрациях 0,67–1,35 мкг/мл нейтрализует антитромбиновую активность фукоиданов из бурых водорослей *Fucus evanescens* и *Laminaria cichorioides*. Гравиметрическое соотношение антидот/антикоагулянт для исследованных образцов составляет 1.

**Ключевые слова:** фукоидан, антитромбиновая активность, активность против фактора Ха, сульфат протамина, нейтрализация антитромбиновой активности

E.S. Lapikova<sup>1</sup>, N.N. Drozd<sup>1</sup>, V.A. Makarov<sup>1</sup>, T.N. Zvyagintseva<sup>2</sup>,  
N.M. Shevchenko<sup>2</sup>, T.A. Kuznetsova<sup>3</sup>, N.N. Besednova<sup>3</sup>

## **Influence of intravenous injection of fucoidan from brown seaweed *Fucus Evanescens* by plasma rabbits anticoagulant activity and neutralisation by sulphate protamin of fucoidans antithrombin activity *in vitro***

<sup>1</sup> National Research Center for Hematology of RAMS, 4A, Novozykovsky, Moscow, 125167, Russia

<sup>2</sup> Pacific Institute of Bioorganic Chemistry, Far Eastern Branch of the RAS, 159, 100-letya Vladivostoka prospekt, Vladivostok, 690022, Russia

<sup>3</sup> Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Siberian Branch of RAMS, 1, Selskaya str., Vladivostok, 690087, Russia

With fucoidan from *Fucus evanescens* dose increase from 1 to 5 mg/kg plasma coagulation time in test АЧТВ increases. Sulphate protamin in final concentration 0,67–1,35 mkg/ml will neutralise antithrombin activity of fucoidans from brown seaweed *Fucus evanescens* and *Laminaria cichorioides*. The gravimetric relation for the investigated samples makes an antidot/anticoagulant 1.

Профилактика и лечение тромботических состояний остаются серьезной проблемой. В мире широко используют такие сульфатированные полисахариды животного происхождения, как нефракционированный (НФГ) и низкомолекулярный гепарин (НМГ) [17]. Однако они обладают рядом побочных эффектов [2, 4, 9, 10], поэтому необходим поиск новых источников веществ с антикоагулянтной (АК) и анти-тромботической активностями.

**Для корреспонденции:** Дрозд Наталья Николаевна, д-р биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. патологии и фармакологии гемостаза, ФГБУ «ГНЦ» Минздравсоцразвития Российской Федерации. E-mail: nndrozd@mail.ru

### **Цели исследования:**

- 1) оценка фармакодинамических параметров нативного фукоидана из бурой водоросли *Fucus evanescens*;
- 2) нейтрализация АК эффекта фукоиданов из бурых водорослей *Fucus evanescens* и *Laminaria cichorioides* сульфатом протамина *in vitro*.

### **Методика**

Фукоиданы из бурых водорослей *Laminaria cichorioides* (фукуидан 1), *Fucus evanescens* (фукуидан 2) выделяли по методу [11]. Специфические активности фукуидана 1 составили: антитромбиновая (aIIa) 43±8 ЕД/мг, анти-фактор Ха (aХа) 31±8 ЕД/мг; для фукуидана 2: aIIa

—  $60 \pm 11$  ЕД/мл; аХа —  $48 \pm 8$  ЕД/мл [1]. Фукуидан 2 вводили кроликам в краевую вену левого уха в дозах от 1 до 5 мг/кг. Кровь из краевой вены правого уха отбирали каждые 5, 15, 30, 60, 120 и 180 мин, собирая капли из надреза в пластиковую пробирку с 0,11 М раствором цитрата натрия в соотношении 9:1. Для получения бедной тромбоцитами плазмы кровь центрифугировали при 1400g 20 мин. Антикоагулянтную активность плазмы кроликов определяли в коагулологических тестах активированного частичного тромбопластинового времени (АЧТВ, оценка влияния на внутренний путь свертывания крови) и с помощью набора РеаКлот-Гепарин НПО «Ренам» (оценка влияния на активность фактора Ха) [3]. Для расчета специфических антитромбиновой (аIIa) и анти-фактора Ха (аХа) активностей использовали калибровочные кривые 5-го Международного стандарта НФГ. Нейтрализацию сульфатом протамина (ПС, «Sigma») аIIa активности НФГ (Changzhou Qianhong Bio-Pharm Co. LTD, Китай) и фукуиданов 1 и 2 исследовали в тесте АЧТВ (НПО «Ренам»). Стандартная процедура заключалась в следующем: образцы АК (растворенные в 0,05 М Трис-НСl буфере, содержащем 0,15 М NaCl, pH 7,4) в конечных концентрациях 0,067—6,730 мкг/мл смешивали с 30 мкл плазмы, инкубировали в течение 1 мин при 37°C, затем добавляли ПС в конечных концентрациях 0,067—6,730 мкг/мл, повторно инкубировали 1 мин при 37°C и добавляли 30 мкл АЧТВ реагента. После инкубации 1 мин при 37°C добавляли 30 мкл 0,025М CaCl<sub>2</sub>.

Оценку значимости различий двух средних арифметических, принадлежащих рядам экспериментальных данных, проводили по t критерию Стьюдента.

## Результаты и обсуждение

Время появления фибринового сгустка плазмы кроликов через 5 мин (максимальный антикоагулянтный эффект) после внутривенного введения фукуидана 2 в дозах 1, 3 и 5 мг/кг увеличивается до  $22,9 \pm 2,4$ ;  $37,2 \pm 3,1$  и  $59,0 \pm 13,5$  с (до введения антикоагулянта:  $17,1 \pm 0,7$  с, в определении по АЧТВ), соответственно и до  $32,8 \pm 4,9$ ;  $53,1 \pm 7,8$ ;  $116,1 \pm 35,7$  с (до введения антикоагулянта:  $19,9 \pm 2,6$  с, в определении по РеаКлот-Гепарин), соответственно (табл.). С увеличением дозы (2) возрастают: время действия (с 15 до 180 мин), аIIa и аХа активности плазмы. Максимальные аIIa и аХа достигают  $1,9 \pm 0,4$  ЕД/мл (что совпадает с аIIa кроликов при внутривенном введении НФГ в дозе 55 аIIa ЕД/кг [9]) и  $1,03 \pm 0,3$  ЕД/мл (через 5 мин после введения в дозе 5 мг/кг), соответственно. Следует отметить, что через 5 мин после введения фукуидана 2 в дозах 1, 3 и 5 мг/кг активность плазмы против фактора Ха достигает величин рекомендуемых Международным комитетом по тромбозам и гемостазу для профилактики (0,15—0,35 ЕД/мл) и лечения (0,35—0,70 ЕД/мл) тромбозов [7].

Для нейтрализации АК активности гепаринов используют антидоты — сульфат протамина и полибрен — поликатионы, которые образуют комплексы с НФГ на

Таблица.

Антикоагулянтная активность плазмы кроликов после внутривенного введения фукуидана из *Fucus evanescens*

АЧТВ тест, с		Время после введения, мин							
Доза, мг/мл	Время свертывания (с) или активность (ЕД/мл)	0	5	15	30	60	120	180	
1	I	$17,1 \pm 0,7$	$22,9 \pm 2,4^*$	$21,4 \pm 1,2^*$	$18,1 \pm 1,3$	$15,3 \pm 0,7$	$16,3 \pm 0,6$	НО**	
	II	0	$0,58 \pm 0,14^*$	$0,48 \pm 0,13^*$	$0,22 \pm 0,06^*$	0	0		
3	I	$17,1 \pm 0,7$	$37,2 \pm 3,1^*$	$34,9 \pm 3,2^*$	$30,1 \pm 3,3^*$	$22,0 \pm 1,7$	$21,5 \pm 1,2$	НО**	
	II	0	$1,28 \pm 0,13^*$	$1,2 \pm 0,15^*$	$1,0 \pm 0,19^*$	$0,52 \pm 0,12^*$	$0,48 \pm 0,12^*$		
5	I	$17,1 \pm 0,7$	$59,0 \pm 13,5^*$	$59,1 \pm 12,8^*$	$53,0 \pm 10,5^*$	$37,9 \pm 5,0^*$	$29,5 \pm 3,5^*$	$16,5 \pm 2,8^*$	
	II	0	$1,9 \pm 0,4^*$	$1,92 \pm 0,4^*$	$1,8 \pm 0,44^*$	$1,32 \pm 0,36^*$	$0,96 \pm 0,27^*$	$0,09 \pm 0,03^*$	
РеаКлот — гепарин тест, с									
1	I	$19,9 \pm 2,6$	$32,8 \pm 4,9^*$	$25,4 \pm 5,5^*$	$24,1 \pm 2,2$	$15,4 \pm 1,7$	$16,4 \pm 2,0$	НО**	
	II	0	$0,31 \pm 0,1^*$	$0,16 \pm 0,08^*$	$0,14 \pm 0,03^*$	0	0		
3	I	$19,9 \pm 2,6$	$53,1 \pm 7,8^*$	$36,0 \pm 4,1^*$	$31,9 \pm 3,9^*$	$21,7 \pm 1,7$	$18,0 \pm 1,1$	НО**	
	II	0	$0,58 \pm 0,1^*$	$0,37 \pm 0,1^*$	$0,3 \pm 0,1^*$	$0,07 \pm 0,01^*$	0		
5	I	$19,9 \pm 2,6$	$116,1 \pm 35,7^*$	$52,4 \pm 14,3^*$	$45,7 \pm 9,0^*$	$30,8 \pm 4,2^*$	$16,4 \pm 2,8^*$	$13,2 \pm 0,8^*$	
	II	0	$1,03 \pm 0,3^*$	$0,58 \pm 0,2^*$	$0,5 \pm 0,2^*$	$0,3 \pm 0,1^*$	0	0	

Примечание. \* —  $p < 0,05$ , достоверность различий с данными до введения антикоагулянтов; результаты представлены как средние арифметические со стандартной ошибкой среднего арифметического; (n составляет 6—8 кроликов); НО\*\* — не определяли, так как действие вещества закончилось; I — время свертывания плазмы кроликов (с) при внутривенном введении фукуидана из *Fucus evanescens* в дозах 1, 3 и 5 мг/кг; II — антитромбиновая (аIIa) активность плазмы (ЕД/мл) кроликов после внутривенного введения фукуидана из *Fucus evanescens* в дозах 1, 3 и 5 мг/кг; II' — активность плазмы кроликов против фактора Ха (аХа) активность, ЕД/мл) после внутривенного введения фукуидана из *Fucus evanescens* в дозах 1, 3 и 5 мг/кг

основе электростатического взаимодействия [5, 6, 8]. Известно, что 1 мг ПС нейтрализует 100 ЕД (0,53—0,83 мг) НФГ [7]. Нами показано, что в среднем гравиметрическое соотношение для нейтрализации НФГ составляет 0,96 (данные не представлены).

С увеличением концентрации фукуидана 2 (без ПС) аАа активность увеличивается с  $0,5 \pm 0,3$  до  $2,8 \pm 0,5$  ЕД/мл. ПС в конечной концентрации 6,73 мкг/мл нейтрализует аАа активность (2) в конечной концентрации 6,73 мкг/мл. Анти-Аа активность в пробах с (2) в концентрациях от 1,35 до 4,51 мкг/мл не меняется при добавлении ПС в концентрациях от 0,0673 до 6,73 мкг/мл. При добавлении ПС в концентрации 6,73 мкг/мл наблюдали достоверное ( $p < 0,05$ ) снижение аАа активности (2) в концентрации 6,73 мкг/мл до  $1,5 \pm 0,2$  в сравнении с контролем без ПС —  $2,8 \pm 0,5$  ЕД/мл. При гравиметрическом соотношении 6,73 мкг ПС/6,73 мкг (2) = 1 достоверно на 46,4% снижается аАа активность фукуидана 2 в концентрации 6,73 мкг/мл. Сульфат протамина в конечных концентрациях 0,673; 0,841; 0,963; 1,12 и 1,35 мкг/мл нейтрализует аАа активность фукуидана 1 в концентрациях 0,673; 0,841; 0,963; 1,35 и 1,68 мкг/мл. В пробах без ПС аАа активность возрастает от  $1,6 \pm 0,7$  до  $11,8 \pm 0,5$  ЕД/мл с увеличением конечной концентрации фукуидана 1. При добавлении ПС в концентрациях 0,673 и 1,35 мкг/мл достоверно ( $p = 0,045$  и  $p = 0,008$ ) снижается аАа активность фукуидана 1 в концентрации 0,673 мкг/мл до  $2,2 \pm 0,9$  и  $2,6 \pm 0,8$  ЕД/мл в сравнении с контролем без ПС —  $5,0 \pm 0,4$  ЕД/мл. В диапазоне концентраций от 0,673 до 1,68 мкг/мл отмечено достоверное снижение аАа активности (1) на 66,4%.

Таким образом, при внутривенном введении кроликам фукуидана 2, выделенного из водоросли *Fucus evanescens*, с увеличением дозы с 1 до 5 мг/кг, наряду со временем свертывания плазмы в коагулологических тестах АЧТВ, Реаклот — гепарин, возрастают антитромбиновая (аАа), анти-фактор Ха (аХа) активность плазмы и время действия. Судя по величине аХа активности плазмы, введение фукуидана в дозе 1 мг/кг можно использовать для профилактики, а в дозах 3 и 5 мг/кг — для лечения венозного экспериментального тромбоза у кроликов. Антитромбиновую активность фукуиданов, выделенных из бурых водо-

рослей *Laminaria cichorioides* (фукуидан 1), *Fucus evanescens* (фукуидан 2), нейтрализует (*in vitro*) классический антидот для НФГ — сульфат протамина. Величина гравиметрического соотношения антидот/антикоагулянт совпадает с таковой для нефракционированного гепарина [5], что позволяет надеяться на успешное использование сульфата протамина в исследованиях *in vivo*.

### Список литературы

1. Дрозд Н.Н., Толстенков А.С., Макаров В.А. и др. Фармакодинамические параметры антикоагулянтов на основе сульфатированных полисахаридов из морских водорослей // Бюлл. Эксп. Биол. Мед. — 2006. — Т. 142, №11. — С. 537—540.
2. Aster R.H. Heparin-induced immune thrombocytopenia — a clinical or laboratory diagnosis? // J. Thromb. Haemost. — 2006. — Vol. 4, №4. — P. 757—758.
3. Bates S.M., Weitz J.I. Coagulation assays // Circulation. — 2005. — Vol. 112, №4. — P. 53—60.
4. Clowes A.W., Karnovsky M.J. Suppression by heparin of smooth muscle cell proliferation in injured arteries // Nature. — 1977. — Vol. 265, №5595. — P. 625—626.
5. Cumming A.M., Jones G.R., Wensley R.T., Cundall R.B. In vitro neutralization of heparin in plasma prior to the activated partial thromboplastin time test: an assessment of four heparin antagonists and two anion exchange resins // Thromb. Res. — 1986. — Vol. 41, №1. — P. 43—56.
6. Dellagrammaticas D., Lewis S.C., Gough M.J. Is heparin reversal with protamine after carotid endarterectomy dangerous? // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. — 2008. — Vol. 36, №1. — P. 41—44.
7. Fourtounas C. Pharmacodynamics of unfractionated heparin during and after a hemodialysis session: the impact of the administered dose // Am. J. Kidney Dis. — 2008. — Vol. 52, №4. — P. 805—806.
8. Jacobsen E.M., Trettenes E.J., Wisloff F., Abildgaard U. Detection and quantification of lupus anticoagulants in plasma from heparin treated patients, using addition of polybrene // Thrombosis Journal. — 2006. — №4. — P. 3—7.
9. Rajgopal R., Bear M., Buther M.K., Shaughnessy S.G. The effects of heparin and low molecular weight heparins on bone // Thromb Res. — 2008. — Vol. 122, №3. — P. 293—298.
10. Rich J.D., Maraganore J.M., Young E. et al. Heparin resistance in acute coronary syndromes // J. Thromb. Thrombolysis. — 2007. — Vol. 23, №2. — P. 93—100.
11. Zvyagintseva T.N., Shevchenko N.M., Chizhov A.O. et al. Water-soluble polysaccharides of some far-eastern brown seaweeds. Distribution, structure, and their dependence on the developmental conditions // J. Exp. marine Biol. Ecol. — 2003. — Vol. 294, №1. — P. 1—13.

Поступила 22.04.11

### Сведения об авторах:

Лапикова Елена Сергеевна — канд. биол. наук, лаб. патологии и фармакологии гемостаза ФГБУ «ГНЦ» Минздравсоцразвития Российской Федерации

Макаров Владимир Александрович — д-р мед. наук, проф., зав. лаб. патологии и фармакологии гемостаза ФГБУ «ГНЦ» Минздравсоцразвития Российской Федерации

Звягинцева Татьяна Николаевна — д-р хим. наук, проф., зав. лаб. химии ферментов ФГБУН «ТИБОХ» ДВО РАН

Шевченко Наталья Михайловна — канд. хим. наук, старш. науч. сотр. лаб. химии ферментов ФГБУН «ТИБОХ» ДВО РАН

Кузнецова Татьяна Алексеевна — д-р мед. наук, вед. науч. сотр. ФГБУ «НИИ ЭМ» СО РАМН

Беседнова Наталия Николаевна — д-р мед. наук, акад. РАМН, проф., дир. ФГБУ «НИИ ЭМ» СО РАМН

Ю.А. Меркулов<sup>1,2</sup>, С.С. Никитин<sup>2</sup>, А.А. Онсин<sup>1</sup>, А.В. Шаповалов<sup>2</sup>,  
А.Л. Щербенкова<sup>1</sup>, Д.М. Меркулова<sup>1,2</sup>

## **Патофизиологические особенности развития дорсалгии у работников железнодорожного транспорта, связанных с движением поездов**

<sup>1</sup> Неврологический центр им. проф. Б.М. Гехта ЦКБ №2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД», 129128, Москва, ул. Лосиноостровская, 43

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

*Дорсалгия является актуальной проблемой медицинского и социального характера. Особенную значимость она приобретает у работников железнодорожного транспорта, связанных с движением поездов. Болевые синдромы у данной категории пациентов имеют разные сложные патогенетические механизмы развития. Во многом отмечено ухудшение статуса пациентов в связи с сопутствующими состояниями тревоги и депрессии. Дорсалгия нередко сопровождается остеопорозом и вегетативно-трофическими нарушениями.*

**Ключевые слова:** боль в спине, дорсалгия, движение поездов, патогенез, патофизиология, тревога, депрессия, радикулопатия, мышечно-тонический синдром, вегетативно-трофические нарушения

Yu.A. Merkulov<sup>1,2</sup>, S.S. Nikitin<sup>2</sup>, A.A. Onsin<sup>1</sup>, A.V. Shapovalov<sup>2</sup>,  
A.L. Shcherbenkova<sup>1</sup>, D.M. Merkulova<sup>1,2</sup>

## **Patophysiological features of dorsalgia development among railway workers, connected with railway communication**

<sup>1</sup> B.M. Gekht Neurology Center of the Healthcare Department of the JSC «Russian Railways»

<sup>2</sup> The Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS

*Dorsalgia's is an actual medical and social problem. It gains prominent significance among railway workers, connected with railway communication. Pain syndromes among this group of patients have different complex pathogenetic mechanisms of the development. In a great number of cases it is usually seen the worsening of the condition in connection to concomitant anxiety and depression. There are also concomitant osteoporosis and autonomic trophical disturbances.*

**Key words:** back pain, dorsalgia, railway communication, pathogenesis, pathophysiology, anxiety, depression, radiculopathy, musculo-tonic syndrome, autonomic trophic disturbances

### **Обзор данных литературы**

Спондилогенные поражения нервной системы — самые распространенные хронические заболевания человека. Неврологические проявления поясничного остеохондроза составляют 60—70% среди всех заболеваний периферической нервной системы (ПНС) и являются причиной 70% случаев временной утраты трудоспособности [6, 8, 18, 29, 30]. Первичное обращение в поликлинику по поводу шейных синдромов остеохондроза — около 12% по отношению ко всем неврологическим больным. Поражения пояснично-крестцового отдела

позвоночника диагностируются у 50% рабочих крупных промышленных предприятий причем свыше 80% ежегодных трудопотерь приходится на лиц уже ранее перенесших обострения поясничной боли с временной утратой трудоспособности [5, 11, 19].

Неврологические осложнения остеохондроза занимают 2-е—3-е место среди причин инвалидности вследствие заболеваний нервной системы (около 17%), причем ведущей является дискогенная пояснично-крестцовая радикулопатия. Ограниченно трудоспособны около 45% больных задним шейным симпатическим синдромом. Выраженные клинические проявления, наблюдаются в период активной трудовой деятельности (в возрасте 25—55 лет), чаще у мужчин, лиц физического труда. Экономические потери в связи с вертеброгенными заболеваниями очень велики во всех странах [34].

**Для корреспонденции:** Меркулова Дина Мироновна, д-р мед. наук, проф. зав. Неврологическим центром НУЗ ЦКБ №2 им. Н.А. Семашко ОАО РЖД, зав. лаб. нервно-мышечной патологии человека ФГБУ «НИИОПП» РАМН. E-mail: ncrzd@centrgehta.ru

В системе железнодорожного транспорта заболевания опорно-двигательного аппарата вместе с заболеваниями периферической нервной системы, занимают четвертое место среди разных форм профессиональной патологии. На 100 профзаболеваний приходится 8 случаев подобных заболеваний [10, 21, 25, 26].

В системе ОАО «РЖД» и транспортном строительстве профессиональные заболевания опорно-двигательного аппарата и периферической нервной системы наиболее часто наблюдаются у работников следующих профессиях: машинистов локомотивов, монтеров пути, проходчиков, маляров, бетонщиков, изолировщиков, слесарей, токарей, котельщиков, кузнецов, сварщиков, рабочих литейно-механических цехов. При этом больше половины заболеваний приходится на работников следующих групп (в нисходящем порядке): проходчиков, изолировщиков, маляров, машинистов локомотивов и монтеров пути.

Одной из центральных профессий на железнодорожном транспорте является машинист локомотива. Возникновению остеохондроза позвоночника, деформирующего спондилёза и радикулопатии способствуют вибрация и фиксированная рабочая поза. Роль вибрации, вынужденной позы в возникновении дистрофических изменений позвоночника с радикулопатией, в частности у водителей различных транспортных средств, установлена в ряде исследований [10, 21, 26].

Нами было проведено обследование более тысячи работников локомотивных бригад, результатом которого стал следующий вывод: остеохондроз и другие дистрофические изменения позвоночника в выраженной распространённой форме у работников локомотивных бригад имеют место значительно чаще, чем в контрольной группе (таблица).

Радикулопатия, люмбагия и цервикалгия имеют место примерно у каждого третьего работника локомотивных бригад, что в 1,3 раза чаще, чем в адекватной контрольной группе. Все виды радикулопатии у машинистов встречаются чаще, чем в адекватной по возрасту группе помощников. По-видимому, это связано с большим стажем работы на локомотиве при одном и том же возрасте машинистов.

Остеохондроз позвоночника и радикулопатии широко распространены в популяции, и возникают без воз-

действия вредных профессиональных факторов [1, 3, 4, 9, 15]. В связи с этим необходимо учитывать следующие особенности радикулопатии у машинистов:

более частая встречаемость двусторонних поражений как при шейно-грудной, так и при пояснично-крестцовой локализации (около 20% среди больных радикулопатией);

- частые и выраженные обострения (у 50% — 2 раза в год и более);
- наличие полиневритических расстройств чувствительности на руках (7%) и ногах (28%);
- дистальные вегетативно-трофические расстройства конечностей (26%);
- особый оттенок болей, типа симпаталгий, нередко затылочного характера;
- независимо от локализации корешкового синдрома характерна большая распространенность дегенеративных изменений во всех отделах позвоночника.

У машинистов локомотивов возможны варианты сочетания профессиональной патологии позвоночника и радикулопатии с вибрационной болезнью. Если ведущей в клинической картине является радикулопатия на фоне остеохондроза и деформирующего спондилёза, а признаки воздействия вибрации на конечности находятся на стадии предболезни, ставится диагноз: деформирующий спондилёз (остеохондроз), радикулопатия (пояснично-крестцовая и/или шейно-грудная и т.п.), заболевание профессиональное. Если же в клинической картине имеются выраженные синдромы вибрационной болезни (со стороны конечностей, вестибулопатия и др.), то наличие деформирующего спондилёза (остеохондроза) с радикулопатией входит в диагноз вибрационная болезнь (в развёрнутом диагнозе фигурируют поражения позвоночника и радикулопатия как составляющие) [2, 12, 14].

Как известно, вертеброгенные синдромы, несмотря на свое разнообразие, разыгрываются как бы по общему сценарию. Появляется боль, с нарушением подвижности в соответствующем отделе позвоночника возникает вертебральный синдром. Затем болевые, двигательные и другие нарушения появляются в руке (при шейном поражении) или в ноге (при поясничном поражении). В связи с этим при шейной патологии говорят о цервикомембральных синдромах при пояснично-та-

Таблица

Распространенность дистрофических изменений позвоночника у работников локомотивных бригад и у лиц контрольной группы (187 чел.)

Распространенность патологических изменений позвоночника	Частота поражения позвоночника, %		
	Работники локомотивных бригад, страдающие радикулопатией	Работники локомотивных бригад, не страдающие радикулопатией	Больные радикулитами, не подвергающиеся действию вибрации
Поражение одного отдела	21,3	33,3	30,8
Поражение двух отделов	34,7	41,7	45,4
Поражение всех отделов	41,3	13,9	7,7

зовой — о пельвиомембральных синдромах. Термины «вертебральный» или «мембральный» мало раскрывают клиническую или патогенетическую суть синдрома, они лишь указывают на его локализацию. Недостаточно раскрывается эта суть и в терминах «прострел», «цервикалгия», «люмбалгия». Патогенетическая и клиническая суть синдромов становится значительно конкретнее при рассмотрении рефлекторных и компрессионных вариантов [20, 22].

### Рефлекторные синдромы

Патологические импульсы с рецепторов пораженных тканей ПДС становятся источником моторных, вазомоторных и других рефлексов. Наиболее богато снабжена болевыми рецепторами задняя продольная связка. Эти рецепторы связаны с обратной менингеальной ветвью (синвертебральный нерв Люшка), которая от спинального ганглия возвращается через межпозвонковое отверстие в позвоночный канал. Выпячивающийся диск или задние «остеофиты» отжимают связку, создавая здесь очаг раздражения. Отсюда, а также из фиброзного кольца диска, надкостницы позвонков, других связок и суставных капсул патологические импульсы следуют через задний корешок в спинной мозг, где переключаются на передний и боковой рога. Далее они следуют к поперечнополосатым мышцам, вызывая их рефлекторное напряжение (дефанс), мышечно-тонический рефлекс, вазомоторные и другие висцеральные рефлексы, к гладким мышцам, включая сосудистые, к висцеральным органам (вазомоторные и другие висцеральные рефлексы). Под влиянием продолжительной импульсации ткани, особенно скудно кровоснабжаемые, претерпевают дистрофические изменения. Это касается в первую очередь связок, сухожилий и других фиброзных тканей, прикрепляющихся к костным выступам, особенно в зонах, близких к суставам. Эти ткани в условиях перегрузки и микротравматизации получают как бы патологическую импульсацию из пораженного позвоночника. В указанных зонах коллагеновые волокна истончаются, наблюдается разволокнение вплоть до фрагментации, разрывы, а также гиалиноз; содержание воды в них уменьшается, изменение коллагена сочетается с одновременным снижением гексозаминов и общих гексоз. Этот нейродистрофический процесс определяют как нейроостеофиброз [1, 4, 20].

Таким образом, вертеброгенные рефлекторные синдромы подразделяют на мышечно-тонические, нейрососудистые и нейродистрофические (нейроостеофиброз).

Компрессионные синдромы обусловлены более простым процессом — механическим воздействием грыжевого выпячивания, костных разрастаний или другой патологической структуры на корешки, спин-

ной мозг или какой-либо сосуд. Сдавливаются не только сами нервные волокна или клетки, но и кровоснабжающие их сосуды. Такой патологический процесс не является ни воспалительным, ни первично дегенеративным, и его обозначают как невро- или миелопатию. При воздействии на сосуды, кровоснабжающие спинной мозг, возможна миелопатия без какого-либо механического повреждения самого спинного мозга. При воздействии на позвоночную артерию вначале повреждается ее симпатическое сплетение, и говорят о функциональной (вазомоторной) стадии синдрома позвоночной артерии. При грубой компрессии возможна и ишемия кровоснабжаемых этой артерией отделов мозга [23, 28, 31].

Наряду с рефлекторными существуют и компрессионные синдромы: корешковые (радикулопатии), спинальные (миелопатии) и нейрососудистые синдромы позвоночной артерии [8, 9, 16, 17, 37].

Под влиянием описанных мышечно-тонических, нейро-дистрофических и других изменений тканей самого позвоночника меняются его конфигурация и положение тела. Такая деформация позвоночника, особенно его поясничного отдела, неизбежно сказывается на состоянии мышц конечностей: одни оказываются растянутыми, у других точки прикрепления сближаются. В растянутых мышцах и сухожилиях легко развиваются миофиброз и нейроостеофиброз под влиянием импульсов из пораженного позвоночника. Синдромы, обусловленные изменением позы позвоночника, называют позными миоадаптивными синдромами. Возможна адаптация и по другому механизму — викарному: при компрессии корешка в условиях атрофии и слабости одних мышц в других развивается викарная гипертрофия [15, 36].

Вибрационная болезнь (ВБ) — заболевание, обусловленное длительным воздействием вибрации. Вибрация представляет собой механическое колебательное движение повторяющееся через определенные промежутки времени. Основными параметрами вибрации являются частота и амплитуда колебаний, а также их производные — скорость и ускорение. Вибрацию делят на локальную (от ручных инструментов) и общую (от станков, оборудования, движущихся машин). В производственных условиях часто имеет место сочетание локальной и общей вибрации. Воздействию чаще вибрации подвергаются лесорубы, проходчики, бетонщики, трактористы и представители многих других профессий. Вибрация вызывает хроническую микротравматизацию периферических вегетативных образований и периваскулярных сплетений с последующим нарушением кровоснабжения, микроциркуляции и трофики тканей. В некоторых случаях под влиянием интенсивной вибрации или взрыва возникает острое поражение — вибротравма, клиниче-

ски проявляющаяся нарушением функций внутреннего уха, сотрясением мозга и изменениями в других органах и тканях [2, 10].

Клиническая симптоматика ВБ складывается из периферических нейрососудистых расстройств и трофических нарушений в мышцах и костях конечностей, плечевого пояса. Заболевание развивается спустя 3—15 лет работы в условиях вибрации. Основными клиническими синдромами являются периферический ангиодистонический синдром, синдром акроспазма (синдром Рейно) и сенсорная (вегетативно-сенсорная) полиневропатия конечностей (рук или ног в зависимости от воздействия локальной или общей вибрации). Характерны жалобы на зябкость, парестезии конечностей, изменение цвета кожи пальцев рук при охлаждении (они белеют или становятся синюшными), снижение силы в руках, судороги в кистях, стопах и икроножных мышцах. Наблюдаются гипотермия, цианоз и гипергидроз конечностей, трофические изменения кожи (гиперкератоз) и ногтей (утолщение, деформация или истончение ногтевых пластинок), отечность или пастозность кистей с тугоподвижностью пальцев рук. При прогрессировании заболевания частота и длительность ангиоспазмов увеличиваются. При воздействии общей вибрации отмечается снижение пульсации артерий на тыльной поверхности стоп и голени. Характерным симптомом является повышение порога вибрационной, болевой, температурной, реже тактильной чувствительности. Нарушение чувствительности имеет полиневритический характер. По мере прогрессирования заболевания выявляются сегментарная гипалгезия и дистрофические нарушения опорно-двигательного аппарата. Наряду с болями в мышцах конечностей и плечевого пояса определяются уплотнения, тягистость, очаговая крепитация. При длительном (15 лет и более) воздействии общей вибрации (чаще всего у трактористов, бульдозеристов и экскаваторщиков) нередко возникают дистрофические изменения в позвоночнике (остеохондроз, деформирующий остеоартроз пояснично-крестцового, реже шейно-грудного отдела) с вторичным корешковым синдромом. Периферические нервно-сосудистые и трофические нарушения нередко сочетаются с функциональными изменениями ЦНС, которые проявляются в виде церебрального ангиодистонического или неврастенического синдрома. Эти нарушения наиболее выражены при ВБ, обусловленной воздействием общей вибрации.

Наиболее частой причиной возникновения профессиональных заболеваний опорно-двигательного аппарата у работников железнодорожного транспорта, как и в популяции в целом, (в сочетании с поражением периферической нервной системы или без него) является физическое перенапряжение. В основе таких заболеваний лежат тяжёлая статическая или кинетическая фи-

зическая нагрузка и стереотипные, в быстром темпе, продолжительные локальные движения. В ряде случаев существенны вибрация и толчки, вынужденно неудобная поза. Принимаются во внимание в качестве дополнительных факторов неблагоприятные климатические и микроклиматические воздействия, макро- и микротравматизация, механическое давление на определённые участки тела. Немаловажное значение имеет изменение температуры окружающей среды, повышенные шум, запыленность и загазованность; механическое давление на определённые участки тела; посменная работа (в том числе и в ночное время). Наряду с этим, важнейшую роль играют повышенные психоэмоциональные нагрузки, необходимость длительно сохранять повышенную концентрацию внимания для обеспечения безопасности перевозок. Сочетание вышеуказанных неблагоприятных факторов приводит, в ряде случаев, к развитию болевого синдрома или дискомфорта в спине и конечностях, приводящих к снижению работоспособности, внимания, скорости принятия решений и реакции, т.е. функционального состояния (ФС) человека. Указанные обстоятельства могут привести в конечном итоге к снижению безопасности перевозок [13, 16, 24, 27, 35].

Существуют различные подходы и нормативы в отношении перечисленных факторов. Например, при стереотипных движениях отдельных частей руки считается, что опасно, т.е. вызывает переутомление, выполнение более 40 тысяч движений за смену при усилии, равном 10—15% от максимальной производственной силы. В рабочей позе имеет значение как сама поза, так и длительность её сохранения без изменений. Наиболее опасной является вибрация с частотой 16—250 Гц. Порог восприятия виброскорости  $10^{-4}$  м/с. Виброскорость 1 м/с и более вызывает болевые ощущения. Характер и уровни вибрации на различных производственных участках и рабочих местах у работников различных профессий железнодорожного транспорта и примыкающих к нему отраслей и производств существенно разнятся, но часто вибрация здесь превышает предельно допустимые уровни. Есть участки с локальной, общей и смешанной вибрацией, вибрацией с дополнительными толчками; с низкочастотной, высокочастотной и одновременно с тем и другим типом вибрации. Например, наибольшая виброопасность у работающих на локомотиве. Здесь имеются все указанные виды вибрации, действующие на организм сочетано. Современные локомотивы выпускают с уровнями вибрации в пределах ПДУ. Но даже в этом случае в процессе эксплуатации вибрация начинает постепенно превышать ПДУ. Поражаются: кости, суставы, сухожилия, мышцы, нервы [2, 10].

Нельзя не обратить внимание ещё на один аспект. Для возникновения большинства профессиональных



заболеваний опорно-двигательного аппарата требуется значительный стаж работы в соответствующей профессии. Течение профзаболеваний, как правило, хроническое, медленно прогрессирующее.

Обобщая ранее сказанное, следует подчеркнуть, что для разных заболеваний опорно-двигательного аппарата и периферической нервной системы наиболее характерны такие признаки, как боли, парестезии, слабость и утомляемость определенных групп мышц, ограничение движений; выявляемые при осмотре изменения позы, цвета кожи, атрофия мышц, деформация суставов; пальпаторно уплотнения в мышцах; повышение механической возбудимости мышц, нарушения биоэлектрической активности и электровозбудимости; нарушения чувствительности [7, 17, 32].

### Собственные данные.

#### Пациенты и методы

В Неврологическом центре им. проф. Б.М. Гехта ЦКБ №2 им. Н.А. Семашко ОАО «РЖД», являющемся клинической базой лаб. нервно-мышечной патологии человека ФГБУ НИИОПП РАМН, изучение закономерностей формирования дорсальных болевых синдромов у работников железнодорожного транспорта входит в число приоритетных научно-исследовательских разработок.

Сотрудниками Центра к настоящему времени проведены комплексные клинические и нейропатологические обследования 60 работников железнодорожного транспорта (из них — 32 машиниста), а также 43 здоровых испытуемых группы контроля, сопоставимых по полу и возрасту.

#### Результаты и обсуждение

В результате проведенных исследований признаки хронической дорсалгии были выявлены у 67% обследованных. Анализ клинической симптоматики позволил диагностировать у пациентов основной группы наличие следующих ключевых неврологических синдромов, лежащих в основе формирования патологической боли в нижней части спины:

- хронический корешковый L2-L4 синдром — в 7% случаев;
- хронический корешковый L5 синдром — 11% случаев;
- хронический корешковый S1 синдром — 15% случаев;
- хронический корешковый L5-S1 синдром — 27% случаев;
- миофасциальный болевой синдром — 40% случаев.

Дополнительно, по данным рентгенологических методов исследования в основной группе в 100% случаев были выявлены признаки остеохондроза пояснично-крестцового отдела позвоночника, множественные

грыжи межпозвонковых дисков с протрузией до 3 мм в 78% случаев без признаков компрессии спинномозговых корешков и дурального мешка. Грыжи диска более 3 мм были выявлены у 18% больных и статистически значимо коррелировали с выраженностью клинически выявляемого корешкового синдрома.

С целью уточнения характера и уровня поражения клинически вовлеченных нервно-мышечных структур, всем больным было проведено детальное ЭМГ исследование по методике стимуляционной электромиографии с анализом характеристик М-ответов, резидуальной латентности, скорости распространения возбуждения, Н-рефлекса и F-волн. Изменение искомым нейрофизиологических показателей было отмечено у 42% больных и значимо коррелировало с выраженностью клинической неврологической симптоматики и болевого синдрома.

Результаты проведенного обследования доказали количественное преобладание выраженности и распространенности клинических и нейропатологических проявлений миофасциальных, мышечно-тонических и радикулярных симптомов, а также выраженности и распространенности нейродегенеративных изменений позвоночника у работников локомотивных бригад в сопоставлении с пациентами группы сравнения. Наряду с этим, было выявлено и качественное различие в клиническом и рентгенологическом проявлении миофасциальных, мышечно-тонических и радикулярных симптомов у работников локомотивных бригад в виде наличия у них признаков остеопороза и вегетативно-трофических нарушений при практическом отсутствии указанной симптоматики у пациентов группы сравнения. Полученные данные позволили также установить статистически значимое преобладание признаков скрытой тревоги и депрессии у работников локомотивных бригад, страдающих миофасциальным, мышечно-тоническим или корешковым синдромом в сопоставлении с пациентами группы сравнения.

Таким образом, на основании анализа исследуемых выборок было доказано, что в механизмах формирования хронического болевого синдрома в области спины у работников локомотивных бригад в отличие от пациентов группы сравнения имеются существенные различия в виде развития более выраженных и распространенных нейродегенеративных изменений позвоночника, признаков остеопороза, а также вегетативных и психологических нарушений, что подтверждает наблюдения других исследователей [33, 37].

Выраженность обнаруженных изменений находится в прямой зависимости от стажа работы на транспорте. Представленные результаты могут способствовать улучшению диагностики рассматриваемых видов патологии, что важно для оказания своевременной лечебной помощи и реабилитации работников железнодорожного транспорта [38].

## Список литературы

1. *Адо А.Д., Адо М.А., Пыцкий В.И., Порядин Г.В., Владимиров Ю.А.* Патологическая физиология. — М., 2002. — 616 с.
2. *Андреева-Галанина Б.Ц., Дрогичина Э.А., Артамонова В.Г.* Вибрационная болезнь. — Л., 1961.
3. *Белова А.Н., Щепетова О.Н.* Шкалы, тесты и опросники в медицинской реабилитации. — М., 2002. — 440 с.
4. *Багачева Л.А., Снеткова Е.П.* Дорсалгии: классификация, механизмы патогенеза, принципы ведения // Неврологический журнал. — 1996. — 2. — С. 8—12.
5. *Веселовский В.П.* Практическая вертеброневрология и мануальная терапия. — Рига, 1991. — С. 30—145.
6. *Вознесенская Т.Г.* Боли в спине и конечностях. Болевые синдромы в неврологической практике / Под ред. А.М. Вейна. — М.: Медпресс, 1999. — С. 217—283.
7. *Епифанов В.А., Епифанов А.В.* Остеохондроз позвоночника. — М., 2004. — 272 с.
8. *Кузнецов В.Ф.* Вертеброневрология. — Мн., 2004. — 640 с.
9. *Камкин А.Г., Каменский А.А.* Фундаментальная и клиническая физиология. — М., 2004. — 1072 с.
10. *Левин А.И., Артамонова В.Г.* Лечение профессиональных заболеваний. — М., 1984. — С. 135.
11. *Левин О.С.* Применение хондропротектора алфлутопа в лечении вертеброгенной люмбоишалгии // Научно-практич. ревматол. — 2003. — 2. — С. 61.
12. *Левин О.С.* Диагностика и лечение неврологических проявлений остеохондроза позвоночника // Консилиум. — 2004.
13. *Левит К., Захсе Й.Ю., Янда В.* Мануальная медицина. — М.: Медицина, 1993. — 511.
14. *Лоренс Риггз Б., Джемс Мелтон III Л.* Остеопороз. — СПб., 2000. — 560 с.
15. *Мак-Комас А.Дж.* Скелетные мышцы. — Киев, 2001. — 406 с.
16. *Меркулова Д.М., Меркулов Ю.А., Шаповалов А.В., Митрофанова Е.В., Кукалева Т.В.* Анализ эффективности применения нового поколения НПВП в реабилитации больных с острыми и хроническими дорсалгиями // Научно-практическая конференция «Современные аспекты нейрореабилитации». — М., 2007. — С. 145—146.
17. *Меркулова Д.М., Меркулов Ю.А., Карнеева И.А., Никитин С.С.* Дексалгин в патогенетическом лечении болевых синдромов в нижней части спины // Лечение нервных болезней. — 2007. — №2 (21). — С. 23—28.
18. *Подчуфарова Е.В.* Боль в пояснично-крестцовой области: диагностика и лечение. Русс. Мед. Жур. — 2004. — 10. — С. 581—584.
19. *Попелянский Я.Ю.* Ортопедическая неврология (вертеброневрология). — М., 2003. — 672 с.
20. *Попелянский Я.Ю., Штульман Д.Р.* Боли в шее, спине и конечностях. Болезни нервной системы / Под ред. Н.Н. Яхно, Д.Р. Штульман. — М.: Медицина, 2001. — С. 293—316.
21. Руководство по профессиональным заболеваниям / Под ред. Н.Ф. Измерова. Т. 2. — М., 1983. — С. 133.
22. *Скоромец А.А.* Топическая диагностика заболеваний нервной системы. — Л., 1989. — 320 с.
23. *Хабиров Ф.А.* Клиническая неврология позвоночника. — Казань, 2003. — 472 с.
24. *Ходарев С.В., Гавришев С.В., Молчановский В.В., Агасаров Л.Г.,* Принципы и методы лечения больных с вертеброневрологической патологией. — Ростов н/Д., 2001. — 608 с.
25. *Цфасман А.З.* Клинические вопросы железнодорожной медицины. Т. 3. — М., 1993. — 269 с.
26. *Цфасман А.З.* Профессиональные болезни. — М., 2000. — 334 с.
27. *Cherkin D.C., Sherman K.J., Deyo R.A.* et al. A review of the evidence for the effectiveness, safety and cost of acupuncture, massage therapy and spinal manipulation for back pain // Ann. Intern. Med. — 2003. — 138. — P. 898—906.
28. *Doga Gurkanlar, Ahmet Aciduman, Ahmet Gunaydin, Halit Kocak, Nur Celik* Solitary intraspinal lumbar vertebral osteochondroma: a case report Journal of Clinical Neuroscience. — 2004. — Nov. — Vol. 11, Issue 8. — P. 911—913.
29. *Fritz J.M., Piva S.R.* Physical impairment index: reliability, validity and responsiveness patients with acute low back pain // Spine. — 2003. — 28. — P. 1189—1194. Hall H. Back pain // J.N. Noseworthy. Neurological Therapeutics. Martin Dunitz, 2003. — P. 193—207.
30. *Heikki Hurri, Jaro Karppinen.* Discogenic pain Pain. — 2004. — Dec. — Vol. 112, Issue 3. — P. 225—228.
31. *James P. Dickey, Michael R. Pierrynowski, Drew A. Bednarc, Simon X.* Relationship between pain and vertebral motion in chronic low-back pain subjects // Yang Clinical Biomechanics. — 2002. — June. — Vol. 17, Issue 5. — P. 345—352.
32. *Jos W. M. Geurts, Roelof M. A. W. van Wijk, Herman J. Wynne, Edwin Hammink, Erik Buskens, Richel Lousberg, Johannes T. A. Knappe and Gerbrand J. Groen* Radiofrequency lesioning of dorsal root ganglia for chronic lumbosacral radicular pain: a randomised, double-blind, controlled trial. — 2003. — Jan. — Vol. 361. — Issue 9351. — P. 21—26.
33. *M. Krause, K. M. Refshauge, M. Dessen and R. Bolland* Lumbar spine traction: evaluation of effects and recommended application for treatment Manual Therapy. — 2000. — May. — Vol. 5, Issue 2. — P. 72—81.
34. *Maigne R.* Diagnosis and treatment of pain of vertebral origin. — Baltimore, Williams&Wilkins, 1996. — 550.
35. *McCulloch J.A., Transfeldt E.E.* Macnab's Backache. — Baltimore, Williams&Wilkins, 1997. — 795.
36. *Randall P.* Brewer Neural injury after interventions for chronic pain Seminars in Pain Medicine. — 2004. — Dec. — Vol. 2. — Issue 4. — P. 244—251. Complications of Pain Therapies.
37. *Van Tulder M., Koes B.* Low back pain and sciatica (chronic) // Clin. Evid. — 2003. — 10. — P. 1359—1376.
38. *Waddell G.* The back pain revolution. — Edinburg. Churchill Livingstone, 1998. — 438.

Поступила 14.06.11

## Сведения об авторах:

*Юрий Александрович Меркулов* — д-р мед. наук, главн. науч. сотр. лаб. нервно-мышечной патологии человека ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Артем Александрович Онсин* — врач НУЗ ЦКБ №2 им. Н.А. Семашко ОАО РЖД

*Александр Васильевич Шаповалов* — асп. лаб. нервно-мышечной патологии человека ФГБУ «НИИОПП» РАМН

*Алина Львовна Щербенкова* — врач Неврологического центра НУЗ ЦКБ №2 им. Н.А. Семашко ОАО РЖД

© К.Ю. Митрофанов, М.А. Сазонова, 2012  
УДК 616-092; 575.133; 577.21

К.Ю. Митрофанов<sup>1,2</sup>, М.А. Сазонова<sup>1,3</sup>

## Ассоциация точковых мутаций ядерного и митохондриального геномов человека с ишемической болезнью сердца

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> Автономная некоммерческая организация «Научно-исследовательский институт атеросклероза Российской Академии естественных наук», 121355, Москва, а/я 21

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Российский кардиологический научно-производственный комплекс» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации; 121552, Москва, ул. 3-я Черепковская, д. 15а

*В обзоре представлены данные по мутации митохондриального и ядерного геномов человека, ассоциированные с такими клиническими проявлениями атеросклероза, как ИБС, и сопутствующими патологиями человека. Мутации классифицированы по принадлежности к митохондриальному или ядерному геному, указаны ассоциированные с ними виды патологии и положение в геноме.*

**Ключевые слова:** ядерный геном, соматические митохондриальные мутации, ишемическая болезнь сердца

К.Yu. Mitrofanov<sup>1,2</sup>, M.A. Sazonova<sup>1,3</sup>

## Association of point mutations in human nuclear and mitochondrial genome with coronary artery disease

<sup>1</sup> The Institute for General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

<sup>2</sup> Institute for Atherosclerosis Research, Russian Academy of Natural Sciences, 4-1, Ivana Franko str., Moscow, 121355, Russia

<sup>3</sup> Russian Cardiology Research Center, 15a, 3<sup>rd</sup> Cherepkovskaya str., Moscow, 121552, Russia

*In pathogenesis of coronary artery disease (CAD), participate as genes of nuclear genome, regulating a metabolism of lipids and carbohydrates, and genes of mitochondrial DNA (mtDNA) which are the basic regulators of ATP synthesis process and breath of cages. Thanks to expansion of sample of patients and the description of hundreds family trees, data on mutual relation between genotype and a phenotype, structure and frequency of occurrence of mutations at CAD collect the accelerated rates. In the present review, mutations of mitochondrial and nuclear genomes are person, associated with clinical displays of an atherosclerosis (CAD) and accompanying pathologies of the person are presented. Mutations are classified on an accessory to mitochondrial or nuclear genome, the pathologies associated with them and position in genome are specified.*

**Key words:** nuclear genome, somatic mitochondrial mutations, coronary artery disease

Проблема ишемической болезни сердца ИБС занимает одно из ведущих мест среди важнейших медицинских проблем XXI века [2, 26].

Атеросклероз, наиболее распространенная в мире патология, является мультифакториальным заболеванием, в развитии которого играет значительную роль взаимодействие фенотипических, средовых, социально-экономических и генетических факторов. Однако, известные на сегодняшний день генетические факторы риска, могут объяснить не более 3% вариабельности клинических проявлений атеросклероза, в частно-

сти, ИБС. До недавних пор, вне поля зрения оставались мутации митохондриального генома, которые могут быть как соматическими, так и наследуемыми по материнской линии. Подобные мутации могут вызывать различные дефекты в белковых цепях некоторых дыхательных ферментов и транспортных РНК (тРНК), синтезирующихся непосредственно в митохондриях. Это приводит к уменьшению концентрации данных ферментов и тРНК или их дисфункции, что может способствовать развитию окислительного стресса и повышать вероятность развития ИБС.

ИБС обусловлена недостаточностью кровоснабжения сердечной мышцы. В 97—98% случаев причиной ИБС является атеросклероз коронарных артерий, который в начальных стадиях заболевания труд-

**Для корреспонденции:** Митрофанов Константин Юрьевич, младш. науч. сотр. лаб. клеточных механизмов атерогенеза ФГБУ «НИИОПП» РАМН. E-mail: zerberaid@gmail.com

но распознаваем [3]. Ранее считалось, что атеросклероз является заболеванием людей пожилого возраста. Однако в наше время данная патология приняла характер эпидемии и охватила практически все населенные развитых стран. Атеросклероз все чаще поражает людей молодого возраста. Среди пожилых людей распространенность атеросклеротического поражения сосудов достигает 100%.

В настоящее время идентифицированы семь основных факторов риска развития ИБС: возраст, принадлежность к мужскому полу, семейная предрасположенность, курение, гипертензия, гиперхолестеринемия и сахарный диабет [1, 55]. ИБС чаще возникает у мужчин работоспособного возраста. Течение ее может быть различным. Основные формы ИБС — это стенокардия, инфаркт миокарда и постинфарктный кардиосклероз. Как осложнение развивается сердечная недостаточность, возникают различные аритмии, особенно после перенесенного инфаркта миокарда, которые могут быть опасны сами по себе.

### Ассоциация мутаций митохондриального генома с ИБС

Митохондриальная ДНК (мтДНК) человека содержит 37 генов, продукты которых участвуют в процессе выработки энергии в дыхательной цепи митохондрий, состоящей из пяти сопряженно функционирующих ферментных комплексов, в целом насчитывающих 86 субъединиц. В основном они кодируются ядерными генами (ядДНК), но 7 субъединиц первого ферментного комплекса (ND1, 2, 3, 4, 4L, 5, 6), 1 — третьего (цитохром b), 3 — четверного (COI, COII, COIII) и 2 — пятого (АТФаза 6 и 8) кодируются структурными генами мтДНК [29].

Главные свойства митохондриального генома — цитоплазматическое наследование генов, отсутствие рекомбинаций и высокая скорость мутирования [17, 21, 56]. Митохондриальный геном отличается выраженной нестабильностью и высокой скоростью нуклеотидных замен, в среднем в 10—17 раз выше скорости мутирования ядерных генов, и в течение жизни индивида в нем нередко возникают соматические мутации [3, 4]. Непосредственными причинами дисфункции митохондрий являются дефекты системы окислительного фосфорилирования, несовершенство репарационных механизмов, отсутствие гистонов и свободные радикалы кислорода — побочные продукты аэробного дыхания [3, 4, 23, 29, 32, 44].

В процессе индивидуального развития распределение клонов мутировавшей мтДНК в тканях человеческого организма носит случайный характер. Но так как дефектные митохондрии под влиянием свободных радикалов кислорода, пролиферируют быстрее нормальных, доля мутантных мтДНК в среднем в органе

или ткани прогрессивно увеличивается [12, 28]. Для мутаций митохондриального генома характерно явление гетероплазмии — одновременное присутствие в клетке множества копий ДНК, несущих нормальный или мутантный аллель, варьирующих в широких пределах (1—99%); при этом различные ткани организма или соседние участки одной и той же ткани могут различаться по степени гетероплазмии [23, 31, 47].

По данным литературы, с ИБС ассоциируется 17 мутаций митохондриального генома, локализующихся в 6 генах транспортных рРНК, генах субъединицы 12S рибосомальной рРНК, генах 2-й и 5-й субъединиц NADH-дегидрогеназы. Мутации митохондриальных генов, ассоциированных с ИБС, найдены при таких заболеваниях, как инфаркт миокарда, несемейные формы дилатационной (ДКМП) и гипертрофической кардиомиопатии (ГКМП), MELAS, инсульт, митохондриальная миопатия, энцефалопатия, MIDD, сахарный диабет 2-го типа, MERRF, кардиоэнцефаломиопатия и других [5, 6].

Ниже приведены данные исследований ассоциации мутаций мтДНК с ИБС.

**G1541A, A1555G** — нуклеотидные замены, расположенные в 12S рРНК, вызывающие снижение функции рибосомы. Ассоциированы с такими заболеваниями, как кардиоэнцефаломиопатия, ИБС, повышенный риск инфаркта миокарда, глухота [24, 27, 34]. Мутация A1555G вызывает конформационные изменения в субъединице 12S митохондриальной рРНК и является одной из важных причин аминокозид-индуцированной и бессимптомной потери слуха [11].

**C1624T** локализована в гене тРНК-Val. При её наличии происходит замена цитозина на урацил в позиции 25 тРНК-Val, вследствие чего происходит изменение вторичной структуры тРНК. Это приводит к снижению активности тРНК-Val. Данная мутация ассоциирована с бивентрикулярной гипертрофической кардиомиопатией (ГКМП) [41, 45].

**A3243G, C3256T, A3260G** — нуклеотидные замены, расположенные в гене тРНК-Leu (кодон узнавания UUR), вызывающие дефект тРНК-Leu, приводящий к снижению ее активности. Могут быть причиной следующих заболеваний: синдрома MELAS (включающего митохондриальную энцефаломиопатию, лактатацидоз, инсультоподобные эпизоды), молочнокислого ацидоза, митохондриальной миопатии, энцефалопатии, синдрома MIDD (диабета со снижением слуха), инсульта, оксидативного дефекта мышечного метаболизма, кардиомиопатии и миопатии [14, 25, 33, 38, 43, 51, 57].

**A4269G, A4300G, A4317G** — нуклеотидные замены, расположенные в гене тРНК-Ile, вызывают дефект тРНК-Ile, приводящий к снижению ее актив-

ности. При наличии данных мутаций развиваются такие заболевания, как: несемейная дилатационная кардиомиопатия (ДКМП), энцефалопатия, глухота, эпилепсия, фатальная детская кардиомиопатия, ГКМП [8, 9, 16, 35, 52, 53].

**A4833G** — мутация, расположенная в гене субъединицы 2 NADH дегидрогеназы, вызывающая дефект белковой цепи 2 NADH дегидрогеназы, приводящий к снижению функции фермента. Способствует развитию инсулин-зависимого сахарного диабета [30].

**A8296G, G8363A** — нуклеотидные замены, расположенные в гене тРНК-Lys, вызывающие дефект транспортной РНК-Lys, приводящие к снижению её активности [10]. Могут вызвать такие заболевания, как энцефаломиопатия, нейросенсорная тугоухость, ГКМП, синдром MERRF (миоклонической эпилепсии с рваными красными волокнами) [48].

**T9997C** — мутация, расположенная в гене тРНК-Gly, при наличии которой наблюдается дефект тРНК-Gly, приводящий к снижению ее активности [42]. Вызывает развитие ГКМП детского возраста [54].

**G12192A** — мутация в гене тРНК-His, провоцирующая дефект тРНК-His, приводящий к снижению ее активности. Вызывает ДКМП [37, 50].

**T12297C, G12315A** — нуклеотидные замены, расположенные в гене тРНК-Leu (кодон узнавания CUN), вызывающие дефект тРНК-Leu, приводящий к снижению ее активности. Служат инициаторами возникновения таких заболеваний, как ИБС, офтальмоплегия, птоз, слабость конечностей, нейросенсорная тугоухость, пигментная ретинопатия, ДКМП [18, 20]. *G12315A* разрушает высококонсервативные G-C основания в ТΨС стебле молекулы тРНК.

**G13513A** — мутация в гене субъединицы 5 NADH дегидрогеназы, вызывающая дефект белковой цепи фермента, приводящий к снижению его функции [13]. При наличии данной мутации возникают следующие заболевания: энцефаломиопатия, молочнокислый ацидоз, MELAS, болезнь Лебера (наследственная невропатия зрительного нерва) [46].

### Ассоциация мутаций ядерного генома с ИБС

Ядерный геном человека высококонсервативен, однако в нем возникают как наследственные, так и соматические мутации, которые могут привести к различным видам патологии.

Мутация **T257G** в промоторе гена *ABCG1* приводит к снижению активности ацетилхолинэстеразы G1 [19]. Вызывает такие заболевания, как ИБС, тромбоз глубоких вен.

Мутация **A632G** в гене *PON1* (замена глутамина на аргинин в позиции 192) ассоциирована со снижением антиокислительной активности параоксоназы. Приводит к вазоспастической стенокардии и микрососудистой стенокардии [36].

Миссенс-мутация **C677T** в гене *MTHFR* вызывает замену аланина на валин в позиции 222 5,10-метилентетрагидрофолатредуктазы, т.е. в каталитическом домене фермента. Приводит к снижению активности данного фермента, а именно снижению скорости перевода фолиевой кислоты в ее активную форму 5-метилтетрагидрофолат. Вызывает гипергомоцистеинемия [22].

При мутации **C807T** в гене  $\alpha_2$  рецептора  $\alpha_2\beta_1$  увеличивается экспрессия  $\alpha_2$ , вследствие чего происходит увеличение плотности рецептора  $\alpha_2\beta_1$  и снижение взаимодействия тромбоцитов и коллагена [15]. Данная замена ассоциирована с ИБС, инфарктом миокарда.

Мутация **G894T** в гене *NOS3* (замена глутаминовой кислоты на аспарагиновую в позиции 298) приводит к дефекту эндотелиальной синтазы оксида азота. Вызывает ИБС, сахарный диабет 2 типа, гипертонию [39, 40].

Миссенс-мутация **G994T** в гене *PLA<sub>2</sub>G7* (замена валина на фенилаланин в позиции 279) приводит к снижению каталитической активности липопротеин-ассоциированной фосфолипазы  $A_2$  [49]. Ассоциирована с ИБС, ДКМП, ГКМП, кровоизлиянием в мозг.

Таким образом, среди заболеваний, ассоциированных с мутациями митохондриального и ядерного генома человека, одной из наиболее социально значимых патологий является ИБС. Важным показателем фенотипических проявлений мутаций, влияющих на развитие ИБС, наряду с наличием той или иной мутации, является уровень гетероплазмии мутантного аллеля, который может отразить не только наличие заболевания, но и степень его выраженности.

Скрининг мутаций митохондриального и ядерного геномов, ассоциированных с ИБС, является актуальным для раннего и своевременного диагностирования данного заболевания в целях предотвращения осложнений, опасных для здоровья и жизни людей.

### Список литературы

1. Неотложная медицинская помощь / Пер. с англ. / Под ред. Дж.Э. Тинтиналли, Р.Л. Кроума, Э. Руиза. — М.: Медицина, 2001.
2. *Сергеев К.* Терапия, снижающая уровень липидов, замедляет развитие атеросклероза сонных артерий // Русский медицинский журнал. — 1998. — Т. 5, №6. — С. 31—32.
3. *Сукерник Р.И., Дербенева О.А., Стариковская Е.Б.* Митохондриальный геном и митохондриальные болез-

ни человека // Генетика. — 2002. — Т. 38, №2. — С. 1—10.

4. **Сухоруков В.С.** Нарушения клеточной энергетики // Московский НИИ педиатрии и детской хирургии Минздрава РФ, 2002.

5. **Andreassi M.G., Botto N.** DNA damage as a new emerging risk factor in atherosclerosis // Trends. Cardiovasc. Med. — 2003, Oct. — Vol. 13(7). — P. 270—275. Review.

6. **Andreassi M.G., Botto N., Colombo M.G.** et al. Genetic instability and atherosclerosis: can somatic mutations account for the development of cardiovascular diseases? // Environ. Mol. Mutagen. — 2000, 35(4). — P. 265—269. Review.

7. **Anderson S., Bankier A.T., Barrell B.G.** et al. Sequence and organization of the human mitochondrial genome // Nature. — 1981. — Vol. 290. — P. 457—465.

8. **Arbustini E, Fasani R, Morbini P.** et al. Coexistence of mitochondrial DNA and beta myosin heavy chain mutations in hypertrophic cardiomyopathy with late congestive heart failure // Heart. — 1998. — Dec. — Vol. 80(6). — P. 548—558.

9. **Arbustini E., Fasani R., Morbini P.** et al. Coexistence of mitochondrial DNA and  $\beta$  myosin heavy chain mutations in hypertrophic cardiomyopathy with late congestive heart failure // Heart. — 1998. — Dec. — Vol. 80(6). — P. 548—558.

10. **Bornstein B., Mas J.A., Patrono C.** et al. Comparative analysis of the pathogenic mechanisms associated with the G8363A and A8296G mutations in the mitochondrial tRNA-Lys gene // Biochem. J. — 2005. — May 1. — Vol. 387(Pt 3). — P. 773—778.

11. **Bottger E.C.** Mutant A1555G mitochondrial 12S rRNA and aminoglycoside susceptibility // Antimicrob Agents Chemother. — 2010. — Jul. — Vol. 54(7). — P. 3073—3074; author reply 3074—3075.

12. **Chinnery P.F., Thorburn D.R., Samuels D.C.** et al. The inheritance of mtDNA heteroplasmy: random drift, selection or both? // Trends. Genet. — 2000. — Vol. 16. — P. 500—505.

13. **Chol M., Lebon S., Benit P.** et al. The mitochondrial DNA G13513A MELAS mutation in the NADH dehydrogenase 5 gene is a frequent cause of Leigh-like syndrome with isolated complex I deficiency // J. Med. Genet. — 2003. — Mar. — Vol. 40(3). — P. 188—191.

14. **Connolly B.S., Feigenbaum A.S., Robinson B.H.** et al. MELAS syndrome, cardiomyopathy, rhabdomyolysis, and autism associated with the A3260G mitochondrial DNA mutation // Biochem. Biophys. Res. Commun. — 2010. — Nov. 12. — Vol. 402(2). — P. 443—447. Epub. 2010 Oct. 20.

15. **D'Andrea G., Margaglione M.** Glanzmann's Thrombasthenia Italian Team (GLATIT). Glanzmann's thrombasthenia: modulation of clinical phenotype by alpha2 C807T gene polymorphism // Haematologica. — 2003. — Dec. — Vol. 88(12). — P. 1378—1382.

16. **Degoul F., Brule H., Cepanec C.** et al. Isoleucylation properties of native human mitochondrial tRNA<sup>Ile</sup> and tRNA<sup>Ile</sup> transcripts. Implications for cardiomyopathy-related point mutations (4269, 4317) in the tRNA<sup>Ile</sup> gene // Hum. Mol. Genet. — 1998. — Mar. — Vol. 7(3). — P. 347—354.

17. **Elson J.L., Andrews R.M., Chinnery P.F.** et al. Analysis of European mtDNA for recombination // Am. J. Hum. Genet. — 2001. — Vol. 68. — P. 145—153.

18. **Fu K., Hartlen R., Johns T.** et al. A novel heteroplasmic tRNA<sup>Leu</sup>(CUN) mtDNA point mutation in a sporadic patient with mitochondrial encephalomyopathy segregates rapidly in skeletal muscle and suggests an approach to therapy // Hum. Mol. Genet. — 1996. — Nov. — Vol. 5(11). — P. 1835—1840.

19. **Furuyama S., Uehara Y., Zhang B.** et al. Genotypic Effect of ABCG1 gene promoter -257T>G polymorphism on coronary artery disease severity in Japanese men // J. Atheroscler. Thromb. — 2009. — Jun. — Vol. 16(3). — P. 194—200. Epub. 2009 Jun. 26.

20. **Grasso M., Diegoli M., Brega A.** et al. The mitochondrial DNA mutation T12297C affects a highly conserved nucleotide of tRNA(Leu(CUN)) and is associated with dilated cardiomyopathy // Eur. J. Hum. Genet. — 2001. — Apr. — Vol. 9(4). — P. 311—315.

21. **Hanna M.G., Nelson I.P.** Genetics and molecular pathogenesis of mitochondrial respiratory chain diseases // Cell. Mol. Life Sci. — 1999. — Vol. 55. — P. 691—706.

22. **In Bo Han, Ok Joon Kim, Jung Yong Ahn** et al. Association of Methylenetetrahydrofolate Reductase (MTHFR 677C>T and 1298A>C) Polymorphisms and Haplotypes with Silent Brain Infarction and Homocysteine Levels in a Korean Population // Yonsei Med. J. — 2010. — Vol. 51(2). — P. 253—260.

23. **Ingman M., Kaessmann H., Paabo S., Gyllensten U.** Mitochondrial genome variation and the origin of modern humans // Nature. — 2000. — Vol. 408. — P. 708—713.

24. **Jaksch M., Ogilvie I., Yao J.** et al. Mutations in SCO2 are associated with a distinct form of hypertrophic cardiomyopathy and cytochrome c oxidase deficiency // Hum Mol Genet. 2000 Mar 22. — Vol. 9(5). — P. 795—801.

25. **Jeppesen T.D., Schwartz M., Hansen K.** et al. Late onset of stroke-like episode associated with a 3256C—>T point mutation of mitochondrial DNA // J. Neurol. Sci. — 2003. — Oct. — Vol. 214(1—2). — P. 17—20.

26. **Johansen C.T., Hegele R.A.** Predictive genetic testing for coronary artery disease // Crit. Rev. Clin. Lab. Sci. — 2009. — Vol. 46(5—6). — P. 343—360.

27. **Jaksch M., Horvath R., Horn N.** et al. Homozygosity (E140K) in SCO2 causes delayed infantile onset of cardiomyopathy and neuropathy // Neurology. — 2001. — Oct. 23. — Vol. 57(8). — P. 1440—1446.

28. **Kaufmann P., Koga Y., Shanske S.** et al. Mitochondrial DNA and RNA processing in MELAS // Ann. Neurol. — 1996. — Vol. 40. — P. 172—180.

29. **Kogelnik A.M., Lott M.T., Brown M.D.** et al. MITOMAP: a human mitochondrial genome database — 1998 update // Nucl. Acids Res. — 1998. — Vol. 26. — P. 112—115.

30. **Kong Q.P., Bandelt H.J., Sun C.** et al. Updating the East Asian mtDNA phylogeny: a prerequisite for the identification of pathogenic mutations // Hum. Mol. Genet. — 2006. — Jul. 1. — Vol. 15(13). — P. 2076—2086. Epub. 2006 May 19.

31. **Larsson N.-G., Clayton D.F.** Molecular genetic aspects of human mitochondrial disorders // Annu. Rev. Genet. — 1995. — Vol. 29. — P. 151—178.

32. **Lightowlers R.N., Chinnery P.F., Turnbull D.M., Howell N.** Mammalian mitochondrial genetics: heredity, heteroplasmy and disease // Trends. Genet. — 1997. — Vol. 13. — P. 450—455.

33. **Lowik M.M., Hol F.A., Steenbergen E.J.** et al. Mitochondrial tRNA<sup>Leu</sup>(UUR) mutation in a patient with steroid-resistant nephrotic syndrome and focal segmental glomerulosclerosis // Nephrol. Dial. Transplant. — 2005. — Feb. — Vol. 20(2). — P. 336—341.

34. **Lu J., Qian Y., Li Z.** et al. Mitochondrial haplotypes may modulate the phenotypic manifestation of the deafness-associated 12S rRNA 1555A>G mutation // Mitochondrion. — 2010. — Jan. — Vol. 10(1). — P. 69—81. Epub. 2009 Oct. 8.

35. **Lu J.J., Lu H.L.** The research progress of the association of mitochondrial DNA mutation with cardiomyopathy

// Fa Yi Xue Za Zhi. — 2001. — Nov. — Vol. 17(4). — P. 242—244, 248.

36. *Mashiba J., Koike G., Kamiunten H., Ikeda M., Sunagawa K.* Vasospastic angina and microvascular angina are differentially influenced by PON1 A632G polymorphism in the Japanese // *Circ. J.* — 2005. — Dec. — Vol. 69(12). — P. 1466—1471.

37. *Mimaki M., Ikota A., Sato A.* et al. A double mutation (G11778A and G12192A) in mitochondrial DNA associated with Leber's hereditary optic neuropathy and cardiomyopathy // *J. Hum. Genet.* — 2003. — Vol. 48(1). — P. 47—50.

38. *Nomiyama T., Tanaka Y., Piao L.* et al. Accumulation of somatic mutation in mitochondrial DNA and atherosclerosis in diabetic patients // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 2004. — Apr. — Vol. 1011. — P. 193—204.

39. *Piccoli J.C., Gottlieb M.G., Castro L.* et al. Association between 894G>T endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and metabolic syndrome // *Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.* — 2008. — Nov. — Vol. 52(8). — P. 1367—1373.

40. *Piccoli J.C., Gottlieb M.G., Castro L.* et al. A common Glu298→Asp (894G→T) mutation at exon 7 of the endothelial nitric oxide synthase gene and vascular complications in type 2 diabetes // *Diabetes Care.* — 1998. — Dec. — Vol. 21(12). — P. 2195—2196.

41. *Pohjoismaki J.L.O., Goffart S., Taylor R.W.* et al. Developmental and Pathological Changes in the Human Cardiac Muscle Mitochondrial DNA Organization, Replication and Copy Number // *PLoS ONE.* — 2010. — 5(5). — e10426. doi:10.1371/journal.pone.0010426.

42. *Raha S., Merante F., Shoubridge E.* et al. Repopulation of rho0 cells with mitochondria from a patient with a mitochondrial DNA point mutation in tRNA(Gly) results in respiratory chain dysfunction // *Hum. Mutat.* — 1999. — Vol. 13(3). — P. 245—254.

43. *Reardon W., Ross R.J., Sweeney M.G.* et al. Diabetes mellitus associated with a pathogenic point mutation in mitochondrial DNA // *Lancet.* — 1992. — Dec. — Vol. 340(8832). — P. 1376—1379.

44. *Robinson B.H.* Human Complex I deficiency: clinical spectrum and involvement of oxygen free radicals in the pathogenicity of the defect // *Biochem. Biophys. Acta.* — 1998. — Vol. 1364. — P. 271—286.

45. *Rorbach J., Yusoff A.A., Tuppen H.* et al. Overexpression of human mitochondrial valyl tRNA synthetase can partially restore levels of cognate mt-tRNA<sup>Val</sup> carrying the pathogenic C25U mutation // *Nucleic Acids Res.* — 2008. — May. — Vol. 36(9). — P. 3065—3074. Epub. 2008 Apr. 8.

46. *Sara Shanske, Jorida Coku, Jiesheng Lu* et al. The G13513A Mutation in the ND5 Gene of Mitochondrial

DNA as a Common Cause of MELAS or Leigh Syndrome // *Arch. Neurol.* — 2008. — Vol. 65(3). — P. 368—372.

47. *Sazonova M.A., Budnikov E.Yu., Khasanova Z.B.* et al. Studies of the human aortic intima by a direct quantitative assay of mutant alleles in the mitochondrial genome // *Atherosclerosis.* — 2009. — Vol. 204. — P. 184—190.

48. *Santorelli F.M., Mak S.C., El-Schahawi M.* et al. Maternally inherited cardiomyopathy and hearing loss associated with a novel mutation in the mitochondrial tRNA(Lys) gene (G8363A) // *Am. J. Hum. Genet.* — 1996. — May. — Vol. 58(5). — P. 933—939.

49. *Sekuri C., Cam F.S., Tengiz I.* et al. Association of platelet-activating factor acetylhydrolase gene polymorphism with premature coronary artery disease in Turkish patients // *Anadolu. Kardiyol. Derg.* — 2006. — Jun. — Vol. 6(2). — P. 132—134.

50. *Shin W.S., Tanaka M., Suzuki J.* et al. A novel homoplasmic mutation in mtDNA with a single evolutionary origin as a risk factor for cardiomyopathy // *Am. J. Hum. Genet.* — 2000. — Dec. — Vol. 67(6). — P. 1617—1620. Epub. 2000 Oct. 18.

51. *Singh R., Ellard S., Hattersley A., Harries L.W.* Rapid and sensitive real-time polymerase chain reaction method for detection and quantification of 3243A>G mitochondrial point mutation // *J. Mol. Diagn.* — 2006. — May. — Vol. 8(2). — P. 225—230.

52. *Taylor R.W., Giordano C., Davidson M.M.* et al. A homoplasmic mitochondrial transfer ribonucleic acid mutation as a cause of maternally inherited hypertrophic cardiomyopathy // *J. Am. Coll. Cardiol.* — 2003. — May 21. — Vol. 41(10). — P. 1786—1796.

53. *Tomari Y., Hino N., Nagaike T.* et al. Decreased CCA-addition in human mitochondrial tRNAs bearing a pathogenic A4317G or A10044G mutation // *J. Biol. Chem.* — 2003. — May. — Vol. 278(19). — P. 16828—16833.

54. *Turner L.F., Kaddoura S., Harrington D., Cooper J.M., Poole-Wilson P.A., Schapira A.H.* Mitochondrial DNA in idiopathic cardiomyopathy // *European Heart Journal.* — 1998. — Vol. 19. — P. 1725—1729.

55. *Vibhuti N. Singh.* Coronary Heart Disease // *Medicine health.* — 2002.

56. *Wallace D.C., Brown M.D., Lott M.T.* Mitochondrial DNA variation in human evolution and disease // *Gene.* — 1999. — Vol. 238. — P. 211—230.

57. *Wong L.J., Senadheera D.* Direct detection of multiple point mutations in mitochondrial DNA // *Clin. Chem.* — 1997. — Oct. — Vol. 43(10). — P. 1857—1861.

Поступила 09.04.12

#### Сведения об авторах:

Сазонова Маргарита Александровна — канд. биол. наук, старш. науч. сотр. лаб. клеточных механизмов атерогенеза ФГБУ «НИИПП» РАМН

Е.Н. Егорова, М.Н. Калинин, Е.С. Мазур

## **Иммунные механизмы в патогенезе хронической сердечной недостаточности**

Федеральное государственное бюджетное учреждение высшего профессионального образования  
«Тверская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России», 170100, Тверь, ул. Советская, 4

*В обзоре представлена новая информация об участии иммунных механизмов в патогенезе хронической сердечной недостаточности (ХСН). Обсуждается значение бактериального эндотоксина как индуктора активации иммунной системы при ХСН, и факторов системного воспаления в патогенезе заболевания, нарушающих баланс в системе матриксных металлопротеиназ и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ, приводящий к изменению структуры экстрацеллюлярного матрикса миокарда.*

**Ключевые слова:** хроническая сердечная недостаточность, патогенез, системное воспаление, цитокины, эндотоксин, натрийуретические пептиды, матриксные металлопротеиназы

E.N. Egorova, M.N. Kalinkin, E.S. Mazur

## **Immune mechanisms in pathogenesis of chronic heart failure**

Tver State Medical Academy, 4, Sovetskaja str., Tver, 170100, Russia

*In the review the new information about a participation of immune mechanisms in a pathogenesis of a chronic heart failure (CHF) is presented. Significance of a bacterial endotoxin, as inductor of activation of immune system at CHF, and factors of a system inflammation in a pathogenesis of the disease, breaking balance of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases system, leading to change of structure of an extracellular matrix of a myocardium, are discussed.*

**Key words:** chronic heart failure, pathogenesis, systemic inflammation, cytokines, endotoxin, natriuretic peptides, matrix metalloproteinases

Расшифровка нейрогормональных механизмов патогенеза хронической сердечной недостаточности (ХСН) — гиперактивация симпатoadреналовой и ренин-ангиотензин-альдостероновой систем (РААС) — способствовала разработке и внедрению в практическое здравоохранение лекарственных средств: бета-адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента (ИАПФ), антагонистов рецепторов к ангиотензину II и антагонистов альдостерона, входящих в перечень основных препаратов для лечения ХСН [18]. Однако, несмотря на очевидную эффективность применения вышеуказанных групп лекарственных средств [4, 19, 43], проблема высокой заболеваемости и смертности от ХСН не решена [20].

К концу XX века изучение механизмов патогенеза ХСН с учетом новых достижений в иммунологии и современного уровня развития лабораторной медицины привели к обнаружению факта, что прогресси-

рование ХСН, вызванной разными этиологическими факторами, ассоциируется со стимуляцией различных звеньев иммунной системы: моноцитарно-макрофагального, цитокинового, белков острой фазы, а лечение, приводящее к компенсации сердечной деятельности, сопровождается снижением их активности [17, 38, 56, 69].

Впервые связь провоспалительных цитокинов и сердечной недостаточности была установлена в 1990 г. [1]. Авторы выявили, что уровень фактора некроза опухоли- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) в сыворотке больных с тяжелой сердечной недостаточностью (III—IV функционального класса по классификации New-York Heart Association) на порядок выше, чем у здоровых лиц. Повышение концентрации TNF- $\alpha$  было наиболее выражено у пациентов с более тяжелыми клиническими проявлениями декомпенсации, большей степенью кахексии и повышенной активностью РААС. Первоначально основным источником TNF- $\alpha$  считали активированные мононуклеары, как периферические, так и инфильтрирующие интиму. В последующем было показано, что кардиомиоциты способны к

**Для корреспонденции:** Егорова Елена Николаевна, канд. мед. наук, доцент каф. микробиологии, вирусологии и иммунологии. E-mail: enegor@mail.ru



синтезу TNF- $\alpha$  при сепсисе и сердечной недостаточности, в то время как кардиомиоциты здоровых людей такой способностью не обладают [45]. Прямые доказательства роли цитокинов в патогенезе ХСН были получены в экспериментальных работах на животных и культурах клеток миокардиоцитов. Были показаны эффекты TNF- $\alpha$  на миокард: отрицательный инотропный эффект [46, 71], активизация деградации коллагенового матрикса металлопротеазами [44], индукция гипертрофии [72] и апоптоза кардиомиоцитов [69]. Выявлено [42], что длительная инфузия TNF- $\alpha$  приводит к снижению сократимости миокарда и к ремоделированию полостей сердца — необратимой дилатации желудочков сердца крыс.

Разнонаправленные эффекты TNF- $\alpha$  на кардиомиоциты — гипертрофия и апоптоз — могут быть объяснены дозо- и время-зависимыми механизмами действия цитокинов, а также сложностью и каскадным механизмом иммунологических и биохимических взаимодействий [12]. Вероятно, с этим связано и отсутствие ожидаемого положительного эффекта на тяжесть клинических проявлений заболевания при антицитокиновой терапии ХСН антагонистами TNF- $\alpha$  (Etanercept) в клинических исследованиях [39], несмотря на то, что экспериментальные работы на животных давали обнадеживающие результаты [47, 70].

Многочисленные зарубежные и отечественные клинические исследования подтвердили активацию иммунных факторов при острой [2, 14] и хронической [10, 16, 40] сердечной недостаточности различной этиологии: последствий атеросклероза, ишемической болезни сердца [25, 65, 68], а также дилатационной кардиомиопатии [27, 53]. В связи с этим к началу XXI века стала активно обсуждаться «цитокиновая», «иммунная», «воспалительная» теория развития данной патологии [3, 62, 64], тем более, что помимо цитокинемии у больных ХСН было установлено усиление оксидативного стресса, повышение концентрации белков острой фазы, маркеров эндотелиальной дисфункции, то есть патогенетических составляющих хронического системного воспаления [5, 6].

Среди белков острой фазы наибольшее диагностическое и прогностическое значение при сердечно-сосудистой патологии имеет С-реактивный белок. Долгое время считалось, что клинически значимым является повышение его концентрации выше 5 мг/л, при значениях ниже этой величины констатировалось отсутствие системного воспаления [13]. В настоящее время базовый уровень С-реактивного белка, определенный с помощью тест-систем с аналитической чувствительностью 0,5 мг/л, называемый hsCRP (high sensitive

C-reactive protein), считается независимым и сильным предиктором развития сердечно-сосудистой патологии (инфаркта миокарда, инсульта, внезапной сердечной смерти у лиц, не страдавших сердечно-сосудистыми заболеваниями, осложнений после кардиохирургических операций). При концентрации ниже 1 мг/л — риск считается низким, 1—3 мг/л — средним, выше 3 мг/л — высоким [58]. При уровне hsCRP более 10 мг/л проводят обследование пациента на наличие инфекционных и воспалительных заболеваний [51]. Наибольшее прогностическое значение имеет сочетанное определение hsCRP и индекса атерогенности [59].

Последующие исследования подтвердили тесную корреляционную связь уровня различных групп цитокинов: интерлейкинов (ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6), хемокинов, TNF $\alpha$ , интерферона-гамма с тяжестью клинических проявлений сердечной недостаточности и состоянием нейрогормонального фона больных ХСН [34, 41]. Это дало основание рассматривать патогенез ХСН не только с нейрогормональных, но с нейроиммуноэндокринных позиций, поскольку все три системы обладают интегрирующей функцией в организме и их компоненты взаимодействуют при развитии заболевания [22, 49]. В пользу данной точки зрения говорят результаты научных исследований последних лет. Было показано, что ангиотензин II обладает паракринным провоспалительным эффектом — стимулирует образование в клетках ядерного фактора транскрипции NF- $\kappa$ B с последующей продукцией провоспалительных цитокинов (ИЛ-6) и хемокинов (моноцитарного и сосудистого хемоаттрактантных протеинов (MCP-1, VCAM-1), а также активных форм кислорода, причем большинство эффектов подавляются ИАПФ и антагонистами рецепторов к ангиотензину II [28, 30]. Кстати, «побочный» противовоспалительный эффект — снижение уровня маркеров воспаления (hsCRP и цитокинов) помимо целевого действия был показан для всех основных групп препаратов, применяемых при лечении ХСН: бета-адреноблокаторов, ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, антагонистов рецепторов к ангиотензину II, статинов [37, 48, 54, 66].

Таким образом, в настоящее время признано, что в патогенезе ХСН участвуют не только нейрогормональные, но и иммунные механизмы, реализующиеся посредством синдрома хронического системного воспаления. Основной задачей исследований в данном направлении является изучение факторов, индуцирующих системное воспаление, и механизмов его реализации при ХСН.

В качестве факторов, стимулирующих развитие хронического системного воспаления, называются продукты перекисного окисления липидов (ПОЛ), персистирующие инфекции, вызванные *Chlamydia pneumoniae*, *Cytomegalovirus*, *Helicobacter pylori* [21, 35], а также бактериальные эндотоксины, присутствующие в системном кровотоке [1, 61].

Во многих исследованиях показана взаимосвязь прогрессирования ХСН с накоплением активных форм кислорода и, соответственно, продуктов ПОЛ, а также их влияние на развитие эндотелиальной дисфункции, воспаления и ремоделирования в тканях сердца [24, 29, 50, 55]. Некоторые авторы рассматривают в качестве индуктора иммуноопосредованного воспаления при ХСН эндотоксин (ЭТ), исходя из следующих предпосылок: во-первых, доказанную способность стимуляции продукции иммунных факторов *in vitro* и *in vivo*, используемую в экспериментальной иммунологии [33, 36], и, во-вторых, возможность возникновения иммунологически значимой системной эндотоксинемии при развитии застойных явлений по большому кругу кровообращения и проникновении липополисахаридов кишечных грамотрицательных бактерий в кровотоки [1, 31, 61].

В наших исследованиях [7, 9] у больных постинфарктным кардиосклерозом при декомпенсации ХСН была определена статистически значимая корреляционная связь между концентрацией ЭТ и  $TNF\alpha$ , выявлена прямая зависимость между концентрациями ЭТ,  $TNF\alpha$  и степенью тяжести СН — функциональным классом (ФК) ХСН. На фоне эффективного лечения ХСН, т.е. при компенсации ХСН с уменьшением тяжести ее клинических проявлений не менее чем на 1 ФК, уровни как ЭТ, так и  $TNF\alpha$  значительно снижались. На основании выявленных достоверных различий уровней эндотоксинемии в зависимости от степени тяжести заболевания сделано заключение, что данный показатель может служить критерием для доклинической дифференцировки IА и IБ стадий ХСН, а также был предложен способ определения венозного застоя по большому кругу кровообращения у больных хронической сердечной недостаточностью [8].

При изучении патогенеза ХСН с учетом нейрогормональных и иммунных механизмов в экспериментальных и клинических работах акцент делается на исследование закономерностей развития эндотелиальной дисфункции и ремоделирования миокарда [11, 26]. Прежде ремоделирование миокарда при ХСН связывали только с изменениями кардиомиоцитов (гипертрофия, апоптоз). В настоящее время особое внимание уделяется изучению реакции экстрацеллюлярного матрикса миокарда на иммунные факторы при хроническом миокардиальном воспалении, наблюдающемся при ХСН различной этиологии. Обсуждается возможная патогенетическая роль в развитии ХСН иммуноопосредованного

нарушения баланса между образованием коллагенов и их деградацией системой матриксных металлопротеиназ (ММП) [57, 60]. Влияние провоспалительных цитокинов на соединительную ткань сердца было показано на культуре кардиальных фибробластов крыс [63]. Авторы выявили, что провоспалительные цитокины — ИЛ-1 $\beta$  и  $TNF\alpha$  — снижают синтез коллагена и увеличивают активность матриксных ММП 2, 3 и 9 типов и пришли к заключению, что провоспалительные цитокины регулируют метаболизм кардиальных фибробластов и экстрацеллюлярного матрикса, что вносит вклад в дилатацию желудочков сердца. Было показано [67] наличие мРНК мозгового натрийуретического пептида (BNP) в кардиальных фибробластах собак и его секреция в медию сосудов, при этом уровень секреции значительно увеличивался при влиянии  $TNF\alpha$ . Те же авторы сообщили о выявленном свойстве BNP увеличивать экспрессию матриксных металлопротеиназ (ММП) 1, 2 и 3-го типов и снижать синтез коллагена, т.е. вызывать нарушение структурной полноценности соединительной ткани сердца, приводящее к ремоделированию отделов сердца. Исходя из результатов исследований был сделан вывод о роли BNP в регуляции структуры миокарда путем контроля функции кардиальных фибробластов и стимулирующей роли провоспалительных цитокинов на этот процесс.

В фокусе клинических исследований в настоящее время также находится изучение состояния тканей сердца, приводящее к ремоделированию его полостей в зависимости от уровней нейрогормональных и иммунных факторов, а также от групп лекарственных средств, применяемых для терапии ХСН [15, 32]. Интересные результаты были получены при изучении уровней провоспалительных цитокинов, ММП и тканевых ингибиторов матриксных металлопротеиназ (ТИМР) непосредственно в гомогенатах фрагментов артерий, полученных при операциях аортокоронарного шунтирования [23]. В нестабильных атеросклеротических бляшках было выявлено повышение показателей воспалительной (ИЛ-6, ИЛ-8, МСР-1, эндотелиально-мономерный активирующий пептид (ЕМАР II) и деструктивной (увеличение концентраций ММП-7, -9 и снижение ТИМР-1) активности в экстрацеллюлярном матриксе. В стабильных бляшках, т.е. на более ранних стадиях формирования атеросклеротического очага, было обнаружено повышение уровней ИЛ-1,  $TNF\alpha$ , ММП-3 и снижение ТИМР-1. Отличительными особенностями нестабильных бляшек дистрофически-некротического типа по сравнению с липидными (фиброатеромы) и воспалительно-эрозивными оказались повышенный уровень  $TNF\alpha$  и сниженный ТИМР-1.

Таким образом, в настоящее время накоплен большой объем экспериментального и клинического материала, свидетельствующий об участии иммунных механиз-

мов в развитии ХСН. Однако остаются не в полной мере изученными факторы, индуцирующие системное воспаление, а также механизмы его влияния на структурно-функциональное состояние сердца при ХСН.

### Список литературы

1. **Арутюнов Г.П., Кафарская Л.И., Власенко В.К.** Микрофлора кишечника у больных хронической сердечной недостаточностью как возможный фактор возникновения и генерализации системного воспаления // Сердечная недостаточность. — 2003. — Т. 5, №5. — С. 256—260.
2. **Архипова С.В., Зорин Н.А., Янкин М.Ю.** и др. Цитокины при инфаркте миокарда // Иммунология. — 2009. — Т. 2. — С. 104—107.
3. **Беленков Ю.Н., Агеев Ф.Т., Мареев В.Ю.** Нейрогормоны и цитокины при сердечной недостаточности: новая теория старого заболевания? // Сердечная недостаточность. — 2000. — Т. 4. — С. 135—138.
4. **Белоусов Ю.Б., Упницкий А.А.** Особенности фармакокинетики лекарственных средств при хронической сердечной недостаточности // Сердечная недостаточность. — 2000. — Т. 4. — С. 152—161.
5. **Гусев Е.Ю., Черешнев В.А., Юрченко Л.Н.** Системное воспаление с позиции теории типового патологического процесса // Цитокины и воспаление. — 2007. — Т. 4. — С. 9—21.
6. **Гусев Е.Ю., Юрченко Л.Н., Черешнев В.А., Зотова Н.В.** Методология изучения системного воспаления // Цитокины и воспаление. — 2008. — Т. 1. — С. 15—23.
7. **Егорова Е.Н., Кузьмина М.И., Гуминский А.В., Мазур Е.С.** Динамика эндотоксинемии и уровня фактора некроза опухоли-альфа при лечении хронической сердечной недостаточности // Сердечная недостаточность. — 2008. — Т. 4. — С. 167—168.
8. **Егорова Е.Н., Мазур Е.С., Калинин М.Н.** и др. Способ определения венозного застоя по большому кругу кровообращения у больных хронической сердечной недостаточностью. Заявка на изобретение №2010121221 (030191) от 27.05.2010 зарегистрирована в Федеральном институте промышленной собственности.
9. **Егорова Е.Н., Кузьмина М.И., Мазур В.В.** и др. Динамика факторов системного воспаления и аминотерминального мозгового натрийуретического пропептида при лечении хронической сердечной недостаточности // Терапевтический архив. — 2011. — Т. 1. — С. 56—59.
10. **Зыков К.А., Татенкулова С.Н., Масенко В.П.** и др. Выявление особенностей аутоиммунных реакций при хронической сердечной недостаточности различной этиологии // Терапевтический архив. — 2009. — Т. 4. — С. 22—28.
11. **Капелько В.И.** Ремоделирование миокарда: роль матриксных металлопротеиназ // Кардиология. — 2001. — Т. 6. — С. 49—55.
12. **Кетлинский С.А., Симбирцев А.С.** Цитокины. — СПб.: ООО «Издательство Фолиант», 2008. — 552 с.
13. **Кишкун А.А.** Иммунологические и серологические исследования в клинической практике. — М.: ООО «Медицинское информационное агентство», 2006. — 536 с.
14. **Ковальчук Л.В., Хорева М.В., Варивода А.С.** и др. Роль рецепторов врожденного иммунитета в развитии острого инфаркта миокарда // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2008. — Т. 4. — С. 64—68.
15. **Мазур Н.А., Хежева Ф.М.** Влияние гипотензивной терапии на металлопротеиназную активность крови у больных артериальной гипертензией // Кардиология. — 2009. — Т. 2. — С. 27—31.
16. **Наджафipur P., Долгов В.В., Орлова О.В.** и др. Маркеры Fas-опосредованного апоптоза у больных с сердечной недостаточностью // Клиническая лабораторная диагностика. — 2007. — Т. 10. — С. 19—37.
17. **Насонов Е.Л., Самсонов М.Ю., Беленков Ю.Н., Фукс Д.** Иммунопатология застойной сердечной недостаточности: роль цитокинов // Кардиология. — 1999. — Т. 3. — С. 66—73.
18. Национальные рекомендации ВНОК и ОССН по диагностике и лечению ХСН (третий пересмотр) // Сердечная недостаточность. — 2010. — Т. 11, №1. — С. 4—43.
19. **Ольбинская Л.И., Игнатенко С.Б.** Патогенез и современная фармакотерапия хронической сердечной недостаточности // Сердечная недостаточность. — 2002. — Т. 2. — С. 88—91.
20. **Ощепкова Е.В.** Смертность населения от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации в 2001—2006 гг. и пути по ее снижению // Кардиология. — 2009. — Т. 2. — С. 67—72.
21. **Павлов О.Н.** Влияние инфекции Helicobacter pylori на течение ишемической болезни сердца // Сердечная недостаточность. — 2009. — Т. 5. — С. 167—168.
22. **Поскребышева А.С., Гриневич В.В., Смурова Ю.В.** Нейроиммуноэндокринные взаимодействия в патогенезе хронической сердечной недостаточности // Успехи физиологических наук. — 2003. — Т. 3. — С. 3—20.
23. **Рагино Ю.И., Чернявский А.М., Полонская Я.В.** и др. Изменение содержания провоспалительных цитокинов и деструктивных металлопротеиназ в процессе развития атеросклеротического очага до нестабильной бляшки // Кардиология. — 2009. — Т. 6. — С. 43—49.
24. **Ситникова М.Ю., Иванов С.Г., Шляхто Е.В.** Peroxidация липидов при хронической сердечной недостаточности: взаимосвязь с клиническими показателями и влияние стандартной терапии // Сердечная недостаточность. — 2006. — Т. 4. — С. 131—134.
25. **Стойка Р.С., Фильченков А.А., Залесский В.Н.** Цитокины и клетки-мишени в регуляторной системе атерогенеза // Успехи современной биологии. — 2003. — Т. 1. — С. 82—97.
26. **Сукманова И.А., Яхонтов Д.А., Поспелова Т.И.** Метаболические нарушения и функция эндотелия при диастолической ХСН в разных возрастных группах // Сердечная недостаточность. — 2010. — Т. 2. — С. 88—91.
27. **Татенкулова С.Н., Мареев В.Ю., Зыков К.А.** и др. Иммуные механизмы воспаления при дилатационной кардиомиопатии // Кардиология. — 2009. — Т. 2. — С. 4—8.
28. **Титов В.Н.** Активация ангиотензином II утилизации биологического «мусора» в интиме артерий путем эндогенного воспаления // Клиническая лабораторная диагностика. — 2007. — Т. 5. — С. 3—13.
29. **Титов В.Н.** Первичный и вторичный атеросклероз, атероматоз и атеротромбоз: Монография. — М. — Тверь: ООО «Издательство «Триада», 2008. — 344 с.
30. **Титов В.Н.** Паракринные сообщества клеток. Физиология, клиническая биохимия и диагностика

нарушенных функций // Клиническая лабораторная диагностика. — 2009. — Т. 9. — С. 21–36.

31. **Титов В.Н., Дугин С.Ф.** Синдром транслокации, липополисахариды бактерий, нарушения биологических реакций воспаления и артериального давления // Клиническая лабораторная диагностика. — 2010. — Т. 4. — С. 21–37.

32. **Черканова М.С., Короленко Т.А., Бравве И.Ю., Герасимова Т.П.** Активность металлопротеиназы и концентрация С-реактивного белка в крови пациентов с ишемической болезнью сердца при приеме статинов и коронарном шунтировании // Клиническая лабораторная диагностика. — 2009. — Т. 6. — С. 9–11.

33. **Чернова А.А., Старикова Э.А., Соколов Д.И.** и др. Влияние продуктов бактериального происхождения на экспрессию поверхностных молекул моноцитоподобных и эндотелиальных клеток // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии. — 2008. — Т. 4. — С. 60–63.

34. **Шалаев С.В., Волкова С.Ю.** N-терминальный фрагмент мозгового натрийуретического пептида и провоспалительные цитокины у больных ишемической болезнью сердца // Терапевтический архив. — 2009. — Т. 5. — С. 30–36.

35. **Шварц Ю.Г., Маршалкина Н.А., Федотов Э.А.** Инфекционные факторы риска у больных ишемической болезнью сердца в сочетании с сердечной недостаточностью и пароксизмальной мерцательной аритмией // Сердечная недостаточность. — 2004. — Т. 1. — С. 22–24.

36. **Яковлев М.Ю.** «Эндотоксиновая агрессия» как предболезнь или универсальный фактор патогенеза заболеваний человека и животных // Успехи современной биологии. — 2003. — Т. 1. — С. 31–40.

37. **Abd Alla J., Langer A., Elzahwy S.S.** et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition down-regulates the pro-atherogenic chemokine receptor 9 (CCR9)-chemokine ligand 25 (CCL25) axis // J. Biol. Chem. — 2010. — Vol. 285(30). — P. 23496–23505.

38. **Anker S.D., Egerer K., Volk H.-D.** et al. Elevated soluble CD 14 receptors and altered cytokines in chronic heart failure. Am // J. Cardiol. — 1997. — Vol. 79. — P. 1426–1430.

39. **Anker S.D., Coats A.J.** How to recover from renaissance? The significance of the results of recover, renaissance, renewal and attach // Int. J. Cardiol. — 2002. — Vol. 86(2–3). — P. 123–130.

40. **Anker S.D., von Haehling S.** Inflammatory mediators in chronic heart failure: an overview // Heart. — 2004. — Apr. 1. — Vol. 90(4). — P. 464–470.

41. **Baggiolini M.** Chemokines in pathology and medicine // J. Intern. Med. — 2001. — Vol. 250(2). — P. 91–104.

42. **Bozkurt B., Kribbs S.B., Clubb F.J.** et al. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor- $\alpha$  promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats // Circulation. — 1998. — Vol. 97. — P. 1382–1391.

43. **Braunwald E.** ACE inhibitors a cornerstone of the treatment of heart failure // N. Engl. J. Med. — 1991. — Vol. 325. — P. 351–353.

44. **Dollery C.M., McEwan J.D., Henney A.M.** Matrix metalloproteinase and cardiovascular disease // Circ. Res. — 1995. — Vol. 77. — P. 863–868.

45. **Doyama K., Fujiwara H., Fukumoto M.** et al. Tumor necrosis factor is expressed in cardiac tissue of patients with heart failure // Int. J. Cardiol. — 1996. — Vol. 54. — P. 217–225.

46. **Finkel M.S., Oddis C.V., Jacob T.D.** et al. Negative inotropic effect of cytokines on the heart mediated by nitric oxide // Science. — 1992. — Vol. 257. — P. 387–389.

47. **Giroir B.P., Horton J.W., White D.J.** et al. Inhibition of tumor necrosis factor prevents myocardial dysfunction during burn shock // Am. J. Physiol. — 1994. — Vol. 267(1 Pt 2). — H118–24.

48. **Jain M.K., Ridker P.M.** Anti-inflammatory effects of statins: clinical evidence and basic mechanisms // Nat. Rev. Drug Discov. — 2005. — Vol. 4(12). — P. 977–987.

49. **Kan H., Finkel M.S.** Interactions between cytokines and neurohormonal systems in the failing heart // Heart. Fail. Rev. — 2001. — Vol. 6. — P. 119–127.

50. **Keith M., Geranmayegan A., Sole M.** et al. Increased oxidative stress in patients with congestive heart failure // J. Am. Coll. Cardiol. — 1998. — Vol. 31. — P. 1352–1356.

51. **Lamblin N., Mouquet F., Hennache B.** et al. High-sensitivity C-reactive protein: potential adjunct for risk stratification in patients with stable congestive heart failure // European Heart Journal. — 2005. — Nov. 1. — Vol. 26(21). — P. 2245–2250.

52. **Levine B., Kalman J., Mayer I.** et al. Elevated circulating level of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure // New Engl. J. Med. — 1990. — Vol. 223. — P. 236–241.

53. **Matsuori A., Yamada T., Suzuki H.** et al. Increased circulating cytokines in patients with myocarditis and cardiomyopathy // Br. Heart J. — 1994. — Vol. 72. — P. 561–566.

54. **Miguel-Carrasco J.L., Zambrano S., Blanca A.J.** et al. Captopril reduces cardiac inflammatory markers in spontaneously hypertensive rats by inactivation of NF- $\kappa$ B // J. Inflamm. (Lond.). — 2010. — Vol. 7. — P. 21.

55. **Nabeebaccus A., Zhang M., Shah A.M.** NADPH oxidases and cardiac remodelling // Heart Fail Rev. — 2010.

56. **Naito Y., Tsujino T., Fujioka Y.** et al. Increased circulating interleukin-18 in patients with congestive heart failure // Heart. — 2002. — Vol. 88. — P. 296–297.

57. **Pauschinger M., Chandrasekharan K., Li J.** et al. Mechanisms of extracellular matrix remodeling in dilated cardiomyopathy // Herz. — 2002. — Vol. 27(7). — P. 677–682.

58. **Ridker P.M.** High-sensitive C-reactive protein — potential adjunct for global risk assessment in the primary prevention of cardiovascular disease // Circulation. — 2001. — Vol. 103(13). — P. 1813–1818.

59. **Rifai N., Ridker P.M.** Proposed cardiovascular risk assessment algorithm using high-sensitivity C-reactive protein and lipid screening // Clin. Chem. — 2001. — Vol. 47. — P. 28–30.

60. **Rutschow S., Li J., Schultheiss H.P., Pauschinger M.** Myocardial proteases and matrix remodeling in inflammatory heart disease // Cardiovasc. Res. — 2006. — Vol. 69(3). — P. 646–656.

61. **Sandek A., Bauditz J., Swidsinski A.** et al. Altered intestinal function in patients with chronic heart failure // J. Am. Coll. Cardiol. — 2007. — Vol. 50(16). — P. 1561–1569.

62. **Seta Y., Shan K., Bozkurt B.** et al. Basic mechanisms in heart failure: the cytokine hypothesis // J. Cardiac Failure. — 1996. — Vol. 2. — P. 243–249.

63. **Siwik D.A., Chang D.L-F., Colucci W.S.** Interleukin-1 $\beta$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  decrease collagen synthesis and increase matrix metalloproteinase activity in cardiac fibroblasts in vitro // Circulation Research. — 2000. — Vol. 86. — P. 1259–1265.

64. **Staudt A., Landsberger M., Staudt Y., Felix S.B.** Cytokines — causes, players or bystanders in heart failure // Herz. — 2002. — Vol. 27(7). — P. 691–698.

65. *Sun M., Chen M., Dawood F.* et al. Tumor necrosis factor-alpha mediates cardiac remodeling and ventricular dysfunction after pressure overload state // *Circulation*. — 2007. — Vol. 115. — P. 1398—1407.

66. *Thuillez C.* Endothelial dysfunction: role of vasodilating betablockers in hypertension and chronic heart failure // *Ann. Cardiol. Angeiol. (Paris)*. — 2010. — Vol. 59(2). — P. 86—92.

67. *Tsuruda T., Boerrigter G., Huntley B.K.* et al. Brain natriuretic peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases // *Circulation Research*. — 2002. — Vol. 91. — P. 1127—1134.

68. *Vaddi K., Nicolini F.A., Mehta P.* et al. Increased secretion of tumor necrosis factor- $\alpha$  and interferon- $\gamma$  by mononuclear leucocytes in patients with ischemic heart disease. Relevance in superoxide anion generation // *Circulation*. — 1994. — Vol. 90. — P. 694—699.

69. *Williams R.S.* Apoptosis and heart failure // *N. Engl. J. Med.* — 1999. — Vol. 341. — P. 759—760.

70. *Yamada T., Matsumori A., Sasayama S.* Therapeutic effects of anti-tumor necrosis factor-alpha antibody on the murine model of viral myocarditis induced encephalomyocarditis virus // *Circulation*. — 1994. — Vol. 94. — P. 2930—2937.

71. *Yokoyama T., Vaca L., Rossen R.D.* et al. Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor-alpha in adult mammalian heart // *J. Clin. Invest.* — 1993. — Vol. 92. — P. 2303—2313.

72. *Yokoyama T., Nakano M., Bednarczyk J.L.* et al. Tumor necrosis factor-alpha provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes // *Circulation*. — 1997. — Vol. 95. — P. 1247—1252.

Поступила 19.01.12

#### Сведения об авторах:

*Калинкин Михаил Николаевич* — д-р мед. наук, ректор акад., проф. каф. патологической физиологии ГБОУ ВПО ТГМА Минздравсоцразвития России

*Мазур Евгений Станиславович* — д-р мед. наук, проф., зав. каф. госпитальной терапии ГБОУ ВПО ТГМА Минздравсоцразвития России

Л.Ф. Панченко<sup>1,2</sup>, С.В. Пирожков<sup>2,3</sup>, Н.Н. Теребилина<sup>2</sup>,  
Т.А. Наумова<sup>2</sup>, В.Ю. Баронец<sup>2</sup>, Б.Б. Шойбонов<sup>1,2</sup>

## Механизмы антиэндотоксиновой защиты печени

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный научный центр наркологии» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 119002, Москва, М. Могильцевский пер., 3

<sup>3</sup> Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

*В обзоре рассмотрены современные представления о механизмах, регулирующих реакцию клеток печени и иммунной системы на эндотоксинемию и не допускающих развития неконтролируемой воспалительной реакции. Основное внимание уделено роли в этих механизмах T-регуляторной популяции клеток, вопросам баланса различных фенотипов макрофагов, иммунорегуляторным функциям липопротеинов и их рецепторов.*

**Ключевые слова:** липолисахариды, печень, T-регуляторные клетки, M1-, M2a- и M2b-фенотипы макрофагов, липопротеины высокой плотности, окисленные липопротеины низкой плотности

L.F. Panchenko<sup>1,2</sup>, S.V. Pirozhkov<sup>2,3</sup>, N.N. Terebilina<sup>2</sup>,  
T.A. Naumova<sup>2</sup>, V.Yu. Baronetz<sup>2</sup>, B.B. Shojbonov<sup>1,2</sup>

## Mechanisms of the liver anti-endotoxin defence

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russia, 125315 Moscow, Baltiyskaya str., 8

<sup>2</sup> National Research Center for Addictions Russian Ministry of Public Health and Social Development, 3, M. Mogiltzevsky, Moscow, 119002, Russia

<sup>3</sup> Sechenov Moscow Medical Academy, 8-2, Trubetskaya street, Moscow, 119992, Russia

*Current knowledge of immunocellular and lipoprotein mechanisms of the liver-induced anti-endotoxin tolerance has been summarized. The role of T regulatory cells, different macrophage phenotypes, high density lipoproteins, oxidized low density lipoproteins and their receptors as the key players in mechanism of tolerance to endotoxin has been discussed.*

**Key words:** lipopolysaccharides, liver, inflammation, tolerance, Treg cells, macrophage phenotypes, high density lipoproteins, oxidized low density lipoproteins

Повышенный уровень эндотоксинов в системной циркуляции или «эндотоксиновая агрессия» все чаще рассматривается в качестве универсального фактора патогенеза самых разнообразных заболеваний [2—6]. Одним из важнейших элементов антиэндотоксиновой защиты организма, обеспечивающей физиологический уровень эндотоксинемии, не только не обладающий патологическими свойствами, но даже необходимый для поддержания всех систем организма в состоянии физиологического тонуса, является печень. Эндотоксин — липополисахариды (ЛПС) клеточной стенки Грам-отрицательных бактерий — проникает через

слизистую кишечника в местную систему кровообращения, а затем через воротную вену в печень, и только из печени эндотоксин попадает в общую циркуляцию. Поэтому большинство случаев патологической системной эндотоксинемии является результатом тех или иных нарушений антиэндотоксиновой защиты печени, за исключением, может быть, только стрессовых реакций, когда происходит сброс портальной крови в общий кровоток по шунтам (минуя печень). Понятно в связи с этим, что совершенствование терапевтической стратегии при тех заболеваниях, в патогенезе которых доказано участие эндотоксиновой агрессии, требует знания механизмов, которые поддерживают макрофаги печени (клетки Купфера) на подпороговом уровне их активации и обеспечивают резистентность организма к бактериальным антигенам, не допуская вместе с тем развертывания тяжелых воспалительных реакций.

**Для корреспонденции:** Панченко Леонид Федорович, д-р мед. наук, проф., акад. РАМН, зав. лаб. биохимии ФГБУ «НИИОПП» РАМН, зав. лаб. биохимии ФГБУ «НИИОПП» Минздравсоцразвития РФ. E-mail: biochn@mail.ru

### Иммунная система печени

Для эффективной и быстрой защиты от бактериальных продуктов, которыми обогащена поступающая из кишечника кровь, печень имеет собственную сильную иммунную систему. Она включает макрофаги (клетки Купфера), натуральные киллеры костномозгового (НК) или тимусного (НКТ) происхождения, а также CD4+ и CD8+ лимфоциты [25, 37]. НК и НКТ клетки играют важную роль в антивирусной и антиопухолевой защите, а также уничтожают активированные стрелчатые клетки. Стрелчатые клетки или клетки Ито в спокойном состоянии играют роль витамин А-запасующих клеток, а при индукции сильными воспалительными стимулами могут превращаться в фибробласто-подобные клетки, инициируя развитие фиброза [35]. НК способны убивать профиброзные клетки только на ранних стадиях фиброза, тогда как НКТ — на всех стадиях фиброза [39]. Различается также механизм киллинга: НК вызывают некроз клеток, что может провоцировать дальнейшее усиление воспаленной реакции, а НКТ индуцируют физиологический процесс апоптоза фиброзных клеток, не сопровождающийся освобождением воспалительных медиаторов. НКТ обладают также иммунорегулирующими свойствами [31], поддерживая баланс различных популяций CD4+ лимфоцитов: T<sub>H</sub>1 и T<sub>H</sub>2. Снижение НКТ в печени сопровождается сдвигом баланса Т-хелперных лимфоцитов в сторону T<sub>H</sub>1-популяции и соответственно повышением продукции синтезируемых T<sub>H</sub>1-клетками провоспалительных цитокинов [76].

Клетки Купфера — внутрисинусоидально локализованные тканевые макрофаги — составляют большую часть всех макрофагов организма и относятся к так называемым резидентным или сторожевым клеткам врожденного иммунитета, адаптированным к захвату антигена, его процессингу (разрушению) до пептидов, способных связываться с молекулами главного комплекса гистосовместимости МНС II типа, что необходимо для последующего представления антигена клеткам адаптивного иммунитета [17]. Клетки Купфера характеризуются высокой экспрессией патоген-распознающих рецепторов, в том числе рецепторов к ЛПС — TLR4 [51]. Связывание ЛПС с TLR4 при участии ЛПС-связывающего белка и растворимого или мембрано-связанного корецептора CD14 в макрофагах непеченочных тканей приводит к разветвлению каскада сигнальных путей, в ходе которых осуществляется транслокация в ядро фактора транскрипции NF-κB, включающего гены провоспалительных цитокинов и гены ферментов, продуцирующих дополнительные воспалительные медиаторы: NO-синтазы и продуцента активных форм кислорода — НАДФН-оксидазы [26]. Однако многочисленные экспериментальные исследования показали, что

клетки Купфера здоровой печени, как и макрофаги некоторых других тканей, постоянно контактирующих с Грам-отрицательными бактериями [26, 74, 75, 79], отвечают на стимуляцию TLR4 продукцией не столько про-, сколько противовоспалительных цитокинов. В частности, культуры макрофагов, выделенных из печени мышей, после инкубации их в присутствии ЛПС повышали секрецию противовоспалительного IL-10 до 800 пг/мл, а провоспалительного IL-12 — только до 140 пг/мл [12]. Примечательно, что такой тип реакции макрофагов на ЛПС отмечался при использовании различных концентраций эндотоксина, как сравнительно невысоких, так и очень значительных (от 0,1 до 5 мкг/мл), в связи с чем представляется маловероятным, чтобы повышение уровня эндотоксина в воротной вене в результате повреждения барьерной функции кишечника было бы достаточно для гиперпродукции провоспалительных цитокинов клетками Купфера. Небольшое же количество провоспалительных цитокинов, секретлируемых клетками Купфера в норме, играет физиологическую роль, мобилизуя необходимые для репарации тканей ретиноевую кислоту и матриксные металлопротеиназы, освобождающие факторы роста из экстраклеточного матрикса [35]. Антивоспалительная реакция на ЛПС была продемонстрирована и для перитонеальных макрофагов, причем эта функция сохранялась даже после того, как клетки переносили в свежую среду, не содержащую ЛПС, и добавляли моноциттарно-гранулоцитарный — колониестимулирующий фактор, обладающий провоспалительным потенциалом [67]. Преобладание продукции противовоспалительных цитокинов над провоспалительными характерно для так называемого M2b- (или толерогенного) фенотипа макрофагов. Этот же фенотип у здоровых людей присущ и большинству моноцитов периферической крови, которые при экспозиции их с ЛПС *in vitro* демонстрируют снижение продукции провоспалительных цитокинов: фактора некроза опухолей (TNF-α), IL-1β, IL-6, — при одновременной стимуляции генов IL-10 и растворимых рецепторов к IL-1β и TNF-α, связывающих циркулирующие провоспалительные цитокины и тем самым нейтрализующих их [20, 54]. M2b-фенотип способен также поглощать миелопероксидазу, освобождаемую нейтрофилами, и таким образом снижать цитотоксичность, обусловленную нейтрофилами [53].

Толерогенный фенотип клеток Купфера позволяет им предупреждать дифференцировку печеночных CD4+ и CD8+ лимфоцитов в эффекторные воспалительные клетки. В реализации этой супрессорной функции участвуют IL-10 и лиганды рецепторов, вызывающих апоптоз активированных Т-лимфоцитов (PD-L-1), а также механизмы, требующие прямых, очень тесных межклеточных контактов, к которым относятся, в частности, механизмы, зависящие от NO с его коротким полупериодом

жизни [8]. С помощью оксида азота клетки Купфера ингибируют пролиферацию специфических к ЛПС Т-клеток и в то же время обеспечивают помощь в продукции В-лимфоцитами антител против ЛПС [17].

Одной из важнейших функций М2b-фенотипа макрофагов, в том числе клеток Купфера, является процесс своевременного удаления из тканей, путем фагоцитоза, так называемых «апоптотных телец», получивший название эффероцитоза [21, 71, 72]. Ежедневно в организме подвергается апоптозу до  $10^{11}$  «отживших» клеток. Блокирование эффероцитоза приводит к вторичной некролизации апоптотических клеток, что может инициировать воспаление и индуцировать аутоиммунные реакции из-за освобождения большого количества ранее скрытых аутоантигенов. Макрофаги распознают апоптотические клетки с помощью липопротеиновых рецепторов SR-B1, связывающих фосфатидилсерин минимально окисленных липопротеинов низкой плотности, которые в живых клетках локализованы на внутренней стороне плазматической мембраны и потому недоступны для распознавания, а в апоптотических клетках перемещаются на внешнюю сторону.

### Взаимодействие

#### различных фенотипов макрофагов в ходе защитной реакции организма на патогены

В большинстве непеченочных тканей реакция на ЛПС и другие лиганды TLR макрофагов приводит к их дифференцировке в М1- или воспалительный фенотип, характеризующийся высокой продукцией провоспалительных цитокинов и повышенной активностью NO-синтазы и НАДФН-оксидазы, синтезирующих значительные количества активные формы кислорода и азота [17, 54]. Провоспалительные цитокины, секретируемые М1-макрофагами, стимулируют пролиферацию и активацию клеток адаптивного иммунитета. В зависимости от преобладания секреции различных представителей семейства IL-12-цитокинов: собственно IL-12, состоящего из субъединиц p35 и p40, или IL-23, включающего субъединицу p40 в комбинации с p19, — М1-макрофаги индуцируют реакцию различных Т-хелперных лимфоцитов: Тх1- или Тх17- типа. Тх17-клетки были впервые открыты как самостоятельная субпопуляция CD4+клеток в 2005 г. и с тех пор остаются предметом интенсивных исследований, как потенциально наиболее патогенные клетки иммунитета, в частности при патологии печени. Обнаружено, что отношение Тх17/Тх1 в печени выше, чем во многих других органах, и еще более повышается при различной патологии печени: билиарном циррозе [43], вирусных гепатитах [68], стеатогепатитах [33], гепатоклеточной карциноме [30, 40, 86]. Секретируемый Тх17-клетками IL-17 активирует в гепатоцитах гены, ответственные за синтез С-реактивного белка [60], и стимулирует синтез таких цитокинов, как IL-6, IL-8, гранулоцитарный коло-

ние-стимулирующий фактор, а также простагландин E2, которые обуславливают ускоренное созревание нейтрофилов в костном мозге и миграцию их в очаг воспаления [22], вследствие чего Тх17-воспаление опосредуется главным образом нейтрофилами, тогда как Тх1-тип воспаления — мононуклеарными клетками [14]. Кроме того, Тх17-клетки вносят большой вклад в патогенез аутоиммунных заболеваний: неслучайно эта линия клеток была впервые открыта на модели мышей с аутоиммунными нарушениями (экспериментальный аутоиммунный энцефаломиелит и коллаген-индуцированный артрит) [42].

М1-фенотип макрофагов, обладая достаточно высокой способностью захватывать ЛПС через SR-B1-рецепторы, в то же время, в отличие от М2b-макрофагов, ограничен в способности к завершению фагоцитозу, т.е. к разрушению (процессингу) ЛПС, вследствие чего М1-макрофаги, интернируя ЛПС, сохраняют его длительное время в непротессированном виде, способствуя тем самым хронической стимуляции организма [34].

Благополучное завершение воспалительной реакции требует точно скоординированного баланса различных фенотипов макрофагов. Поэтому М1-поляризация макрофагов, характерная для начальной стадии воспаления, позднее дополняется М2a- и М2b- макрофагами. М2a-фенотип характеризуется высокой активностью аргиназы 1, высокой экспрессией рецепторов CD36, связывающих интенсивно окисленные липопротеины низкой плотности (окЛНП), и достаточно высоким уровнем продукции IL-10 и IL-4. Аргиназа конкурирует с NO-синтазой за аргинин, снижая тем самым продукцию оксида азота, а высокая экспрессия рецепторов CD36 позволяет М2a-макрофагам активно поглощать окЛНП, в результате чего М2a-макрофаги эффективно противодействуют цитолитическим эффектам (как оксидативным, так и нитрозативным) М1-макрофагов на собственные ткани [82]. Благодаря продукции IL-10 М2a-макрофаги индуцируют апоптоз активированных цитотоксических Т-лимфоцитов [50], а секретируя IL-4, стимулируют реакции Тх2-клеток, выполняющих роль помощников В-лимфоцитов в синтезе антиэндотоксиновых антител [77]. Однако длительное доминирование М2a-фенотипа может привести к резкому ослаблению антиинфекционной защиты организма и к повышенному риску аутоиммунных реакций вследствие неспособности М2a-макрофагов к фагоцитозу и к распознаванию апоптотических клеток в результате вытеснения рецепторов SR-B1, реагирующих на фосфатидилсерин апоптотных телец, рецепторами CD36.

На стадии завершения воспалительной реакции повышается экспансия М2b-фенотипа макрофагов, которые подавляют пролиферацию и индуцируют апоптоз эффекторных воспалительных клеток, а их высокая фагоцитарная активность обеспечивает



удаление многочисленных апоптотических клетки, включая погибшие клетки поврежденных тканей и «отработавшие» воспалительные клетки.

### **Роль Т-регуляторной популяции лимфоцитов в поддержании оптимального уровня реакции клеток врожденного и адаптивного иммунитета на ЛПС**

Со времени своего открытия в середине 90-х годов популяция Т-регуляторных клеток быстро заняла положение ключевой клетки иммунитета, способной настраивать иммунную систему как во время воспаления и инфекции, так и в состоянии гомеостаза [7, 81]. Различают натуральные Трег-клетки, распознающие главным образом аутоантигены и супрессирующие аутоиммунные реакции, и индуцибельные или адаптивные Трег-клетки с более разнообразным репертуаром Т-клеточных рецепторов, препятствующие чрезмерному развитию воспалительной реакции на патогены [52, 62]. Описаны различные механизмы действия Трег-клеток: ингибирование пролиферации эффекторных клеток — чаще путем прямых контактов через продукцию оксида азота и активных форм кислорода [57], стимуляция апоптоза путем повышенной продукции лигандов для рецепторов апоптоза [79], снижение контактов между антиген-представляющими клетками (АПК) и примируемыми («обучаемыми») ими Т-лимфоцитами за счет формирования длительно сохраняющихся синапсов между АПК и Т-регуляторных клетками, чему способствует высокая экспрессия на Т-рег клетках молекул адгезии [7], киллинг воспалительных эффекторных клеток, обеспечиваемый высоким уровнем в Т-рег клетках гранзима А и перфорина С [32]. При начавшемся воспалении на поверхности Т-рег клеток возрастает экспрессия рецепторов к провоспалительным цитокинам, таким, как интерлейкин-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) и фактор некроза опухолей (TNF- $\alpha$ ), которые интенсивно «слушиваются» с поверхности клеток, переходя в растворимые формы [55]. Растворимые цитокиновые рецепторы связывают и нейтрализуют IL-1 $\beta$  и TNF- $\alpha$ . Важную роль в супрессорной функции Т-рег клеток играют эктонуклеотидазы (CD39 и CD73), которые, разрушая АТФ, снижают тем самым АТФ-опосредованную активность макрофагов по воспалительному типу и многие другие АТФ-связанные эффекты, такие как цитотоксичность, дифференцировка цитотоксических CD4+ и CD8+ лимфоцитов, и продуцируют мощный противовоспалительный медиатор — аденозин [15, 18, 59]. Более дистантный механизм действия Т-рег клеток обеспечивают секретлируемые ими регуляторные цитокины: IL-10 и TGF- $\beta$ 1 [62].

Отличительной особенностью Трег-клеток является их способность реагировать на минимальные концентрации антигена, которые рецепторами других клеток еще

не распознаются. Поэтому Т-рег клетки первыми реагируют на ЛПС и дифференцируют клетки Купфера в направлении M2b -фенотипа. Интересно, что под воздействием «обученных» Т-рег клетками M2b-макрофагов печени, stellатные клетки в ответ на ЛПС освобождают некоторое количество ретиноевой кислоты, которая, в свою очередь, участвует в индукции Т-рег клеток и предотвращает образование Тх17-клеток [35, 58, 83]. Это свидетельствует о существовании многочисленных обратных связей между различными механизмами, контролирующими индуцированную печенью толерантность к эндотоксинемию. Хотя основной мишенью Трег-клеток являются антиген-представляющие клетки (моноциты, макрофаги, дендритные клетки), через которые регулирующие эффекты передаются на другие звенья иммунитета, Т-рег клетки могут и непосредственно супрессировать практически все клетки иммунной системы [38, 61, 64, 87].

В экспериментах на мышах, которым вводили ЛПС, показано, что дефицит Т-рег клеток приводит к тяжелым мультиорганным воспалительным реакциям и к практически 100%-ной ЛПС-индуцированной летальности [49]. В отсутствие Трег-клеток происходит резкая экспансия аутореактивных клонов Т- и В-лимфоцитов на фоне истощения числа патогенреактивных клонов [44].

### **Иммунорегуляторная роль липопroteinной высокой плотности (ЛВП)**

Поддержание пула Т-рег клеток обеспечивается глюкокортикоид-зависимыми TNF-рецепторами [80]. При нормальном ходе реакции на ЛПС отмечается быстрый подъем синтеза глюкокортикоидов клетками надпочечников, сопровождающийся увеличением в этих клетках плотности рецепторов к ЛВП, через которые клетки снабжаются необходимым для синтеза глюкокортикоидов холестерином, и выраженным повышением концентрации ЛВП и их главного белкового компонента аполипопротеина ApoA1 [10, 48]. Мыши с генетическим дефицитом рецепторов к ЛВП отвечают на инъекции эндотоксина неконтролируемой воспалительной реакцией с недостаточным синтезом глюкокортикоидов, резкой индукцией провоспалительных цитокинов и высокой (до 100%) гибелью животных в первые 3 дня после однократной инъекции относительно умеренной дозы эндотоксина [10]. Такой же эффект вызывает и истощение ЛВП в плазме [29].

Роль ЛВП в лимитировании воспалительной реакции на эндотоксин не ограничивается их участием в доставке холестерина клеткам надпочечников. ЛВП несут на себе основную нагрузку по связыванию как свободного эндотоксина, так и комплекса эндотоксина с ЛПС-связывающим белком.

В работах по введению мышам меченого эндотоксина было продемонстрировано, что более

80% метки оказывается во фракции ЛВП плазмы [24, 46, 66]. ЛВП далее переносят эндотоксин в гепатоциты, где он подвергается лизосомальному процессингу и выводится с желчью.

К настоящему времени описан еще ряд эффектов ЛВП, способных регулировать воспалительные реакции на эндотоксин. Рецепторы SR-B1 на клетках Купфера при связывании их с ЛВП запускают сигнальные пути, блокирующие гены воспалительных цитокинов [13]. Рецепторы SR-B1 обнаружены также и на Т-лимфоцитах, и их стимуляция ЛВП блокирует гены воспалительных цитокинов и в Т-лимфоцитах [28]. При этом существует предположение, что противовоспалительная функция ЛВП имеет четкую анти-Tx17 направленность, так как ЛВП особенно резко подавляют синтез IL-23, главного индуктора Tx17-клеток, и циклооксигеназу-2, продуцента простагландина E2, также участвующего в Tx17-поляризации [19]. Эта функция ЛВП представляет особый интерес в свете данных о недостаточной эффективности Трег-клеток в отношении супрессии Tx17-популяции [36, 63].

Белковый компонент ЛВП — AroA-1, имеет на клетках Купфера свои специфические рецепторы (ABCA-1), стимуляция которых также подавляет синтез провоспалительных цитокинов, но уже не на уровне генов, а на посттранскрипционном уровне, за счет продукции особого дестабилизирующего белка, разрушающего мРНК таких цитокинов, как TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6,  $\gamma$ -IFN [84, 85]. Недавно обнаружена также способность AroA-1 через ABCA-1-рецепторы выводить поглощенный M1-макрофагами, но непроцессированный ими эндотоксин [78], предупреждая тем хроническую ЛПС-стимуляцию организма. AroA-1 и ЛВП блокируют также миграцию и активацию нейтрофилов [56], которым принадлежит основная роль в воспалении Tx17-типа. Экспрессию ABCA-1 в фагоцитах повышают продуцируемые Трег клетками IL-10 и TGF $\beta$ -1 [81].

Вытеснение рецепторов SR-B1 и ABCA-1 на мембране макрофагов CD36-рецепторами, в ответ на экспозицию макрофагов с окисленными ЛНП, приводит, напротив, к усилению секреции провоспалительных цитокинов (особенно IL-8) через активацию NF- $\kappa$ B-пути [11, 27, 73], и к синтезу провоспалительных эйкозаноидов, в частности, простагландина E [41], что создает условия для индукции Tx17-клеток с одновременным апоптозом Т-рег клеток [47]. Наличие в составе AroA-1 антиоксидантного фермента параоксоназы позволяет ЛВП эффективно блокировать окисление ЛНП и тем предотвращать стимуляцию CD36 [45, 65].

Наряду с ЛВП в нейтрализации воспалительной реакции на эндотоксин принимают участие также альбумин, поляризующий дифференцировку макрофагов в толерогенный M2b-фенотип [69] и

катионный белок нейтрофилов [1, 69]. Напротив, С-реактивный белок переключает макрофаги на воспалительный M1-фенотип [16, 23, 69].

### Заключение

Таким образом, обзор современной информации о механизмах, контролирующих реакцию печеночных и иммунных клеток на эндотоксин, свидетельствует, что антиэндотоксиновая защита печени осуществляется с помощью значительно более широкого диапазона механизмов, чем это считалось ранее. Логично предположить, что «слом» этих контролирующих механизмов, их дисбаланс лежит в основе многих заболеваний, ассоциированных с эндотоксиновой агрессией, что подтверждается некоторыми экспериментальными и клиническими наблюдениями. Так, если моноциты периферической крови здоровых людей относятся преимущественно к толерогенному M2b-фенотипу, отвечающему на стимуляцию ЛПС повышением фагоцитарной активности и высокой экспрессией генов противовоспалительных цитокинов на фоне умеренной активации провоспалительных генов, то у септических больных преобладает M2a-фенотип, неспособный к фагоцитозу [20]. К толерогенному фенотипу принадлежат и клетки Купфера здоровой печени [79], тогда как при стеатогепатитах клетки Купфера реагируют на ЛПС по воспалительному M1-фенотипу [20]. При развитии фиброза отмечается доминирование M2a-фенотипа макрофагов и нарушение баланса Т-рег/Tx17-клеток [9]. Коррекция нарушений механизмов, контролирующих нормальный ход реакции на ЛПС, должна стать мишенью будущих терапевтических стратегий. К числу наиболее важных потенциальных мишеней следует отнести в первую очередь поддержание пула Т-рег клеток, сохранение оптимального соотношения различных фенотипов макрофагов, повышение иммунорегуляторного потенциала липопротеинов.

### Список литературы

1. *Лиходед В.Г., Аниховская И.А., Аполлонин А.В.* FC-зависимое связывание эндотоксинов грамотрицательных бактерий полиморфно-ядерными лейкоцитами крови человека // *Микробиол., эпидемиол., иммунобиол.* — 1994. — №2. — С. 76—79.
2. *Панченко Л.Ф., Пирожков С.В., Наумова Т.А.* и др. Иммуноклеточный статус и выраженность эндотоксинемии у больных алкоголизмом с различной степенью алкогольного поражения печени // *Наркология.* — 2008. — Т. 82, №10. — С. 42—48.
3. *Петухов В.А., Магомедов М.С.* Современный взгляд на проблему эндотоксиновой агрессии и дисфункции эндотелия в хирургии // *Хирургия, реанимация и интенсивная терапия.* — 2008. — №2.
4. *Савельев В.С., Яблоков Е.Г., Петухов В.А.* Липидный дистресс-синдром в хирургии // *Бюл. экспер. биол.* — 1999. — Т. 127, №6. — С. 604—611.

5. **Чижиков Н.В., Аниховская И.А., Лиходед В.Т.** и др. Системная эндотоксинемия в патогенезе атеросклероза // Успехи соврем. биологии. — 2001. — Т. 121, №3. — С. 266—274.
6. **Яковлев М.Ю.** Системная эндотоксинемия в физиологии и патологии человека: Автореф. дисс. на соискание ученой степени д.м.н. — М., 1993.
7. **Andre S., Tough D.F., Lacroix-Desmazes S., Kaveri S.V., Bayry J.** Surveillance of antigen-presenting cells by CD4+CD25+ regulatory T cells in autoimmunity. Immunopathogenesis and therapeutic implications // *Am. J. Pathology*. — 2009. — Vol. 174, №5. — P. 1575—1587.
8. **Antignano F., Hamilton M., Patterson S.** et al. SHIP-deficient dendritic cells, unlike wild type dendritic cells, suppress T cell proliferation via a nitric oxide-independent mechanism // *PLoS One*. — 2011. — Vol. 6, №7. — P. e21893.
9. **Bellin T., Martinez V., Lucendo B., Rodriguez-Sanz A.** et al. Alternative activation of macrophages in human peritoneum: implications for peritoneal fibrosis // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2011. — Vol. 26, №9. — P. 2995—3005.
10. **Cai L., Ji A., de Beer F.C.** et al. SR-BI protects against endotoxemia in mice through its roles in glucocorticoid production and hepatic clearance // *J. Clin. Invest.* — 2008. — Vol. 118, №1. — P. 364—375.
11. **Chavez-Sanchez L., Chavez-Rueda K., Legorreta-Haquet M.V.** et al. The activation of CD14, TLR4, and TLR2 by mmLDL induces IL-1 $\beta$ , IL-6, and IL-10 secretion in human monocytes and macrophages // *Lipids Health Dis.* — 2010. — Vol. 9. — P. 117—126.
12. **Chen Y., Jiang G., Yang H.-R.** et al. Distinct response of liver myeloid dendritic cells to endotoxin is mediated by IL-27 // *J. Hepatol.* — 2009. — Vol. 51, №3. — P. 510—519.
13. **Cho K.-H.** Biomedical implications of high-density lipoprotein: its composition, structure, functions, and clinical applications // *BMB reports*. — 2009. — Vol. 42, №7. — P. 393—400.
14. **Damsker J.M., Hanse A.M., Caspi R.R.** Th1 and Th17 cells. Adversaries and collaborators // *Ann. N.Y. Acad. Sci.* — 2010. — Vol. 1183. — P. 211—221.
15. **Deaglio S., Dwyer K.M., Gao W.** et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression // *J. Exp. Med.* — 2000. — Vol. 204, №6. — P. 1257—1265.
16. **Devaraj S., Jialal I.** C-reactive protein polarizes human macrophages to an M1 phenotype and inhibits transformation to the M2 phenotype // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2011. — Vol. 31, №6. — P. 1397—1402.
17. **Domguez P.M., Arдав C.** Differentiation and function of mouse monocyte-derived dendritic cells in steady state and inflammation // *Immunol. Rev.* — 2010. — Vol. 234, №1. — P. 90—104.
18. **Dwyer K.M., Deaglio S., Gao W.** et al. CD39 and control of cellular immune responses // *Purinergic Signal.* — 2007. — Vol. 3, №1—2. — P. 171—180.
19. **Evans H.G., Suddason T., Jackson I.** et al. Optimal induction of T helper 17 cells in humans requires T cell receptor ligation in the context of Toll-like receptor-activated monocytes // *PNAS*. — 2007. — Vol. 104, №43. — P. 17034—17039.
20. **Fernandes M.L., Mendes M.E., Brunialti M.K.C., Salomao R.** Human monocytes tolerant to LPS retain the ability to phagocytose bacteria and generate reactive oxygen species // *Braz. J. Med. Biol. Res.* — 2010. — Vol. 43, №9. — P. 860—868.
21. **Fernandez-Boyanapalli R., McPhillips K.A., Frasch S.C.** et al. Impaired phagocytosis of apoptotic cells by macrophages in chronic granulomatous disease is reversed by IFN- $\beta$  in a nitric oxide-dependent manner // *J. Immunol.* — 2010. — Vol. 185, №7. — P. 4030—4041.
22. **Fossiez F., Djossou O., Chomarat P.** et al. T cell interleukin-17 induces stromal cells to produce proinflammatory and hematopoietic cytokines // *J. Exp. Med.* — 1996. — Vol. 183. — P. 2593—2603.
23. **Fujita Y., Yamaguchi S., Kakino A.** et al. Lectin-like oxidized LDL receptor 1 is involved in CRP-mediated complement activation // *Clin. Chem.* — 2011. — Vol. 57, №10. — P. 1398—1405.
24. **Fukui H.** Relation of endotoxin, endotoxin binding proteins and macrophages to severe alcoholic liver injury and multiple organ failure // *Alcohol. Clin. Exp. Res.* — 2005. — Vol. 29. — (11 Suppl.). — P. 172S—179S.
25. **Gao B., Jeong W.I., Tian Z.** Liver: An organ with predominant innate immunity // *Hepatology*. — 2008. — Vol. 47, №2. — P. 729—736.
26. **Gao Y., Flori L., Lecardonnel J.** et al. Transcriptome analysis of porcine PBMCs after in vitro stimulation by LPS or PMA/ionomycin using an expression array targeting the pig immune response // *BMC Genomics*. — 2010. — Vol. 11. — P. 292—362.
27. **Groeneweg M., Kanters E., Vergouwe M.N.** et al. Lipopolysaccharide-induced gene expression in murine macrophages is enhanced by prior exposure to oxLDL // *J. Lipid. Res.* — 2006. — Vol. 47. — P. 2259—2267.
28. **Gruaz L., Delucinge-Vivier C., Descombes P.** et al. Blockade of T cell contact-activation of human monocytes by high-density lipoproteins reveals a new pattern of cytokine and inflammatory genes // *PLoS One*. — 2010. — Vol. 5, №2. — e9418—e9427.
29. **Guo L., Song Z., Li M.** et al. Scavenger receptor BI protects against septic death through its role in modulating inflammatory response // *J. Biol. Chem.* — 2009. — Vol. 284, №30. — P. 1926—1934.
30. **Hammerich L., Heymann F., Tacke F.** Role of IL-17 and Th17 Cells in Liver Diseases // *Clin. Dev. Immunol.* — 2011. — Vol. 2011. — P. 345803—345815.
31. **Hegde S., Fox L., Wang X., Gumperz J.E.** Autoreactive natural killer T cells: promoting immune protection and immune tolerance through varied interactions with myeloid antigen-presenting cells // *Immunology*. — 2010. — Vol. 130, №4. — P. 471—483.
32. **Huang X., Stone D.K., Yu F.** et al. Functional proteomic analysis for regulatory T cell surveillance of the HIV-1-infected macrophage // *J. Proteome Res.* — 2010. — Vol. 9, №12. — P. 6759—6773.
33. **Hubscher S.G.** Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease // *Histopathology*. — 2006. — Vol. 49, №5. — P. 450—465.
34. **Kaouther M., Ridha O.** Dendritic cell-based graft tolerance // *ISRN Pharmacol.* — 2011. — Vol. 2011, Article ID 347134. — 4 p.
35. **Kida Y., Xia Z., Zheng S.** et al. Interleukin-1 as an injury signal mobilizes retinyl esters in hepatic stellate cells through down regulation of lecithin retinol acyltransferase // *PLoS One*. — 2011. — Vol. 6, №11. — P. e26644.
36. **Kitani A., Xu L.** Regulatory T cells and the induction of IL-17 // *Mucosal. Immunol.* — 2008. — Suppl. 1. — P. S43—S46.
37. **Kmie J.Z.** Cooperation of liver cells in health and disease // *Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol.* — 2001. — Vol. 161, №III—XIII. — P. 1—151.
38. **Kobie J.J., Shah P.R., Yang L.** et al. T regulatory and primed uncommitted CD4 T cells express CD73, which suppresses effector CD4 T cells by converting 5'-adenosine monophosphate to adenosine // *J. Immunol.* — 2006. — Vol. 177. — P. 6780—6786.

39. **Kremer M., Thomas E., Milton R.J.** et al. Kupffer cell and interleukin-12-dependent loss of natural killer T cells in hepatosteatosis // *Hepatology*. — 2010. — Vol. 51, №1. — P. 130–141.
40. **Kuang D.M., Peng C., Zhao Q.** et al. Tumor-activated monocytes promote expansion of IL-17-producing CD8<sup>+</sup> T cells in hepatocellular carcinoma patients // *J. Immunol.* — 2010. — Vol. 185, №3. — P. 1544–1549.
41. **Kuda O., Jenkins C.M., Skinner J.R.** et al. CD36 is involved in store operated calcium flux, phospholipase A2. Activation and production of prostaglandin E2 // *J. Biol. Chem.* — 2011. — Vol. 286, №20. — P. 17785–17795.
42. **Kunz M., Ibrahim S.M.** Cytokines and cytokine profiles in human autoimmune diseases and animal models of autoimmunity // *Mediators Inflamm.* — 2009. — Vol. 2009. — P. 979258–979278.
43. **Lan R.Y.Z., Salunga T.L., Tsuneyama K.** et al. Hepatic IL-17 responses in human and murine primary biliary cirrhosis // *J. Autoimmunity*. — 2009. — Vol. 32, №1. — P. 43–51.
44. **Leonardo S.M., Josephson J.A., Hartog N.L., Gauld S.B.** Altered B cell development and anergy in the absence of Foxp3 // *J. Immunology*. — 2010. — Vol. 185, №4. — P. 2147–2156.
45. **Levits J.H., Geurts P., Karlsson H.** et al. High-density lipoprotein proteome dynamics in human endotoxemia // *Proteome Sci.* — 2011. — Vol. 9, №1. — P. 34–43.
46. **Levine D.M., Parker T.S., Donnelly T.M.** et al. In vivo protection against endotoxin by plasma high density lipoprotein // *Proceed. Natl. Acad. Sci. USA*. — 1993. — Vol. 90. — P. 12040–12044.
47. **Li Q., Wang Y., Chen K.** et al. The role of oxidized low-density lipoprotein in breaking peripheral Th17/Treg balance in patients with acute coronary syndrome // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* — 2010. — Vol. 394, №3. — P. 836–842.
48. **Li X.A., Guo L., Asmis R.** et al. Scavenger receptor BI prevents nitric oxide-induced cytotoxicity and endotoxin-induced death // *Circ. Res.* — 2006. — Vol. 98. — P. e60–e65.
49. **Liu G., Ma H., Qiu L.** et al. Phenotypic and functional switch of macrophages induced by regulatory CD4(+)CD25(+) T cells in mice // *Immunol. Cell. Biol.* — 2011. — Vol. 89, №1. — P. 130–142.
50. **Liu Y.Y., Sun L.C., Wei J.J.** et al. Tumor cell-released TLR4 ligands stimulate Gr-1+CD11b+F4/80+ cells to induce apoptosis of activated T cells // *J. Immunol.* — 2010. — Vol. 185, №5. — P. 2773–2782.
51. **Lu Z., Li M., Qiu Q.** et al. Effect of antimicrobial agents on the toll-like receptors and inflammatory cytokines in liver tissue of the alcohol-induced liver disease in rats with *Vibrio vulnificus* sepsis // *Chinese Med. J.* — 2009. — Vol. 122, №16. — P. 1910–1916.
52. **Mandapathil M., Szczepanski M.J., Szajnik M.** et al. Adenosine and prostaglandin E2 cooperate in the suppression of immune responses mediated by adaptive regulatory T cells // *J. Biol. Chem.* — 2010. — Vol. 285, №36. — P. 27571–27580.
53. **Martinez F.O., Gordon S., Locati M., Mantovani A.** Transcriptional profiling of the human monocyte-to-macrophage differentiation and polarization: new molecules and patterns of gene expression // *J. Immunol.* — 2006. — Vol. 177. — P. 7303–7311.
54. **Medvedev A.E., Sabroe I., Hasday J.D., Vogel S.N.** Tolerance to microbial TLR ligands: molecular mechanisms and relevance to disease // *J. Endotoxin Res.* — 2006. — Vol. 12. — P. 133–150.
55. **Mercer F., Kozhaya L., Unutmaz D.** Expression and function of TNF and IL-1 receptors on human regulatory T cells // *PLoS One*. — 2010. — Vol. 5, №1. — P. e8639–e8648.
56. **Murphy A.J., Woollard K.J., Suhartoyo A.** et al. Neutrophil activation is attenuated by high-density lipoprotein and apolipoprotein A-I in vitro and in vivo models of inflammation // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* — 2011. — Vol. 31, №6. — P. 1333–1341.
57. **Niedbala W., Cai B., Liu H.** et al. Nitric oxide induces CD4+CD25+ Foxp3 regulatory T cells from CD4+CD25 T cells via p53, IL-2, and OX40 // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. — 2007. — Vol. 104, №39. — P. 15478–15483.
58. **Nolting J., Daniel C., Reuter S.** et al. Retinoic acid can enhance conversion of naive into regulatory T cells independently of secreted cytokines // *J. Exp. Med.* — 2009. — Vol. 206. — P. 2131–2139.
59. **Ohta A., Sitkovsky M.** Role of G-protein-coupled adenosine receptors in downregulation of inflammation and protection from tissue damage // *Nature*. — 2001. — Vol. 414. — P. 916–920.
60. **Patel D.N., King C.A., Bailey S.R.** et al. Interleukin-17 stimulates C-reactive protein expression in hepatocytes and smooth muscle cells via p38 MAPK and ERK1/2-dependent NF- $\kappa$ B and C/EBP $\beta$  activation // *J. Biol. Chem.* — 2007. — Vol. 282, №37. — P. 27229–27238.
61. **Pietropaoli A., Georas S.N.** Resolving lung injury: a new role for Tregs in controlling the innate immune response // *J. Clin. Invest.* — 2009. — Vol. 119, №10. — P. 2891–2894.
62. **Prochazkova J., Fric J., Pokorna K.** et al. Distinct regulatory roles of transforming growth factor-beta and interleukin-4 in the development and maintenance of natural and induced CD4+ CD25+ Foxp3+ regulatory T cells // *Immunology*. — 2009. — Vol. 128. — (1 Suppl.). — P. 670–678.
63. **Raffin C., Raimbaud I., Valmori D., Ayyoub M.** Ex vivo IL-1 receptor type I expression in human CD4+ T cells identifies an early intermediate in the differentiation of Th17 from FOXP3+ naive regulatory T cells // *J. Immunol.* — 2011. — Vol. 187, №10. — P. S196–202.
64. **Reutershan J., Vollmer I., Stark S.** et al. Adenosine and inflammation: CD39 and CD73 are critical mediators in LPS-induced PMN trafficking into the lungs // *FASEB J.* — 2009. — Vol. 23, №2. — P. 473–482.
65. **Rosenblat M., Volkova N., Ward J., Aviram M.** Paraoxonase 1 (PON1) inhibits monocyte-to-macrophage differentiation // *Atherosclerosis*. — 2011. — Vol. 219, №1. — P. 49–56.
66. **Roth R.I., Levin F.C., Levin J.** Distribution of bacterial endotoxin in human and rabbit blood and effects of stroma-free hemoglobin // *Infection and Immunity*. — 1993. — Vol. 61. — P. 3209–3215.
67. **Rotta G., Edwards E.W., Sangaletti S.** et al. Lipopolysaccharide or whole bacteria block the conversion of inflammatory monocytes into dendritic cells in vivo // *J. Exp. Med.* — 2003. — Vol. 198, №8. — P. 1253–1263.
68. **Rowan A.G., Fletcher J.M., Ryan E.J.** et al. Hepatitis C virus-specific Th17 cells are suppressed by virus-induced TGF- $\beta$  // *J. Immunology*. — 2008. — Vol. 181, №7. — P. 4485–4494.
69. **Schafer C., Parlesak A., Schutt C.** et al. Concentrations of lipopolysaccharide-binding protein, bactericidal/permeability-increasing protein, soluble CD14 and plasma lipids in relation to endotoxaemia in patients with alcoholic liver disease // *Alcohol and Alcoholism*. — 2002. — Vol. 37, №1. — P. 81–86.

70. *Schenk M., Mueller C.* Adaptations of intestinal macrophages to an antigen-rich environment // *Semin. Immunol.* — 2007. — Vol. 19. — P. 84–93.
71. *Schulze C., Munoz L.E., Franz S.* et al. Clearance deficiency—a potential link between infections and autoimmunity // *Autoimmun. Rev.* — 2008. — Vol. 8, №1. — P. 5–8.
72. *Shibata T., Nagata K., Kobayashi Y.* Apoptotic neutrophils and nitric oxide regulate cytokine production by IFN  $\gamma$ -stimulated macrophages // *Cytokine.* — 2011. — Vol. 53, №2. — P. 191–195.
73. *Silverstein R.L.* Inflammation, atherosclerosis, and arterial thrombosis: role of the scavenger receptor CD36 // *Cleve. Clin. J. Med.* — 2009. — Vol. 76. — Suppl. 2. — S27–30.
74. *Smith P.D., Ochsenbauer-Jambor C., Smythies L.E.* Intestinal macrophages: unique effector cells of the innate immune system // *Immunol. Rev.* — 2005. — Vol. 206. — P. 149–159.
75. *Smythies L.E., Sellers M., Clements R.H.* et al. Human intestinal macrophages display profound inflammatory anergy despite avid phagocytic and bacteriocidal activity // *J. Clin. Invest.* — 2005. — Vol. 115. — P. 66–75.
76. *Swain M.G.* Natural killer T cells within the liver: conductors of the hepatic immune orchestra // *Dig. Dis.* — 2010. — Vol. 28, №1. — P. 7–13.
77. *Takeda N., O'Dea E.L., Doedens A.* et al. Differential activation and antagonistic function of HIF- $\alpha$  isoforms in macrophages are essential for NO homeostasis // *Genes. Dev.* — 2010. — Vol. 24, №5. — P. 491–501.
78. *Thompson P.A., Gauthier K.C., Varley A.W., Kitchens R.L.* ABCA1 promotes the efflux of bacterial LPS from macrophages and accelerates recovery from LPS-induced tolerance // *J. Lipid Res.* — 2010. — Vol. 51, №9. — P. 2672–2685.
79. *Tiesgs G., Lohse A.W.* Immune tolerance: what is unique about the liver // *J. Autoimmun.* — 2010. — Vol. 34, №1. — P. 1–6.
80. *Tomizawa R., Watanabe M., Inoue N.* et al. Association of functional G1TR gene polymorphisms related to expression of glucocorticoid-induced tumour necrosis factor-receptor (G1TR) molecules with prognosis of autoimmune thyroid disease // *Clin. Exp. Immunol.* — 2011. — Vol. 165, №2. — P. 141–147.
81. *Tran D.Q.* TGF- $\beta$ 1: the sword, the wane, and the shield of FOXP3+ regulatory T cells // *J. Mol. Cell. Biol.* — 2012. — Vol. 4, №1. — P. 29–37.
82. *Villalta A., Nguyen H.X., Deng B.* et al. Shifts in macrophage phenotypes and macrophage competition for arginine metabolism affect the severity of muscle pathology in muscular dystrophy // *Human Mol. Genetics.* — 2009. — Vol. 18, №3. — P. 482–496.
83. *Xiao S., Jin H., Korn T.* et al. Retinoic acid increases Foxp3+ regulatory T cells and inhibits development of Th17 cells by enhancing TGF- $\beta$ -driven Smad3 signaling and inhibiting IL-6 and IL-23 receptor expression // *J. Immunol.* — 2008. — Vol. 181. — P. 2277–2284.
84. *Yin K., Deng X., Mo Z.-Ch.* et al. Tristetraprolin-dependent posttranscriptional regulation of inflammatory cytokines mRNA expression by apolipoprotein A-I: role of ATP-binding membrane cassette transporter A-I and signal transducer and activator of transcription 3 // *J. Biol. Chem.* — 2011. — Vol. 286, №16. — P. 13834–13845.
85. *Yvan-Charve L., Welch C., Pagler T.A.* et al. Increased inflammatory gene expression in ABC transporter deficient macrophages: free cholesterol accumulation, increased signaling via Toll-like receptors and neutrophil infiltration of atherosclerotic lesions // *Circulation.* — 2008. — Vol. 118, №18. — P. 1837–1847.
86. *Zhang J.P., Yan J., Xu J.* et al. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients // *J. Hepatol.* — 2009. — Vol. 50. — P. 980–989.
87. *Zhou H., Chen L., You Y.* et al. Foxp3-transduced polyclonal regulatory T cells suppress NK cell functions in a TGF- $\beta$  dependent manner // *Autoimmunity.* — 2010. — Vol. 43, №4. — P. 299–307.

Поступила 07.12.11

#### Сведения об авторах:

*Панченко Леонид Федорович* — д-р мед. наук, проф., акад. РАМН, зав. лаб. биохимии ФГБУ «НИИОПП» РАМН, зав. лаб. биохимии ФГБУ «НИИОПП» Минздравсоцразвития РФ

*Пирожков Сергей Викторович* — д-р мед. наук, проф., ГОУ ВПО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздравсоцразвития России, вед. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ «ННЦН» Минздравсоцразвития РФ

*Теребилина Наталья Николаевна* — канд. мед., вед. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ «ННЦН» Минздравсоцразвития РФ

*Наумова Татьяна Александровна* — канд. биол. наук, вед. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ «ННЦН» Минздравсоцразвития РФ

*Баронец Валерия Юрьевна* — старш. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ «ННЦН» Минздравсоцразвития РФ

*Шойбонов Батожаб Батожаргалович* — канд. хим. наук, вед. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ «ННЦН» Минздравсоцразвития РФ

Д.А. Астахов<sup>1,2</sup>, М.В. Баранов<sup>1</sup>, Д.Н. Панченков<sup>2</sup>

## **Физиологические эффекты микрогравитации как факторы риска заболеваний в космическом полете**

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Московский государственный медико-стоматологический университет

Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию», 127473, Москва, ул. Делегатская, д. 20, стр.1

*В обзоре рассматриваются физиологические эффекты микрогравитации, оказывающие влияние на различные системы органов, такие, как сердечно-сосудистая, нейрогуморальная, иммунная системы и опорно-двигательный аппарат. Данные изменения могут негативно влиять на течение патологических процессов в условиях космического полета и рассматриваются как факторы риска развития заболеваний у космонавтов.*

**Ключевые слова:** микрогравитации, перераспределение жидких сред, репаративные процессы, анемия космического полета

D.A. Astakhov<sup>1,2</sup>, M.V. Baranov<sup>1</sup>, D.N. Panchenkov<sup>2</sup>

## **Physiological effects of microgravity as risk factors of diseases during space flight**

<sup>1</sup> The Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, 8, Baltiyskaya str., Moscow, 125315, Russia

<sup>2</sup> Moscow State University of Medicine and Dentistry, 20/1, Delegatskaya str., Moscow, 127473, Russia

*This paper considers to physiological effects of microgravity affecting different organs systems such as cardiovascular, neurohumoral, immune, and musculoskeletal systems. These physiologic changes suggest adverse influence with pathological processes during space flight and associated with high risk of morbidity of cosmonauts.*

**Key words:** microgravity, fluid shift, reparative processes, anemia of spaceflight

Знания, накопленные за 50-летнюю историю космонавтики, позволили разработать достаточно эффективную систему медицинского обеспечения орбитальных полетов и сделали возможным участие человека в длительных космических миссиях, продолжительностью более года. В предстоящие десятилетия планируется подготовка и реализация программы освоения Луны и экспедиции на Марс [49]. В рамках подготовки к этим полетам необходима разработка принципиально новых подходов к системе медицинского обеспечения будущих экспедиций. Освоение космического пространства сопряжено с переходом в принципиально иные условия обитания, важнейшей характеристикой которых являются изменения в силе гравитационных воздействий на организм. Все живое

на Земле возникло и развивалось при постоянном влиянии силы тяжести. Чтобы приспособиться к воздействию весовой нагрузки, растения и животные должны были выработать в процессе эволюции такие элементы внутренней самоорганизации, которые обеспечивали бы: сохранение постоянства формы целостного организма и взаиморасположения его анатомических структур; поддержание ориентированного относительно направления вектора силы тяжести положения в пространстве; реализацию необходимого уровня двигательной активности; удержание основных физиологических констант на уровне, адекватном воздействию на организм весовой нагрузки [1]. Из этого следует, что перечень гравитационно-зависимых черт в строении, функции и поведении земных организмов весьма широк и в самом общем виде охватывает опорно-двигательный аппарат, систему кровообращения, гравирецепцию и пространственную ориентацию, системы энергетического и регуляторного обеспечения перемещений. Ситуация, связанная с

**Для корреспонденции:** Астахов Дмитрий Анатольевич, младш. науч. сотр., лаб. физиологических проблем невесомости ФГБУ НИИОПП РАМН, асп. лаб. минимально инвазивной хирургии ГБОУ ВПО МГМСУ Минздравсоцразвития России. E-mail: astakhovd@mail.ru

исчезновением веса в космическом полете, обозначается различными терминами: «невесомость», «нулевая тяжесть», «безопорное состояние», «микрогравитация» и др. Термин «микрогравитация» наиболее строг, поскольку он предполагает возможность ничтожно малых гравитационных эффектов в реальных условиях космического полета, так как абсолютная невесомость возможна лишь в идеальных условиях. Микрогравитация действует в течение всего космического полета и закономерно приводит к развитию адаптивных реакций, сопровождающихся функциональной перестройкой гравитационно зависимых систем организма. Функциональные сдвиги, развивающиеся под влиянием микрогравитации в организме человека, представляют собой сочетание специфических изменений, обусловленных физической природой этого фактора, а также вторичных проявлений, связанных с адаптивными реакциями, к которым относится изменение сенсорного входа с гравирецепторов, перераспределение жидких сред организма и снятие весовой нагрузки на опорные структуры и мышечную систему с развитием рефлекторной гипотонии антигравитационных мышц. В дальнейшем происходит включение всей цепи причинно-следственных отношений, приводящих к изменению физиологических функций [1, 5, 12, 24, 38, 52]. Поскольку ничто живое на Земле в процессе филогенетического развития не подвергалось влиянию микрогравитации, адаптация к невесомости происходит с использованием традиционных физиологических механизмов, обуславливающих мозаичность приспособительных реакций и их метаболических проявлений [6]. Среди них изменения нейрогуморальной регуляции обмена веществ и деятельности основных физиологических систем: сердечно-сосудистой, водно-солевого обмена, системы пищеварения, опорно-двигательного аппарата, системы крови и др. Метаболические эффекты, возникающие в условиях невесомости, обусловлены взаимодействием анализаторов, изменением гемоциркуляции, снятием гравитационной нагрузки на опорно-двигательный аппарат. В комплексе возникающих в невесомости изменений важное значение имеет снижение интенсивности произвольной двигательной активности и нервно-эмоциональное напряжение. Основными компонентами метаболической адаптации являются мобилизация генетических ресурсов и пластическое обеспечение функций и защитных систем, направленных на поддержание и восстановление постоянства внутренней среды организма. Управление механизмами гомеостатического сбалансирования, адаптации осуществляется взаимодействием нейрогуморальной и эндокринной систем, показатели которых обладают широким диапазоном изменчивости. Диапазон изменчивости метаболических систем мобилизации энерге-

тического и пластического обеспечения функций также широк, что позволяет сохранять постоянство таких жизненно важных показателей, как осмотическое давление, напряжение кислорода, концентрация ионов, температура, содержание воды и др. Сердечно-сосудистые [2, 9, 17, 38, 39, 52] и нейросенсорные [4, 8, 26, 38, 52] физиологические реакции в условиях невесомости возникают достаточно быстро, другие, такие, как потеря массы тела [38, 40], ионов кальция [3, 35, 40, 45, 52], снижение функциональной активности в системе иммунитета [15, 27, 28, 37, 42, 47, 53], кроветворения [23, 46, 50] развиваются в течение полета. Направленность изменений во время полета носит адаптивный характер, но в некоторых своих проявлениях выходят за границы «земной» нормы, что должно вызывать особую настороженность врачей. Измененное функциональное состояние организма в невесомости позволяет предполагать и отличия в течении заболеваний в космическом полете по сравнению с земными условиями.

### **Сердечно-сосудистые и нейрогуморальные изменения**

В условиях земного притяжения большая часть объема крови распределена в периферическом русле из-за воздействия гравитации индуцирующей гидростатические силы. В настоящее время общепризнано, что устранение гидростатического давления сопровождается перераспределением жидких сред организма. Первоначально устранение гидростатического давления вызывает противоположные изменения деформации сосудов и окружающих их тканей, соотношения капиллярной фильтрации и абсорбции в областях, расположенных выше и ниже гидростатически индифферентной точки. Последняя характеризуется постоянным уровнем гидростатического давления крови, не зависящем от положения тела в пространстве [10, 11]. В условиях Земли стенки вен нижних конечностей, растянутые кровью, имеют более высокое напряжение, чем стенки вен шеи и головы, находящиеся в спавшемся состоянии. Этот градиент эластических сил стенок вен, расположенных выше и ниже гидростатически индифферентной точки, вызывает в условиях микрогравитации её смещение и перемещение крови из вен нижних конечностей в верхнюю часть тела. Изменения равновесия Старлинга, характеризующиеся уменьшением трансмурального капиллярного давления и увеличением перехода интерстициальной жидкости во внутрисосудистое пространство в областях ниже гидростатически индифферентной точки, и противоположными изменениями в вышележащих областях, вызывает перемещение жидкостных сред из нижней в верхнюю часть тела [43]. Данные полученные в эксперименте на животных, а в после-

дующем и при обследовании космонавтов свидетельствуют о том, что после воздействия микрогравитации значительно уменьшался объем плазмы крови, снижалось содержание в ней ионов натрия и калия, что, обусловлено уменьшением объема циркулирующей крови и повышенным уровнем экскреции ионов натрия и калия почками. Данное объемное перераспределение жидкости и изменение электролитного состава соответствует эквивалентно земной гиповолемии. Ряд авторов считает, что в условиях моделирования физиологических эффектов невесомости так же как и в условиях космического полета происходящее перераспределение жидкостей организма в краниальном направлении приводит к стимуляции барорецепторов артериальных рефлексогенных зон, и рефлекса Генри—Гауэра с механорецепторов системы низкого давления. [29, 43]. Указанное перераспределение вызывает подавление ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, что в полёте у астронавтов «Спейс Шаттл» и «Спейслаб» проявлялось в первые 2 дня снижением содержания в крови ангиотензина-1 и альдостерона и увеличением АДГ. Параллельно происходит высвобождение предсердного натрийуретического пептида, вызывающего усиление почечной экскреции солей и воды, и уменьшение объема плазмы [29]. В первые 24 часа космического полета происходит редукция до 17% объема плазмы, что приводит к транзитному повышению гематокрита и вызывает снижение секреции эритропоэтина, приводящее к снижению числа эритроцитов [46, 50]. Кроме того, одновременно срабатывают физиологические механизмы, снижающие субъективную потребность в жидкости (жажду). Под влиянием этих регуляторных механизмов развивается тенденция к снижению сосудистого тонуса и диастолического артериального давления, часть крови депонируется во внутренних органах. Ультразвуковые исследования [14] обнаружили общую умеренную гиповолемию, относительную гиповолемию нижних конечностей и гиперволемию в сосудах шеи и головного мозга. Как результат, у космонавтов наблюдалось снижение циркулирующего объема крови от 10 до 23% за время полета. За время длительного пребывания в условиях микрогравитации на станции «МИР» ударный сердечный объем снижался от 10 до 20%. Изменения общей и регионарной гемодинамики имеют в целом адаптационную направленность. Формирование систем регуляции адаптационных гемодинамических реакций на ортостатические воздействия относится к наиболее позднему этапу биологической эволюции и связано с появлением прямохождения и прямохождения — специфических черт человека [10, 11]. Относительная филогенетическая «молодость» этих систем обуславливает возможность несовершенства их индивидуаль-

ного формирования, зависимость от степени тренированности человека и повышенную ранимость при стрессовых влияниях окружающей среды к которым относится гиповолемия в условиях космического полета. Синкопальные и пресинкопальные состояния отражают снижение ортостатической устойчивости и церебральную гипоперфузию как следствие описанных циркуляторных изменений. В условиях микрогравитации эти изменения являются адаптивным ответом на снизившиеся сердечно-сосудистые потребности и относительное увеличение объема плазмы сразу после запуска корабля, но при этом уменьшаются гемодинамические резервы в случае столкновения с серьезной травмой. С этим базовым дефицитом потребности реципиента в восполнении жидкости и компонентов крови могут возрасти, а степень шока стать более тяжелой в ответ на небольшой объем травмы или ожога по сравнению со схожими повреждениями на Земле. Центральный контроль над гемодинамикой так же нарушается в условиях космического полета. Исследования выявили снижение ответа с барорецепторов, которое персистировало до 10 дней после приземления в условиях нормализации объема крови. Эти данные интерпретировали как доказательство потери вагального контроля над синусным узлом [17, 25, 41]. Другие исследователи наблюдали ослабление барорецепторной функции сердца, как единственный маркер существенной автономной реадaptации к микрогравитации [25, 41]. Все это может снижать способность поддержания кровяного давления в случае развития патологических состояний сопровождающихся явлениями гиповолемического или геморрагического стресса.

### Иммунная функция

Существует много свидетельств, что в условиях космического полета снижается иммунный ответ [15, 27, 28, 37, 42, 47, 53]. Комплексные эффекты микрогравитации на иммунную систему включают: нейтропению, лимфоцитопению, эозинопению и ряд функциональных нарушений в звеньях клеточно-опосредованного иммунитета [1, 5, 15, 27, 28, 37, 38, 42, 47, 52, 53]. В большинстве работ авторы указывают на снижение численности иммунокомпетентных клеток на фоне возникающих дефектных характеристик, включая меньшие размеры, уменьшение числа гранул, редукцию ряда мембранных рецепторов [15, 27, 37, 42, 47]. Выявлено, что после космических полетов уменьшалось число Т-лимфоцитов, и изменялись соотношения в популяциях Т4 и Т8 клеток. *In vivo*, согласно полетной программы по исследованию клеточно-опосредованного иммунитета у членов команды «Спейсшаттла», выявили существенное снижение реактивности с задержкой кожной реакции гиперчувств-



вительности [48]. Ответ Т-клеток на митогенные стимуляторы были значительно задержаны во время и после полета [47, 37, 48]. Снижение цитотоксической активности лимфоцитов — естественных киллеров было показано многими исследователями как после длительных космических полетов, так и после кратковременных экспедиций [47, 42, 27, 28, 48]. Отмечена высокая степень вариабельности данного показателя у различных космонавтов (астронавтов), однако тенденция к снижению была явно выражена после завершения космического полета. Анализ системы естественных киллеров позволил установить, что в результате воздействия факторов космического полета угнетаются такие функции, как способность распознавать и образовывать конъюгаты с клетками-мишенями, способность к повторным взаимодействиям с чужеродными клетками, а также интегральная цитотоксическая активность популяции естественных киллеров. Такие изменения могут явиться пусковым фактором не только для развития злокачественных новообразований, но и заболеваний инфекционной, в первую очередь, вирусной природы у космонавтов, как во время космического полета, так и после его завершения.

### Репаративные процессы

Заживление ран и тканевая репарация имеет решающее значение для выздоровления после травматических повреждений и оперативных вмешательств. Предварительные исследования определенных аспектов репарации ткани в условиях микрогравитации показали, что многие изменения полностью не ясны. Гистологический и тензиометрический анализ кожных разрезов на всю толщину кожи брюшной стенки у крыс на борту «Эндевора» выявили более выраженный воспалительный ответ, увеличенную фиброплазию, ненормальное расположение коллагеновых волокон [44]. Данные о том, что в условиях микрогравитации нарушена архитектура коллагеновых структур при репаративных процессах, могут объяснить нарушение локомоторных свойств иммунных клеток. Направление движения клеток может определяться не только химическими реакциями, но и физическими характеристиками среды, в которой движутся клетки. Контактное ориентирование является реакцией, при которой движение клеток в структурированных тканях определяется осью ориентации. Обычно клетки предпочитают двигаться по оси выемок и не пресекать гребни между ними [7]. Многие трехмерные матрицы, например фибриллы коллагена и фибриновые свертки, обладают гравитационно зависимой ориентацией. Известно, что фибробласты и лейкоциты ориентируются вдоль оси таких матриц [7, 22]. От-

сюда, нарушение структуры в фибриновых сгустках и ориентации коллагеновых структур может приводить к более длительной персистенции иммунных клеток в очаге воспаления и снижению скорости их накопления.

Электронно-микроскопический анализ конъюгатов естественных киллеров из крови с клетками мишенями показал необычные картины нарушения ультраструктуры секреторного и локомоторного аппаратов лимфоцитов. Наблюдались естественные киллеры без активации секреторного аппарата, но соединенные с клеткой мишенью, клетки с активированным секреторным аппаратом без соответствующей ориентации комплекса Гольджи и секреторных гранул относительно клетки-мишени. Встречались естественные киллеры с частичной активацией секреторного аппарата (гипертрофия комплекса Гольджи, но без секреторных гранул и микротрубочек). В некоторых клетках правильной ориентации секреторного аппарата препятствовали «новые структуры» — фибриллярно-пластинчатые и трубчато-кристаллические, что иллюстрирует негативное влияние невесомости на цитоскелет [1]. Дальнейшее изучение этого феномена показало, что воздействие микрогравитации приводит к повреждению микротрубочек, вызывает деградацию актинового цитоскелета, что проявлялось в сморщивании мембраны, изменении формы и размера клеток, при этом значительно снижалась их пролиферативная активность [21, 51, 36, 32]. Клеточный цитоскелет и адгезивные молекулы — интегрин играют важную роль в механорегуляции клеток [33, 34]. Интегрин объединяют внеклеточный матрикс с актиновым цитоскелетом и микротрубочками. Считается, что цитоскелет объединяет внешнюю мембрану с ядром и играет ключевую роль в трансдукции плеотропных сигналов и экспрессии генов. Разрушение филаментов или разрывы их связей с ассоциированными белками приводит к остановке клеточного цикла. Рецепторы факторов роста внешней мембраны связаны с внутриклеточными киназными путями, а те в свою очередь с цитоскелетом [16, 19, 20, 21, 32]. Дезорганизация цитоскелета является дополнительным фактором снижения локомоторной активности иммунокомпетентных клеток.

Указанные изменения отчасти объясняют наблюдаемые факты: замедление скорости репаративных процессов, снижение фагоцитарной активности Т-лимфоцитов, падение цитотоксической активности естественных киллеров, снижение интродуцированной продукции ИЛ-2 и другие, что создает предпосылки к развитию осложнений и изменению характера течения заболеваний у космонавтов в условиях длительного космического полета.

## Система крови

Уже на ранних этапах изучения эффектов микрогравитации российскими и американскими исследователями было выявлено снижение числа эритроцитов у космонавтов [15, 24, 46, 50]. Эритроцитарная реакция в полётах длительностью 8 мес. и 1 год проявлялась снижением содержания эритроцитов в единице объема крови, анизоцитозом и гипохромией, увеличением числа мишеневидных эритроцитов (до 31%) и овалоцитов [46, 50]. Во время полётов трех экспедиций по программе 438-суточного полёта обнаружена фазовая реакция изменения числа эритроцитов у врача-космонавта (ВК) (снижение на 70-е и 160-е, нормализация на 310-е и повышение на 380-е сутки полёта) [1]. Гематокрит в начальном периоде полёта увеличивался, а в дальнейшем снижался. Уменьшение концентрации гемоглобина зарегистрировано у всех космонавтов на 30-е — 50-е сутки. Это уменьшение было максимально выраженное на 95-е — 115-е сутки и сохранялось до окончания полетов. В крови увеличивалось число анизоцитов и сфероцитов у всех космонавтов. Уменьшение числа аномальных форм эритроцитов происходило на 290-е и 430-е сутки полёта. Уменьшение количества эритроцитов по возвращении на Землю было названо — анемией космического полета. Максимальное снижение достигалось на 40-е — 60-е дни полета. Предположительно механизм связан с тем, что на фоне нормальной (физиологической) деструкции эритроцитов имеет место подавление эритропоэза, как показано, посредством ретикулоцитопении, эритроидной гипоплазии костного мозга, а также снижение эритропоэтина до 31% от предполетного уровня [46, 50]. Эти изменения, вероятно, отражают физиологическую адаптацию к полицитемии, индуцированной снижением объема циркулирующей жидкости, как описывалось выше. Развивающийся в полёте синдром функциональной эритроцитопении может способствовать ухудшению кислородно-транспортной функции крови, усугублению синдромов физической и ортостатической детренированности. Несмотря на свой физиологический адаптивный характер, эти изменения приводят к снижению резервов для выживания и увеличению вероятности развития осложнений при заболеваниях и повреждениях.

## Опорно-двигательный аппарат

Снижение мышечной массы и ее силовых характеристик зафиксировано во всех случаях воздействия микрогравитации на организм. За время двухнедельного космического полета объем мышечной массы снижается на 20%. При более длительных миссиях (3—6 мес.) зафиксировано 30%-ное снижение [52]. Деминерализация костной ткани, мышечная атрофия,

развитие детренированности, снижение резистентности организма по отношению к гравитационным воздействиям и физическим нагрузкам являются, по существу, проявлениями феномена «неупотребления» или «атрофии от бездействия». Присущая биологическим системам программа установления адекватных взаимоотношений организма со средой в ситуации, связанной с пониженными требованиями среды, приводит к утрате тех свойств и качеств, необходимость в которых в невесомости отпадает [1, 5, 38, 52]. В условиях микрогравитации мышцы подвергаются биохимическим и структурным изменениям. Отмечено, что редукция мышечной массы осуществляется за счет потерь в размерах, но не в количестве миофибрилл. Наблюдаются противоположные процессы: снижается синтез протеинов в миофибриллах на фоне усиленной их деградации. Также замечено, что миофибриллы 2-го типа подвергаются более быстрой деградации, чем 1-го типа. Данный сдвиг позволяет мышцам быстрее сокращаться, но при этом снижает устойчивость к длительной нагрузке [52].

Что касается костной системы, то снижение плотности костей в условиях микрогравитации, имеет место в течение всего полета и, вероятно, пропорционально его длительности. Показано, что этот процесс не имеет тенденции выхода на плато, то есть сам себя не ограничивает [1, 24, 35, 38, 40, 45]. Потеря костной массы, которая может достигать 5% в месяц, повышает риск переломов и висцеральных повреждений. В первые дни полета уровень экскреции кальция возрастает на 60—70% в моче и сохраняется на стабильно высоком уровне, что в свою очередь, повышает риск развития мочекаменной болезни.

Проведенные исследования показали, что в условиях микрогравитации ухудшается «качество» основных структурных компонентов костного матрикса. В ходе индукции остеобластов к остеогенезу замедляется выработка коллагена I типа клетками, что сопровождается последующими изменениями в структурной организации органического матрикса. При экспозиции более дифференцированных остеогенных клеток снижается уровень кальциевой минерализации матрикса [1, 3, 30, 31, 35, 38, 52]. Эти данные коррелируют с результатами исследований, проведенных на борту космической станции «МИР» показавших, что восстановление костей у крыс в условиях космического полета было снижено замедленным образованием костной мозоли и редуцированным ангиогенезом [3, 35]. Исследования на крысах проведенные в космосе и модельных экспериментах так же выявили разрушения в микрососудистом русле поврежденных мышц, редукцию числа капилляров, что указывает на снижение организованной репарации [40, 45].

### Заключение

Таким образом, обусловленные воздействием невесомости функциональные и морфологические изменения правомерно рассматривать как проявление приспособления организма к новым условиям. С этой точки зрения, они укладываются в понятие «адаптация» и означают установление оптимальных взаимоотношений организма с новыми характеристиками среды обитания [13]. Процессы перестроек, характерные для невесомости, многообразны, протекают с неодинаковой скоростью и приводят к неоднозначным конечным результатам. Показанные выше изменения, связанные с потерей органом эффектором структурно-функциональных элементов, или снижение числа таких элементов, могут негативно влиять на течение патологических процессов в условиях невесомости. Описанные изменения показывают, что адаптация к условиям микрогравитации вызывает у космонавтов напряженное функционирование всех систем органов и тканей. Формируя прогноз о возможных последствиях длительного пребывания человека в невесомости, совершенствуя системы оказания медицинской помощи космонавтам как в условиях космических экспедиций, так и в реадaptационном периоде после возвращения на Землю необходимо учитывать возможность развития состояния, граничащего с патологией и риски возникновения заболеваний, связанных с изменениями функционального состояния организма.

### Список литературы

1. **Антипов В.В., Григорьев А.И., Хаитун К.Л.** Космическая биология и медицина. Т. III, книга 1. Человек в космическом полете. — М.: Наука, 1997. — С. 58–230.
2. **Воробьев В.Е., Абдрахманов В.Р., Ковачевич И.В.** и др. Влияние антиортостатической гипокинезии на состояние легочного кровотока и газообмен // Космическая биология и авиакосмическая медицина. — 1983. — Т. 17, №4. — С. 16–18.
3. **Гершович Е.Г., Буравкова Л.Б.** Морфофункциональное состояние и остеогенный дифференцировочный потенциал мезенхимальных стромальных клеток-предшественников человека при моделировании эффектов микрогравитации in vitro // Клеточные технологии в биологии и медицине. — 2007. — №4. — С. 196–202.
4. **Григорьев А.М., Фарбер Ю.В., Волохова Н.А.** Вестибулярные реакции. — М.: Медицина, 1970. — С. 195.
5. **Григорьев А.И., Гуровский Н.Н., Егоров А.Д.** Основные механизмы невесомости // Космическая биол. и медицина. — М.: Наука, 1987. — С. 49–59.
6. **Григорьев А.М., Егоров А.Д.** Феноменология и механизмы изменения основных функций организма человека в невесомости // Космич. биология и авиакосмич. медицина. — 1988. — №6. — С. 4–17.
7. **Дейл М.М., Формен Дж.К.** Руководство по иммунофармакологии. — М.: Медицина, 1998. — 332 с.
8. **Корнилова Л.И., Клоушников О.Н., Корсунский С.Б., Козлова В.Г.** Вестибуло-глазодвигательные реакции в условиях иммерсионной гипокинезии // Авиаци. и экол. медицина. — 1992. — Т. 26, №4. — С. 43–47.
9. **Модин А.Ю.** Влияние гравитации на линейную скорость кровотока в различных отделах венозной системы человека // Авиакосм. и экол. мед. — 2002. — Т. 36, №2. — С. 4–6.
10. **Осадчий Л.И.** Положение тела и регуляция кровообращения. — Л.: Наука, 1982. — 144 с.
11. **Осадчий Л.И.** Постуральные реакции // Физиология кровообращения: Регуляция кровообращения. — Л.: Наука, 1986. — С. 317–334.
12. **Погодин М.А., Дошина Ж.А., Лаврова И.Н.** и др. Влияние антиортостатического положения тела на некоторых показатели кровообращения и дыхания наркотизированных кошек // Рос. физиол. журнал им. И.М. Сеченова. — 2000. — Т. 86, №12. — С. 1587–1593.
13. **Селье Г.** Очерки об адаптационном синдроме. — М.: Медгиз, 1960. — С. 255.
14. **Arbeille P., Pottier J.M., Palat F.** et al. Ultrasound technology and space cardiovascular medicine // Physiologist. — 1990. — Vol. 23, №1. — Suppl. — P. 159–162.
15. **Armstrong J.W., Gerren R.A., Chapes S.K.** The effect of space and parabolic flight on macrophage hematopoiesis and function // Exp. Cell Res. — 1995. — Vol. 216. — P. 160–168.
16. **Boonstra J.** Growth factor-induced signal transduction in adherent mammalian cells is sensitive to gravity // FASEB J. — 1999. — Vol. 13. — S35–42.
17. **Bungo M.W., Charles J.B., Johnson P.C.** Cardiovascular deconditioning during space flight and the use of saline as a countermeasure to orthostatic intolerance // Aviat. Space Environ. Med. — 1985. — Vol. 56. — P. 985–990.
18. **Carolyn S.L., Inners L.D., Charles J.B.** Changes in total body water during spaceflight // J. Clin. Pharmacol. — 1991. — Vol. 31. — P. 1001–1006.
19. **Carmeliet G., Bouillon R.** The effect of microgravity on morphology and gene expression of osteoblasts in vitro // FASEB J. — 1999. — Vol. 13. — S129–134.
20. **Carmeliet G., Nys G., Stockmans I., Bouillon R.** Gene expression related to the differentiation of osteoblastic cells is altered by microgravity // Bone. — 1998. — Vol. 22. — P. 139–143S.
21. **Chiquet M.** Regulation of extracellular matrix gene expression by mechanical stress // Matrix Biol. — 1999. — Vol. 18. — Issue 5. — P. 417–426.
22. **Cogoli-Greuter M., Meloni M., Sciola L.** et al. Movements and interactions of leukocytes in microgravity // J. Biotechnol. — 1996. — Vol. 47. — P. 279–287.
23. **Fischer C.L., Johnson P.C., Berry C.A.** Red blood cell mass and plasma volume changes in manned space flight. // JAMA. — 1967. — Vol. 200. — P. 579–583.
24. **Fowler J.-F.** Physiological changes during space flight // Cutis. — 1991. — Vol. 48. — P. 291–295.
25. **Fritsch J.M., Charles J.B., Bennett B.S.** et al. Short-duration spaceflight impairs human carotid baroreceptor-cardiac reflex responses // J. Appl. Physiol. — 1992. — Vol. 73. — P. 664–671.
26. **Graybiel A., Wood C.D., Miller E.F., Cramer D.B.** Diagnostic criteria for grading the severity of acute motion sickness // Aerospace Med. — 1968. — Vol. 39. — P. 453–455.
27. **Grigorieva O., Buravkova L., Rykova M., Andropova E.** Cell interactions in microgravity: cytotoxic effects of natural killer cells in vitro // Journal of Gravitational Physiology. — 2004. — Vol. 11, №2. — P. 177–180.
28. **Grigorieva O., Buravkova L., Rykova M.** Cytotoxic activity of NK lymphocytes in vitro under microgravity // Jo-

urnal of Gravitational Physiology. — 2005. — Vol. 12, №1. — P. 173—174.

29. **Henry J.P., Gauer O.H., Reeves J.L.** Evidence of atrial location of receptors influencing urieue flow // *Circulat. Res.* — 1956. — №4. — P. 85—90.

30. **Hughes-Fulford M., Lewis M.L.** Effects of microgravity on osteoblast growth activation // *Exp. Cell. Res.* — 1996. — Vol. 224. — P. 103—109.

31. **Hughes-Fulford M., Gilbertson V.** Osteoblast tibronectin mRNA, protein synthesis, and matrix are unchanged after exposure to microgravity // *FASEB J.* — 1999. — Vol. 13. — S121—127.

32. **Hughes-Fulford M.** Function of the cytoskeleton in gravisensing during spaceflight // *Adv. Space Res.* — 2003. — Vol. 32, №8. — P. 1585—1593.

33. **Inger D.E.** Cellular tensegrity: defining new rules of biological design that govern the cytoskeleton // *J. Cell. Sci.* — 1993. — Vol. 104. — P. 613—627.

34. **Inger D.E.** Tensegrity: the architectural basis of cellular mechanotransduction // *Annu. Rev. Physiol.* — 1997. — Vol. 59. — P. 575—599.

35. **Kirchen M.E., O'Connor K.M., Gruber H.E.** et al. Effects of microgravity on bone healing in a rat fibular osteotomy model // *Clin. Orthop.* — 1995. — Vol. 318. — P. 231—242.

36. **Lewis M.L., Reynolds J.L., Cubano L.A.** et al. Spaceflight alters microtubules and increases apoptosis in human lymphocytes (Jurkat) // *FASEB J.* — 1998. — Vol. 12. — P. 1007—1018.

37. **Meehan R.T., Neale L.S., Kraus E.T.** et al. Alteration in human mononuclear leucocytes following space flight // *Immunology.* — 1992. — Vol. 76. — P. 491—497.

38. **Nicogossian M.C., Sawin C.F., Huntoon C.L.** Overall physiologic response to space flight // *Nicogossian A.E., Huntoon C.L., Pool S.L., eds. Space Physiology and Medicine.* 3rd ed. — Philadelphia, Pa: Lea & Febiger; 1994. — P. 213—228.

39. **Nors P., Stadeager C., Johansen L.B.** et al. Volume-homeostatic mechanisms in humans during a 12-h posture change // *J. Appl. Physiol.* — 1993. — Vol. 175, №1. — P. 349—356.

40. **Riley D.A., Ilyina-Kakueva E.I., Ellis S.** et al. Skeletal muscle fiber, nerve, and blood vessel breakdown in space-flown rats // *FASEB J.* — 1990. — Vol. 4. — P. 84—91.

41. **Robertson D., Convertino V.A., Vernikos J.** The sympathetic nervous system and the physiologic consequences of

spaceflight: a hypothesis // *Am. J. Med. Sci.* — 1994. — Vol. 308. — P. 126—132.

42. **Rykova M.P., Sonnenfeld G., Lesnyak A.T.** et al. Effect of spaceflight on natural killer cell activity // *J. Appl. Physiol.* — 1992. — Vol. 73. — P. 196—200.

43. **Scott M. Smith, Jane M. Krauhs, Carolyn S. Leach.** Regulation of body fluid volume and electrolyte concentrations in spaceflight // *Advances in Space Biology and Medicine.* — 1997. — Vol. 6. — P. 123—165.

44. **Sears J.K., Argenyi Z.E.** Cutaneous wound healing in space // *Cutis.* — 1991. — Vol. 48. — P. 307—308.

45. **Stauber W.T., Fritz V.K., Burkovskaya T.E., Ilyina-Kakueva E.I.** Effect of spaceflight on the extracellular matrix of skeletal muscle after a rush injury // *J. Appl. Physiol.* — 1992. — Vol. 73. — P. 74—81.

46. **Tavassoli M.** Anemia of space flight // *J. Am. Soc. Hematol.* — 1982. — Vol. 60. — P. 1059—1067.

47. **Taylor G.R., Neale L.S., Dardano J.R.** Immunological analyses of US space shuttle crewmembers // *Aviat. Space Environ. Med.* — 1986. — Vol. 57. — P. 213—217.

48. **Taylor G.R., Janney R.P.** In vivo testing confirms a blunting of the human cell-mediated immune mechanism during space flight // *J. Leukoc. Biol.* — 1992. — Vol. 51. — P. 129—132.

49. **Thirsk R., Kuipers A., Mukai C.** et al. The space-flight environment: the International Space Station and beyond // *CMAJ.* — 2009. — Vol. 180. — P. 1216—1220.

50. **Udden M.M., Driscoll T.B., Pickett M.H.** et al. Decreased production of red blood cells in human subjects exposed to microgravity // *J. Lab. Clin. Med.* — 1995. — Vol. 125. — P. 442—449.

51. **Vassy J., Portet S., Beil M.** et al. The effect of weightlessness on cytoskeleton architecture and proliferation of human breast cancer cell line MCF-7 // *FASEB J.* — 2001. — Vol. 15. — P. 1104—1106.

52. **Williams D., Kuipers A., Mukai C., Thirsk R.** Acclimation during space flight: effects on human physiology // *CMAJ.* — 2009. — Vol. 180. — P. 1317—1323.

53. **Wu A.H.B., Taylor G.R., Graham G.A., McKinley B.** The clinical chemistry and immunology of long-duration space missions // *Clin. Chem.* — 1993. — Vol. 39. — P. 22—36.

Поступила 22.06.11

### Сведения об авторах:

**Баранов Михаил Викторович** — канд. мед. наук, вед. науч. сот. лаб. физиологических проблем невесомости ФГБУ НИИОПП РАМН

**Панченков Дмитрий Николаевич** — д-р мед. наук, проф., зав. лаб. минимально инвазивной хирургии ГБОУ ВПО МГМСУ Минздравсоцразвития России

Б.Б. Шойбонов<sup>1,3</sup>, В.Ю. Баронец<sup>2,3</sup>, Л.Ф. Панченко<sup>1,2</sup>, А.А. Пальцын<sup>1</sup>, А.А. Кубатиев<sup>1</sup>

## Простой способ определения модифицированных липопroteинов низкой плотности

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный научный центр наркологии» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, 119002, Москва, М. Могильцевский пер., 3

<sup>3</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт нормальной физиологии им. П.К. Анохина» Российской академии медицинских наук, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8

Разработан простой способ определения модифицированных липопroteинов низкой плотности (мЛПНП) в сыворотке крови в среде, содержащей 8,9% раствора поливинилпирролидона (ПВП) — относительная молекулярная масса  $12600 \pm 2700$ . Показано, что 10-минутная инкубация сыворотки в буфере, содержащем 8,9% ПВП приводит к полной агрегации мЛПНП. Атерогенность агрегированных мЛПНП экспериментально подтверждена двумя независимыми тестами (мЛПНП связывают и активируют систему комплемента морской свинки (провоспалительный эффект) и вызывают гиперагрегацию тромбоцитов (тромбогенный эффект). Предлагаемый способ отличается простотой, включает всего 2 операции: смешивание сыворотки с раствором ПВП и регистрация степени помутнения. Способ позволяет регистрировать наличие мЛПНП непосредственно в сыворотке без предварительного ее фракционирования.

**Ключевые слова:** модифицированные липопroteины низкой плотности, атеросклероз, поливинилпирролидон, система комплемента, тромбоциты

B.B. Shoibonov<sup>1,3</sup>, V.Yu. Baronets<sup>1,3</sup>, L.F. Panchenko<sup>1,2</sup>, A.A. Paltsyn<sup>1</sup>, A.A. Kubatiev<sup>1</sup>

## A simple method for quantification of modified low-density lipoproteins

<sup>1</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology RAMS, Russia, 125315, Moscow, Baltiiskaya str., 8

<sup>2</sup> National Research Center for Addictions Russian Ministry of Public Health and Social Development, , M. Mogiltzevsky, Moscow, 119002, Russia

<sup>3</sup> Anokhin Institute of Normal Physiology, RAMS, Moscow, Russia, 125315, Moscow, Baltiiskaya str., 8

A simple method for quantification of modified low-density lipoproteins (mLDL) in the blood serum containing 8,9% polyvinylpyrrolidone solution  $12600 \pm 2700$  has been developed. The results show that 10 min incubation of serum in a buffer containing 8,9% PVP leads to complete aggregation mLDL. Atherogenicity of aggregated mLDLs is experimentally confirmed by two independent tests (mLDLs bind and activate the complement system of a guinea pig (pro-inflammatory effect) and cause platelet hyperaggregation (thrombogenic effect)) The proposed method is simple and involves only two steps: mixing the serum with a solution of PVP and recording the turbidity. The method allows to register the presence of mLDL directly in serum without its prior fractionation.

**Key words:** modified low-density lipoprotein, atherosclerosis, polyvinylpyrrolidone, complement system, platelet

В настоящее время в клинической лабораторной практике отсутствуют доступные для рутинных исследований методы определения содержания мЛПНП. Учитывая важную патогенетическую роль мЛПНП при атеросклерозе [3, 5—8], остается актуальной разработка простых, доступных для клинических лабораторных исследований способов определения мЛПНП.

**Для корреспонденции:** Шойбонов Батожаб Батожагалович, канд. хим. наук, вед. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ НИИОПП РАМН, науч. сотр. лаб. физиологии мотиваций ФГБУ НИИОПП РАМН. E-mail: shoibonov@mail.ru

**Цель исследования** — разработка простого способа определения мЛПНП, биохимического маркера атеросклероза.

### Методика

В работе исследовали сыворотку крови 60 доноров и 18 больных ишемической болезнью сердца. Забор крови осуществляли из локтевой вены после 14-часового голодания. Содержание глюкозы, общего холестерина (ОХС), триацилглицеридов (ТАГ) в сыворотке крови определяли с помощью реактивов ЗАО «ЭКОлаб» (г.Электрогорск, Россия).

В работе использовали веронал, мединал, — фирмы «Serva» (ФРГ), трис — «Merck» (ФРГ), поливинилпирролидон (ПВП) —  $12600 \pm 2700$  (ООО «АК Синтвита», Россия), комплемент сыворотки крови морской свинки, консервированные эритроциты барана — ЗАО «ЭКОлаб», (г.Электрогорск, Россия), остальные реактивы квалификации не ниже ч.д.а. — отечественного производства.

Приготовление эритроцитов барана, эритроцитов барана, сенсibilизированных антителами кролика (ЕА), изотонического вероналового буфера, рН 7,4 (VBS), буфера, содержащего ионы  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{Mg}^{2+}$  (VBS<sup>2+</sup>) описано ранее [1].

Для исследования агрегации тромбоцитов кровь из краевой вены уха кролика смешивали с 3,8% раствором цитрата натрия (9:1 по объему). Кровь центрифугировали при 150g в течение 10 мин. Супернатант, представляющий собой богатую тромбоцитами плазму (БТП), использовали для анализа агрегации тромбоцитов. Исследование агрегации тромбоцитов проводили по методу Born [4] в модификации O'Brien [9] с графической регистрацией на агрегометре фирмы Stago-Log Co. (США).

Среду для преципитации мЛПНП готовили растворяя 10 г ПВП (относительная молекулярная масса  $12600 \pm 2700$ ) в 100 мл 0,01 М Трис-НСl-буфера, рН 7,4, содержащего 0,15 М NaCl [2].

## Результаты и обсуждение

*Определение оптимальной концентрации ПВП для агрегации мЛПНП в сыворотке крови больных сердечно-сосудистыми заболеваниями.* К 50 мкл смеси образцов сыворотки крови от 10 больных сердечно-сосудистыми заболеваниями добавляли 100—800 мкл 10% раствора ПВП в 0,01 М Трис-НСl-буфере, рН 7,4, содержащем 0,15 М NaCl. Смесь тщательно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин в 9-луночных плоскодонных кюветах биохимического анализатора FR-901 («Labsystem», Финляндия). Степень помутнения определяли турбидиметрически при длине волны 450 нм. В качестве контроля (бланк) использовали пробы сыворотки с соответствующим количеством 0,01М Трис-НСl-буфера, рН 7,4, содержащего 0,15 М NaCl. Рассчитывали уровень содержания [мЛПНП] по формуле:

$$[\text{мЛПНП}], \text{ЕД} = [E_0 - E_K] \times 100,$$

где:

[мЛПНП] — уровень содержания мЛПНП в опытной пробе в условных единицах (ЕД);

$E_0$  — оптическая плотность опытной пробы при длине волны 450 нм, единиц оптической плотности;

$E_K$  — оптическая плотность контрольной пробы, сыворотки с соответствующим количеством буфера без ПВП (контрольный буфер), единиц оптической плотности; 100 — коэффициент перерасчета в условные единицы ЕД.

Данные, представленные в табл. 1, свидетельствуют, что с увеличением концентрации ПВП в инкубационной системе с 6,7% до 8,9% наблюдается агрегация мЛПНП и нарастание степени помутнения раствора. Максимальная агрегация мЛПНП достигается при концентрации 8,9% ПВП в системе. При дальнейшем увеличении концентрации ПВП свыше 8,9% наблюдается снижение степени агрегации. Для контроля исследовали смесь сывороток от 10 здоровых доноров в описанных выше условиях. Полученные результаты представлены в табл. 2. Добавление к пулированной сыворотке крови здоровых доноров 10% ПВП в возрастающих концентрациях не приводит к агрегации нормальных липопротеинов низкой и очень низкой плотности.

*Определение содержания холестерина, триацилглицеридов (ТАГ) и общих белков в ПВП-преципитатах.* Для подтверждения наличия мЛПНП в ПВП-преципитатах были проведены следующие эксперименты. Из 0,5 мл пулированных сывороток 10 больных ИБС и 10 контрольных здоровых доноров были приготовлены ПВП-агрегаты в условиях 8,9% ПВП. Агрегаты мЛПНП были преципитированы путем центрифугирования при 6000 об./мин в течение 20 мин при 23°C. Супернатант тщательно декантировали, ПВП-преципитаты мЛПНП 2 раза отмывали 8,9% раствором ПВП и ресуспендировали в 0,5 мл 0,01М Трис-НСl-буфера, рН 7,4, содержащего 0,15 М NaCl. В полученных ПВП-преципитатах определяли содержание холестерина, ТАГ и общих белков. Полученные результаты представлены в табл. 3. Как видно из представленных данных, в ПВП-преципитате пулированной сыворотки больных ИБС содержание холестерина в 12 раз, а ТАГ — в 16 раз больше, чем в ПВП-преципитате из сыворотки здоровых доноров. Содержание общего белка было незначительно (в 1,3 раза) выше в ПВП-преципитате больных ИБС. Таким образом, наличие холестерина, ТАГ и белка в ПВП-преципитатах из сывороток свидетельствует о липопротеиновой природе агрегатов, образующихся в присутствии 8,9% ПВП.

*Подбор оптимального времени инкубации смеси сыворотки с ПВП для агрегации мЛПНП.* К 50 мкл пулированной сыворотки от 10 больных ИБС и 10 здоровых доноров добавляли 400 мкл 10% раствора ПВП в 0,01М трис-НСl-буфере, рН 7,4 содержащего 0,15М NaCl, тщательно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 10, 20, 30 и 60 мин в

9-луночных кюветах биохимического анализатора FR-901 («Labsystem», Финляндия). Степень помутнения определяли турбидиметрически при длине волны 450 нм. В качестве бланка использовали пробы сыворотки с соответствующим количеством 0,01M Трис-HCl-буфера, pH 7,4, содержащего 0,15 M NaCl.

Как видно из данных, представленных в табл. 4, в пулированной сыворотке больных ИБС агрегация мЛПНП интенсивно наблюдается в течение первых 10 мин. При дальнейшей инкубации наблюдается незначительная агрегация остаточного количества мЛПНП (примерно 8%). Уровень мЛПНП в пулированной сыворотке здоровых доноров при инкубации 60 мин остается без изменения на уровне 8,3 ЕД. Таким образом, для выявления повышенного уровня мЛПНП 10 минутная инкубация является оптимальной для исследований атерогенности крови.

*Зависимость связывания комплемента сыворотки крови морской свинки от концентрации преципитата мЛПНП.* К 10—160 мкл раствора ПВП-преципитата (4,3 мг/мл по белку), приготовленного из пулированной сыворотки 10 больных с ИБС и разбавленного в соотношении 1:99 буфером VBS<sup>2+</sup>, добавляли 20 мкл разбавленного 1:19 комплемента морской свинки. Общий объем доводили до 0,3 мл буфером VBS<sup>2+</sup> и инкубировали 20 мин при 37°C. После предварительной инкубации добавляли 200 мкл эритроцитов барана, сенсibilизированных антителами кролика (ЕА) и инкубировали 30 мин, дополнительно, при 37°C. После инкубации в каждую пробу добавляли по 2,5 мл холодного раствора 0,15 M NaCl, центрифугировали и определяли величину А<sub>405</sub> супернатанта. Контрольная проба не содержала ПВП-преципитата. Пониженный гемолиз в опытных пробах по сравнению с контролем свидетель-

Таблица 1

**Влияние ПВП на агрегацию мЛПНП в пулированной сыворотке крови больных с атеросклерозом коронарных сосудов**

№	Серии exper.	Сыв., мкл	ПВП, 10%, мкл	Контрольный буфер	% ПВП в системе	A <sub>450</sub>	[мЛПНП], ЕД
1	Опыт	50	100	—	6,7%	0,177	7,8
	Бланк	50	—	100	0%	0,099	
2	Опыт	50	125	—	7,1%	0,233	13,7
	Бланк	50	—	125	0%	0,096	
3	Опыт	50	150	—	7,5%	0,247	15,5
	Бланк	50	—	150	0%	0,092	
4	Опыт	50	175	—	8,0%	0,267	16,6
	Бланк	50	—	175	0%	0,101	
5	Опыт	50	200	—	8,6%	0,278	17,7
	Бланк	50	—	200	0%	0,100	
6	Опыт	50	400	—	8,9%	0,349	24,9
	Бланк	50	—	400	0%	0,100	
7	Опыт	50	800	—	9,4%	0,29	17,0
	Бланк	50	—	800	0%	0,100	

Таблица 2

**Влияние ПВП на агрегацию нативных ЛПНП в пулированной сыворотке крови здоровых доноров**

№	Серии exper.	Сыв., мкл	ПВП, 10%, мкл	Контрольный буфер	% ПВП в системе	A <sub>450</sub>	[мЛПНП], ЕД
1	Опыт	50	100	—	6,7%	0,119	3,5
	Бланк	50	—	100	0%	0,084	
2	Опыт	50	125	—	7,1%	0,146	5,6
	Бланк	50	—	125	0%	0,090	
3	Опыт	50	150	—	7,5%	0,148	7,7
	Бланк	50	—	150	0%	0,071	
4	Опыт	50	175	—	8,0%	0,163	8,0
	Бланк	50	—	175	0%	0,083	
5	Опыт	50	200	—	8,6%	0,167	8,0
	Бланк	50	—	200	0%	0,087	
6	Опыт	50	400	—	8,9%	0,176	7,2
	Бланк	50	—	400	0%	0,104	
7	Опыт	50	800	—	9,4%	0,174	6,9
	Бланк	50	—	800	0%	0,105	

ствовал о связывании комплемента. Степень лизиса эритроцитов (У) определяли по формуле:

$$У (\%) = [(X-R)/(H-R) \times 100],$$

где Н, R и X — величины оптической плотности А<sub>412</sub> в гемолитических системах контрольной пробы, в контроле спонтанного лизиса ЕА и в опытной пробе соответственно.

Степень связывания комплемента (ССК) определяли по формуле:

$$ССК (\%) = 100 - У.$$

Данные о степени связывания комплемента при разных концентрациях ПВП-преципитата представлены в табл. 5.

Как видно из данных в таблице, мЛПНП, преципитированные в растворе 8,9% ПВП, обладают комплемент-связывающей способностью, причем эффект является дозозависимым.

Таким образом, определение комплемент-связывающей способности ПВП-преципитата свидетельствует о наличии мЛПНП и о специфическом взаимодействии мЛПНП с комплементом морской свинки. Определение холестерина, ТАГ и общих белков в ПВП-преципитате при концентрации 8,9%, а также максимальная комплемент-связывающая способность подтверждает оптимальность используемой концентрации ПВП (8,9%) для специфической агрегации мЛПНП в сыворотке крови больных с атеросклерозом.

*Влияние мЛПНП на агрегацию тромбоцитов.* Преципитат мЛПНП был приготовлен как описано выше. Ход определения: 0,25 мл БТП помещали в кювету агрегометра, прогревали до 37°С в течение 1 мин при постоянном перемешивании и выставляли 0% агрегации. В опытную пробу вносили препарат мЛПНП, дополнительно инкубировали в течение 4 мин и проводили агрегацию тромбоцитов введением АДФ (конечная концентрация 1,25 мкМ). Регистрировали агрегацию в течение 5 мин. За 100% агрегации принимали светопропускание пробы, содержащей 0,25 мл обедненной тромбоцитами плазмы. В качестве параметров агрегации использовали максимальный процент снижения оптической плотности — В (%). Степень агрегации тромбоцитов при действии мЛПНП характеризовали величиной  $V_{оп}/V_{к}$ , где  $V_{оп}$  и  $V_{к}$  — изменение светопропускания соответственно богатой тромбоцитами плазмы, содержащей мЛПНП, и контрольного образца. Результаты представлены в табл. 6. Из данных, представленных в таблице видно, что предварительное введение мЛПНП при конечной концентрации 0,4 мкг/мл вызывает усиление агрегации, в то время, как ПВП-преципитат из сыворотки контрольной группы здоровых доноров практически не оказывает влияния на тромбоциты. Таким образом, ПВП-преципитат, приготовленный из сыворотки больных ИБС, вызывает усиление агрегации (гиперактивность) тромбоцитов.

Таблица 3

Содержание холестерина, ТАГ и белков в ПВП-преципитатах, приготовленных из пулированной сыворотки крови больных ИБС и здоровых доноров

	Холестерин, мг/дл	ТАГ, мкМ/л	Белок, мг/мл
ПВП-преципитат из сыворотки больных ИБС	4,6	117	4,3
	5,1	117	4,5
	5,2	116	4,2
М±m	4,97±0,32	116,7±0,6	4,3±0,2
ПВП-преципитат из сыворотки доноров	0,5	7	3,4
	0,3	10	2,9
	0,4	5	3,2
М±m	0,4±0,1	7,3±2,5	3,2±0,3

Таблица 4

Влияние времени инкубации сыворотки с 8,9% ПВП на агрегацию мЛПНП

Время инкубации, мин	10 мин	20 мин	30 мин	60 мин
[мЛПНП] в пулированной сыворотке больных ИБС, ЕД	24,9	25,7	26,2	26,8
[мЛПНП] в пулированной сыворотке доноров, ЕД	8,2	8,3	8,2	8,3

Таблица 5

Степень связывания комплемента мЛПНП в ПВП-преципитате в зависимости от концентрации

ПВП-преципитат, мкл	0	10	20	40	80	160
ССК, %	0	27	57	83	97	100



*Влияние концентрации и времени инкубации мЛПНП на агрегацию тромбоцитов.* Ход определения: 0,25 мл БТП помещали в кювету агрегометра, прогревали до 37°С в течение 1 мин при постоянном перемешивании и выставляли 0% агрегации. В опытную пробу вносили возрастающие концентрации мЛПНП, приготовленного из сыворотки больных ИБС, дополнительно инкубировали в течение 4 мин и вызывали агрегацию тромбоцитов введением индуктора АДФ (конечная концентрация 1,25 мкМ). Регистрировали агрегацию в течение 5 мин. Результаты представлены в табл. 7. Данные таблицы подтверждают, что эффект усиления агрегации тромбоцитов под влиянием мЛПНП имеет дозо-зависимый характер. Причем, при концентрации до 10 мкг/мл мЛПНП наблюдается усиление агрегации тромбоцитов, а свыше 10 мкг/мл отмечается эффект насыщения.

*Влияние времени предварительной инкубации мЛПНП с тромбоцитами на агрегацию тромбоцитов.* Использовали концентрацию 10 мкг/мл мЛПНП и два интервала времени — 0 мин и 5 мин. В первой серии к обогащенной тромбоцитами плазме добавляли мЛПНП и сразу, без предварительной инкубации, запускали процесс агрегации тромбоцитов добавлением

АДФ. Во второй серии экспериментов после добавления мЛПНП к БТП инкубировали 5 мин и только потом добавляли индуктор агрегации. Полученные данные свидетельствуют о том, что эффект усиления агрегации тромбоцитов мЛПНП практически не зависит от времени предварительной инкубации.

Таким образом, эффект усиления агрегации тромбоцитов под действием мЛПНП:

1) зависит от концентрации, причем наблюдается эффект насыщения;

2) для связывания мЛПНП с тромбоцитами практически не требуется предварительная инкубация, что свидетельствует об очень высокой аффинности и, скорее всего, связано с взаимодействием мЛПНП со скавенджер-рецепторами на мембране тромбоцитов.

*Влияние срока хранения сыворотки при 4°С на содержание мЛПНП.* Проведены исследования влияния длительности хранения сыворотки при 4°С на уровень содержания мЛПНП предлагаемым методом. Определяли уровень содержания мЛПНП предлагаемым способом в день забора крови и через 7 сут. хранения при 4°С сыворотки крови больных ИБС и здоровых доноров. Результаты представлены в табл. 8.

Таблица 6

Влияние мЛПНП на агрегацию тромбоцитов (индуктор — АДФ (1,25 мкМ/л))

Пробы	В, %	В <sub>оп</sub> /В <sub>контр</sub>
Контроль	22	1,0
Опыт (0,4 мкг/мл мЛПНП, ПВП-преципитата из пулированной сыворотки больных ИБС)	36	1,64
Опыт (0,4 мкг/мл ПВП-преципитата из пулированной сыворотки контрольных групп здоровых доноров)	21	0,95

Таблица 7

Влияние концентрации мЛПНП на агрегацию тромбоцитов (индуктор — АДФ (1,25 мкМ/л))

мЛПНП, мкг/мл	0	5	10	15	20
В <sub>оп</sub> , %	22	28	36	36	35
В <sub>оп</sub> /В <sub>контр</sub>	1,0	1,28	1,65	1,65	1,51

Таблица 8

Влияние хранения сыворотки крови при 4°С на уровень содержания мЛПНП

	Срок хранения, сут.	Сыв. №1	Сыв. №2	Сыв. №3	Сыв. №4	Сыв. №5	Сыв. №6	Сыв. №7	Сыв. №8
мЛПНП, ЕД, в сыворотке больных ИБС	0	17,0	30,5	19,2	22,4	21,4	31,5	63,8	36,0
	7	21,0	32,2	20,0	25,8	23,7	31,6	64,0	36,2
мЛПНП, ЕД, в сыворотке здоровых доноров	0	4,8	2,9	3,0	6,0	2,0	2,5	4,0	3,0
	7	4,6	3,0	2,8	6,1	1,9	3,0	4,2	3,2

Таблица 9

Содержание мЛПНП в сыворотке крови у больных ИБС и здоровых доноров

	n	[мЛПНП], ЕД
Сыворотки больных ИБС	18	21,26±10,64
Сыворотки контрольной группы	60	4,59±2,58

Полученные результаты убедительно свидетельствуют о том, что уровень мЛПНП в сыворотке крови при хранении в течение 7 сут. при 4°C не меняется у здоровых доноров, в то время как, при хранении сыворотки больных ИБС, данный показатель начинает возрастать. Параллельно с повышением уровня мЛПНП возрастает бланк сыворотки у больных ИБС. Данный факт может свидетельствовать о том, что при хранении сыворотки крови больных ИБС при 4°C, с одной стороны, наблюдается дальнейшая модификация липопротеинов низкой плотности, с другой стороны, повышение бланка сыворотки свидетельствует о наличии повышенного уровня криоглобулинов, которые преципитируют при 4°C.

*Определение уровня содержания мЛПНП в сыворотке крови у больных ИБС и контрольных здоровых доноров.* Проведены исследования содержания мЛПНП предлагаемым способом в сыворотке 18 больных ИБС и 60 здоровых доноров (контрольная группа), с использованием биохимического анализатора FR-901 («Labsystem» Финляндия). К 50 мкл исследуемой сыворотки добавляли 400 мкл 10% ПВП в 0,01М трис-НСl-буфере, рН 7,4, содержащем 0,15М NaCl, тщательно перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин в 9-луночных плоскостонных кюветах биохимического анализатора FR-901 («Labsystem», Финляндия). Полученные результаты приведены в табл. 9.

В контрольной группе уровень содержания мЛПНП колебался от 1,1 до 9,9 ЕД и среднее значение составило  $4,59 \pm 2,58$ . Данная величина мЛПНП принята за нормальный показатель у здоровых доноров. У больных ИБС содержание мЛПНП колебалось от 9,9 до 37,1 ЕД и среднее значение составило  $21,26 \pm 10,64$  ЕД, что в 4,6 раза больше принятого за норму показателя. Нужно отметить, что при использовании других биохимических анализаторов в каждой лаборатории должен быть определен диапазон нормальных величин мЛПНП для обследуемого контингента.

Таким образом, полученные результаты проведенного исследования свидетельствуют:

1) 10 мин инкубация сыворотки больных с ИБС в буфере, содержащем 8,9% ПВП, приводит к полной агрегации мЛПНП, в то время как у здоровых доноров в тех же условиях не наблюдается агрегации нативных ЛПНП;

2) атерогенность агрегированных мЛПНП экспериментально подтверждается двумя независимыми тестами (мЛПНП связывали и активировали систему комплемента морской свинки (провоспалительный эффект) и вызывали гиперагрегацию тромбоцитов (тромбогенный эффект);

3) хранение сыворотки при 4°C не приводит к появлению новых молекул мЛПНП в сыворотке крови здоровых доноров, в то время как в сыворотке больных с ИБС наблюдается незначительная спонтанная ассоциация мЛПНП наряду с криопреципитацией иммуноглобулинов.

Предлагаемый экспресс-метод отличается простотой, включает всего 2 операции: смешивание сыворотки с раствором ПВП и регистрации степени помутнения. Для приготовления среды используются широко распространенные реактивы: ПВП, NaCl и трис-НСl. Способ позволяет регистрировать наличие мЛПНП непосредственно в сыворотке без предварительного ее фракционирования. Использование простого и быстрого в осуществлении экспресс-способа определения мЛПНП в крови позволяет диагностировать атеросклероз коронарных артерий, может быть использован как специфический биохимический маркер для контроля эффективности, терапии атеросклероза.

*Исследование выполнено при финансовой поддержке РГНФ в рамках научно-исследовательского проекта РГНФ №09-06-00608а.*

### Список литературы

1. **Камышников В.С.** Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. — М.: МЕДпресс-информ, 2004. — 920 с.
2. **Шойбонов Б.Б., Баронец В.Ю., Панченко Л.Ф., Кубатиев А.А.** Способ экспресс-определения атерогенности крови человека. Международная заявка РСТ №РСТ/RU2011/000620 от 16.08.2011 г.
3. **Biro A., Thielens N.M., Cervenak L., Prohaszka Z., Fust G., Arlaud G.J.** Modified low density lipoproteins differentially bind and activate the C1 complex of complement // *Mol. Immunol.* — 2007. — Vol. 44, №6. — P. 1169—1177.
4. **Born G.V.** Aggregation of blood platelets by ADP and its reversal // *Nature.* — 1962. — Vol. 194. — P. 927—929.
5. **Chen H.W., Kau C.L., Huang C.S., Kua S.J., Liu C.S.** Oxidized low-density lipoproteins, autoantibodies against oxidized low-density lipoproteins and carotid intima media thickness in a clinically healthy population // *Cardiology.* — 2008. — Vol. 110, №4. — P. 252—259
6. **Daub K., Seizer P., Stellos K.** et al. Oxidized LDL-activated platelets induce vascular inflammation // *Semin. Thromb. Hemost.* — 2010. — Vol. 36, №2. — P. 146—156.
7. **Lopes-Virella M.F., Klein R.L., Lyons T.J., Stevenson H.C., Witztum J.L.** In vitro glycosylated LDL enhances cholesteryl ester synthesis and accumulation in human monocyte-derived macrophages // *Diabetes.* — 1988. — Vol. 37. — P. 550—557.
8. **Virella G., Lopes-Virella M.F.** Atherosclerosis and humoral immune response to modified lipoproteins // *Atherosclerosis.* — 2008. — Vol. 200, №2. — P. 239—246.
9. **O'Brien J.R.** Platelet aggregation: Part II Some results from a new method of study // *J. Clin. Path.* — 1962. — Vol. 15, №5. — P. 452—455.

Поступила 15.11.11

**Сведения об авторах:**

Баронец *Валерия Юрьевна* — старш. науч. сотр. лаб. биохимии ФГБУ НИЦ наркологии Минздравсоцразвития России, науч. сотр. лаб. физиологии мотиваций ФГБУ НИИНФ им. П.К. Анохина

Панченко *Леонид Федорович* — д.м.н., проф., акад. РАМН, зав. лаб. биохимии ФГБУ НИИОПП РАМН  
Пальцын *Александр Александрович* — д.м.н., проф., зав. лаб. регуляции репаративных процессов ФГБУ НИИОПП РАМН

Кубатиев *Аслан Амирханович* — д.м.н., проф., акад. РАМН, дир. ФГБУ НИИОПП РАМН

## Правила оформления статей для публикации в журнале «Патологическая физиология и экспериментальная терапия»

1. Статьи, оформленные без соблюдения указанных правил, к рассмотрению не принимаются.

2. Все присланные работы обязательно проходят этап научного рецензирования, редакция оставляет за собой право сокращения публикуемых материалов и адаптации их к рубрикам журнала.

3. В редакцию направляются 2 экземпляра рукописи, которые сопровождаются направительным письмом учреждения, заверенным ответственным лицом, на имя главного редактора журнала. К рукописи прилагается электронный носитель (диск — CD), содержание которого должно быть идентичным принтерной распечатке.

4. Текст печатается в тестовом редакторе Word шрифтом Times, 14 кеглем, через 1,5 интервала на листе А4. Поля верхнее и нижнее — 2,5 см, поле слева — 3,5 см, поля справа — 1,5. Запрещается использование автоматических переносов. Внизу справа проставляется нумерация страниц.

5. Объем оригинальных статей не должен превышать 8 страниц; обзоров — 15; кратких сообщений — 3 страницы. Исключение — заказные обобщающие статьи, объем которых оговаривается редколлегией с автором.

6. Оформление титульной страницы:

- имя, отчество, фамилия(и) автора(ов);
- название статьи (без аббревиатуры);
- полное официальное название учреждения и его полный почтовый адрес;
- принадлежность авторов к учреждению обозначается надстрочным индексом в порядке упоминания.

7. Оригинальная статья должна содержать разделы:

- введение (краткое обоснование цели);
- методика (с четким, легко воспроизводимым описанием);
- результаты и обсуждение;
- литература.

8. К оригинальной статье необходимо приложить резюме с ключевыми словами (на русском и английском языках). Резюме должно отражать основное содержание работы. В начале резюме приводятся УДК, фамилии авторов, затем название статьи. Резюме печатается на отдельной странице.

9. Статья тщательно выверяется автором(ами): формулы, таблицы, дозы визируются авторами на полях, латинские и греческие буквы помечаются на полях (лат., греч.).

10. Статья подписывается всеми авторами. На отдельной странице указываются полные сведения об авторах: ученая степень, ученое звание, должность, кафедра, отделение, почтовый и электронный адреса всех учреждений, телефоны.

11. Количество графического материала должно быть минимальным. Все цифровые данные должны сопровождаться соответствующими единицами в системе единиц СИ.

12. Таблицы должны быть компактными, названия должны точно соответствовать содержанию граф. Сокращения слов не допускается. Данные таблиц не

должны дублироваться графиками и повторяться в тексте статьи.

Обязательно указание методов, программ статистической обработки материала.

13. В формулах должны быть четко размечены все элементы: латинские буквы — синим, греческие — красным; индексы надстрочные ( $A^1$ ) и подстрочные ( $A_1$ ), буквы прописные (A) и строчные (a), сходные буквы и цифры (O, буква, 0, цифра).

14. Аббревиатура допускается только при первоначальном упоминании с указанием полного названия.

15. Цитируемая литература приводится в алфавитном порядке на отдельном листе. В статье, в квадратных скобках, дается ссылка на порядковый номер источника. В списке литературы сначала указываются отечественные авторы, потом иностранные. Работы отечественных авторов, опубликованные на иностранных языках, помещаются среди работ иностранных авторов в общем алфавитном порядке, а работы иностранных авторов, опубликованные на русском языке — среди работ отечественных авторов в общем алфавитном порядке.

Если цитируются несколько работ одного автора, их нужно указывать в хронологическом порядке. Статья, написанная коллективом авторов (более 4 авторов), помещается в списке литературы по фамилии первого автора, при этом указываются еще два автора, а далее ставится «и др.». Если авторов всего 4, то указываются все авторы. После фамилии авторов приводится полное название статьи, источник, год, том, номер, выпуск, страницы (от и до); для книг, сборников, авторефератов и диссертаций обязательно указать их точное название, издательство, город, год.

Книга, написанная коллективом авторов (более 4 человек), помещается в списке по ее названию, а далее через косую черту указываются фамилии трех авторов, далее ставится «и др.». В монографиях иностранных авторов, изданных на русском языке, после названия книги через двоеточие указывается с какого языка сделан перевод. Ссылки на неопубликованные работы, работы для ограниченного пользования, диссертации, рабочие документы ВОЗ не допускаются.

16. Направление в редакцию работ, опубликованных в других изданиях или же посланных для печати в другие редакции, не допускается.

17. Статьи, оформленные не по правилам, возвращаются авторам без рассмотрения.

18. Рукописи, не принятые к печати, авторам не возвращаются.

19. Датой поступления статьи считается время поступления ее окончательного (переработанного) варианта.

20. Плата с аспирантов за публикацию рукописей не взимается.

Статьи направляются по адресу: 125315, Москва, ул.Балтийская, 8. УРАМН НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН. Редакция журнала «Патологическая физиология и экспериментальная терапия».