

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА І КЛІНІЧНА *МЕДИЦИНА*



2002 №1



ХАРКІВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Експериментальна і клінічна медицина



Экспериментальная и клиническая медицина

2002 № 1

Редакційна колегія:

Головний редактор А. Я. ЦИГАНЕНКО

М.П. Воронцов, М.О. Клименко, В.М. Козько, О. М. Козицька (секретар), М.В. Кривонос (заступник головного редактора), В.І. Куцевляк, Л.Т. Мала, С.Ю. Масловський, Ю. С. Паращук (заступник головного редактора), В.С. Приходько, В.О. Сипливий (заступник головного редактора), О. Ю. Степаненко (виконавчий редактор)

Редакційна рада: *В.В. Бобін (Харків), В.В. Бойко (Харків), П.А. Бездітко (Харків), О.Ф. Возіанов (Київ), П.В. Волошин (Харків), В.І. Грищенко (Харків), Є.Г. Дубенко (Харків), Г.І. Дуденко (Харків), В.І. Жуков (Харків), М.О. Корж (Харків), І.К. Латогуз (Харків), В.М. Лісовий (Харків), В.М. Лупир (Харків), Ю.В. Одинець (Харків), М.І. Пилипенко (Харків), Г. П. Рузін (Харків), М.С. Скрипников (Полтава), М.І. Хвисюк (Харків), В.М. Хворостінка (Харків), Ю.Б. Чайковський (Київ), В.П. Черних (Харків), В.С. Яворський (Харків), А.Ф. Яковцова (Харків)*

Редактор *В.М. Ходоревська*
Комп'ютерна верстка *О.М. Козицька*

Засновник: *Харківський державний медичний університет*
Україна, 61022, Харків, просп. Леніна, 4
Свідоцтво про державну реєстрацію КВ № 3339 від 06.07.98
Періодичність видання – 4 рази на рік

Рекомендовано до друку Вченою радою ХДМУ.
Протокол № 3 від 21.03.02

Підписано до друку 29.03.02. Ум. друк. арк. 9,25. Обл.-вид. арк. 13,75.
Формат 60x84 1/8. Папір офс. Друк. офс. Тираж 500 прим. Замовл. 0529-01
Адреса редакції: Україна, 61022, Харків, просп. Леніна, 4. ХДМУ. Тел.: (0572) 40-26-00
e-mail advin@ic.kharkov.ua

Надруковано у ВПЦ «Контраст»
Україна, 61166, Харків, просп. Леніна, 40, к. 231. Тел.: (0572) 19-49-13, 17-76-51
Свідоцтво ВПЦ «Контраст» ДК № 178 від 15.09.2000

Зміст

Л.Р. Боброннікова. Досягнення і перспективи наукової діяльності кафедри факультетської терапії на межі нового тисячоліття	6
--	---

Теоретична і експериментальна медицина

А.Я. Цыганенко. Динамика аминокислотного состава плазмы крови теплокровных животных, подвергавшихся воздействию синтетических поверхностно-активных веществ	10
Р.И. Краденко. Отдаленные последствия влияния макроциклических краун-эфиров на организм теплокровных животных	12
Е.А. Щегельская, Ю.Е. Микулинский, В.Е. Кульшин, Е.А. Омельченко, В.И. Грищенко. Дифференцировка <i>in vitro</i> клеток стромы костного мозга мыши в клетки-предшественники нейронов и гепатоцитов	16
Н.В. Трегубова, А.А. Гуцол. Перекисное окисление липидов и функционирование некоторых антиокислительных ферментативных систем в крови больных острым и хроническим холециститом	21
О.С. Усинська. Корекція процесів перекисного окиснення ліпідів при хронічному гастродуоденіті за допомогою системної озонотерапії	23
Н.В. Гольева. Гистостереометрическая характеристика отделов проводящей системы сердца плодов и новорожденных от матерей с гестозом	25
Т.М. Воробьева, Д.А. Бевзюк, Т.П. Бойко. Влияние аллотрансплантации голубоватого пятна эмбрионального мозга на память и содержание катехоламинов у крыс с разрушением лобно-височного неокортекса	29
С.Б. Геращенко. Патоморфологія токсичного ураження аферентних нейронів спинномозкових вузлів, викликаного етопозидом	32
А.В. Подзорова, Н.Ф. Еремина. Структурные преобразования соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки в процессе репаративной регенерации экспериментальной язвы при действии лазерного излучения	36
М.Е. Березнякова. Фармакологическое действие тиаминасукцина на тканевое дыхание	39
Л.Б. Литвинова, И.В. Никитина. Гиперэстрогения в препубертате как фактор развития некоторых форм бесплодия самок	41
Л.Ю. Сергиенко, О.В. Картавцева, Е.В. Онищенко. Особенности формирования и развития алкоголизма у потомков стрессированных матерей	44

Терапія

В.М. Хворостінка, К.В. Вовк. Зміни гормонального статусу у хворих на хронічний безкам'яний холецистит у динаміці лікування	47
Ю.І. Решетілов, Н.М. Проценко, Л.П. Кузнєцова, О.І. Токаренко, М.М. Сурмило, О.О. Кремзер, О.Ю. Клавдієва. Деякі особливості перебігу хронічного холецистити і холелітіазу, асоційованих із внутрішньоклітинними інфекціями та їх лікування	51
Ж.Д. Семидоцкая, И.А. Чернякова, Е.А. Красовская, А.Е. Березовский. Парциальные функции почек у больных диабетической нефропатией	54
В.П. Брыкалин. Состояние системы свободнорадикального окисления и антиоксидантной защиты у больных с профессиональной пылевой патологией легких	56
Т.Д. Звягинцева, Л.А. Мирзоева, А.И. Чернобай, И.И. Шаргород, Е.И. Сергиенко, А.И. Дергачова. Состояние липидной пероксидации и антирадикального окисления при хронических гепатитах	59
Ю.И. Решетілов, С.Н. Дмитриева, Л.Ф. Кузнєцова, А.И. Токаренко, Н.Н. Сурмило, Н.Н. Проценко, Е.Ю. Клавдієва, А.А. Кремзер. Современные методические основы последипломного преподавания гастроэнтерологии	61
Ж.Д. Семидоцкая, Т.С. Оспанова, О.С. Бильченко, И.А. Чернякова, О.И. Мисюра, О.И. Ромаданова, О.В. Авдеева, В.О. Клапоух. Факторы прогрессирования хронической почечной недостаточности: современный взгляд на проблему	63

В.Н. Хворостинка, Е.В. Колесникова, Закут Ваиль Рафик. Патогенетические механизмы прогрессирования хронических гепатитов и циррозов печени	66
Л.М. Пасиешвили, Е.В. Супрун, Л.Н. Бобро. Обоснование применения амизона и эрбисола в комплексной терапии больных хроническими воспалительными заболеваниями кишечника	68
Н.И. Дегтярь, Н.Д. Герасименко, М.С. Расин, А.В. Харченко. Роль иммунной системы в патогенезе язвенной болезни, ассоциированной с <i>Helicobacter pylori</i> , и перспективы иммунопрофилактики и иммунотерапии	70
П.Г. Кравчун, Атман Авни. Применение комбинированной терапии ингибиторами ангиотензинпревращающего фермента и антагонистами рецепторов ангиотензина II при ишемической болезни сердца	73
М.И. Кожин, Л.И. Овчаренко. Место низкомолекулярных гепаринов в антитромботической терапии больных острым Q-инфарктом миокарда	76
О.А. Ефремова, Л.Г. Кононенко. Инфаркт миокарда: выбор оптимальной комплексной терапии в остром периоде	78
В.Д. Бабаджан, Н.В. Ярмыш. Концентрация цитозольного кальция в тромбоцитах больных гипертонической болезнью при лечении лозартаном	80
А.И. Дядык, А.Э. Багрий, А.В. Онищенко, О.В. Самойлова, Д.В. Гришин, Н.Е. Севастьянова. Особенности гемодинамики у больных хронической недостаточностью митрального клапана	85
О.Є. Самогальська. Стан кісткової тканини у хворих з хронічною патологією печінки	88
А.Г. Опарин, А.А. Опарин. Патогенетическое обоснование применения эглонила при дуоденальной язве	90
Е.Н. Килимник. Лектиногистохимическое исследование слизистых клеток бронхиальных желез ликвидаторов последствий Чернобыльской аварии, больных хроническим бронхитом	92
О.П. Нагорна. Особливості пилових захворювань легенів у робітників машинобудування	94
Т.А. Чумаченко. Системный подход к организации иммунологического мониторинга за инфекциями, контролируруемыми средствами иммунопрофилактики	97
І.П. Колеснікова. Результати вивчення реактогенності вакцини «Priorix» у м. Харкові	100

Педіатрія

Н.Н. Рязанцева. Клиническое значение показателей кардиоинтервалографии при гастродуоденальной патологии у детей	103
Л.Ф. Богмат, В.В. Никонова. Влияние вегетативной нервной системы на развитие гипертензивного сердца у подростков с первичной артериальной гипертензией	105
А.С. Лихачева, А.В. Козут. Клинико-иммунологическая характеристика новорожденных с внутриутробной микоплазменной инфекцией	108

Неврологія і психіатрія

Г.Х. Божко, В.М. Кулабухов, В.С. Чурсина. Перераспределение липопротеинов сыворотки крови у лиц с начальными признаками церебрального атеросклероза	111
О.А. Тесленко. Клинико-диагностические особенности энцефаломиелополинейропатического синдрома у больных хроническим алкоголизмом	114
В.М. Сінайко. Основні напрямки й клінічні особливості дезадаптації студентів вузу	116

Хірургія

В.А. Сипливиый, Д.И. Скорый. Определение объемной скорости портального кровотока по данным ультразвуковой доплерографии у больных с диффузными заболеваниями печени	119
В.М. Короткий, І.В. Колосович, Г.П. Олійниченко, О.Д. Черненко. Значення сироваткових маркерів онкогенезу у диференційній діагностиці пептичної виразки та раку шлунка	121
В.В. Бойко, І.А. Криворучко, В.П. Далавурак, В.А. Скрипко, Е.Д. Битчук, М.А. Клесова. Хирургическое лечение и профилактика эзофагитов, осложненных кровотечением, путем коррекции анатомических взаимоотношений пищеводно-желудочного перехода	123

А.С. Переверзев, Д.В. Щукин, И.М. Антонян, В.В. Мегера. Мониторинг состояния нижней полой вены после онкоурологических операций	127
--	-----

Акушерство і гінекологія

Ю.С. Паращук, И.Н. Меренкова, Фатхи Р.С. Эль Дахдх. Оценка биофизического профиля плода у беременных группы высокого риска	130
Н.А. Щербина, Л.В. Потапова, О.П. Липко. Состояние общего и местного гормонального гомеостаза у больных генитальным эндометриозом	132

Оториноларингологія

О.А. Компанієць. Вплив калоричної стимуляції периферичного відділу вестибулярного аналізатора на функцію рівноваги здорових людей за результатами комп'ютерної постурографії	135
В.Ф. Филатов, Л.С. Негипа, Н.В. Репин, Т.П. Говоруха, С.А. Негипа. Ультраструктура клеток небных миндалин больных хроническим тонзиллитом после КВЧ-терапии в отдаленные сроки наблюдения	139

Соціальна медицина

А.Я. Цыганенко. Влияние синтетических детергентов на санитарно-микробиологические показатели водных объектов	142
Н.Г. Щербань, Н.А. Ващук, В.Н. Зовский, Р.И. Кратенко. Изучение монооксигеназной системы теплокровных в связи с регламентацией вредных веществ в воде водных объектов	144
И.С. Лебедь, А.А. Беседина, Л.В. Давыдко, Л.И. Рак, Д.А. Митилев, Е.А. Будрейко, С.Н. Цирюлик, О.Ю. Куракса. Оценка качества отбора школьников, поступивших в детские оздоровительные учреждения различного типа	146

ДОСЯГНЕННЯ І ПЕРСПЕКТИВИ НАУКОВОЇ ДІЯЛЬНОСТІ КАФЕДРИ ФАКУЛЬТЕТСЬКОЇ ТЕРАПІЇ НА МЕЖІ НОВОГО ТИСЯЧОЛІТТЯ

Л.Р. Боброннікова

Харківський державний медичний університет

Кафедра факультетської терапії є медичною науково-практичною ланкою, в якій працюють 13 висококваліфікованих спеціалістів: один доктор медичних наук і 12 кандидатів медичних наук. У структурі кафедри чотири відділення обласної клінічної лікарні, в яких проводиться лікувальна, консультативна та наукова робота. Керівником кафедри з 1982 р. є доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України, академік Нью-Йоркської академії наук і Міжнародної академії апіфітотерапії, член правління Українського товариства терапевтів *Володимир Миколайович Хворостінка*.

На кафедрі вирішуються найбільш актуальні проблеми в галузі гастроентерології, ревматології, кардіології, ендокринології.

Напрямки науково-дослідної роботи такі:

- вивчення етіології, патогенезу і клінічного перебігу найпоширеніших, тяжких і соціально значущих захворювань внутрішніх органів;
- розробка ефективних методів профілактики, ранньої і точної діагностики патології внутрішніх органів;
- розробка й впровадження нових схем диференційної терапії та реабілітації хворих;
- апробація та призначення нових ефективних лікарських препаратів при патологічних станах внутрішніх органів;
- розробка наукових основ і методологічних рекомендацій по удосконаленню діагностики та лікування хворих з патологією внутрішніх органів.

Фундаментальні дослідження кафедри стосуються науково-дослідної роботи державного замовлення «Патогенетичні та терапевтичні аспекти захворювань гепатобіліарної системи при цукровому діабеті», яка запланована у 2001 р. Актуальність і вагомість даної теми зумовлена тим, що цукровий діабет (ЦД) є однією з найважливіших медико-соціальних проблем охорони здоров'я практично в усіх країнах світу. В Україні ЦД охоплює 8 % населення і має тенденцію до неухильного зростання. Основною проблемою діабетології є профілактика та лікування пізніх ускладнень ЦД, що дозволяє підвищити якість життя хворих.

Ураження гепатобіліарної системи при ЦД відзначається великою частотою та значним впливом на відновлення діабетичного метаболічного дисбалансу на фоні субклінічного асимптоматичного перебігу та відсутності змін рутинних біохімічних показників. Доцільним являється пошук нових репрезентативних методів діагностики захворювань гепатобіліарної системи та їх моніторинг у хворих на ЦД, з'ясування механізмів прогресування захворювання, розробка нових підходів до лікування діабетичних гепатохоледохопатій, обґрунтування патогенетичних і терапевтичних аспектів захворювань гепатобіліарної системи при ЦД I та II типу.

Вивчається роль цитокінів, імунного захисту організму на перебіг захворювання ЦД. Запропоновані та впроваджені в практику схеми корекції вуглеводного обміну з використанням розроблених зборів фітопрепаратів. Пройшли апробацію цукрознижувачі препарати (глюкобай, гліфазин, амарил), які призначались хворим на ЦД II типу. Проведено клінічне випробування препаратів інсуліну «Монодар К-15», «Фармасулін», «Фармасулін NP», «Фармасулін L». Встановлена ефективність і доцільність їх призначення.

Передбачені дослідження показників пігментного, білкового, ферментного, ліпідного обміну, стану перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту, цитокінів, гормонів, клітинного і гуморального імунітету, а також багатомоментне дуоденальне зондування, ультразвукове та радіоізотопне сканування печінки, жовчного міхура й жовчовидільних шляхів.

Для поліпшення діагностики ЦД, захворювань щитоподібної залози, наднирників впроваджені методи визначення глікозильованого гемоглобіну, мікроальбуміну сечі, С-пептиду у сироватці крові, антитіл до інсуліну (ICA, GAD), тиреотропіну, пролактину, кортизолу, катехоламінів у сечі.

У рамках виконання Всесвітньої програми по боротьбі з ЦД співробітниками кафедри розроблені та впроваджені методи первинної та вторинної профілактики, схеми дієтотерапії з включенням фітосборів.

На базі ендокринологічного відділення працює «Школа діабету», в якій при активній участі співробітників кафедри проводяться семінари по ЦД, що допомагає хворим поглибити знання про хворобу та навчитися повноцінно жити з нею.

Регулярно працює і кабінет діабетичної стопи, де хворий завжди може отримати кваліфіковану допомогу.

Останні дослідження медицини свідчать про обмеженість традиційних уявлень щодо суттєвості багатьох захворювань внутрішніх органів і необхідність перегляду їх етіології та патогенезу.

Напрямки наукової діяльності кафедри в галузі гастроентерології формувались згідно з сучасними досягненнями. За останнє десятиріччя отримані нові результати в уявленні етіології, патогенетичних механізмів і лікуванні хворих з патологією органів травлення.

Актуальною залишається проблема діагностики та лікування хронічних гепатитів і цирозів печінки у зв'язку зі значним зростанням їх в Україні та зокрема в Харківському регіоні у структурі інвалідності та смертності населення.

На протязі останніх 15 років проводяться дослідження по вивченню хронічних запальних і алкогольних уражень печінки. Зокрема, вивчаються маркери запалення з урахуванням порушень перекисного окиснення ліпідів, середньомолекулярних пептидів, клітинного й гуморального імунітету, неспецифічного захисту організму. Доведений вплив порушень гормонального спектра організму на течію реакцій в тканині печінки та клінічні прояви у хворих на хронічні гепатити та цирози печінки. Велика увага приділялася вивченню функціонального стану органів і систем, зокрема серцево-судинної системи, при алкогольних ураженнях печінки. Застосовувалися сучасні високоінформативні інструментальні, морфологічні, імуноферментні, радіоімунні методики.

Розроблено підходи до корекції виявлених порушень шляхом призначення диференційованих схем лікування з урахуванням клітинно-молекулярних порушень і стану імунної системи організму. Впроваджено технології з використанням вітчизняних препаратів гепатопротекторів тіатріазоліну і антралю, що дозволяє поліпшити течію процесу, скоротити терміни тимчасової непрацездатності, а в ряді випадків запобігти інвалідизації. При цьому лікування є доступним для різних соціальних груп населення. Поряд з медикаментозною терапією проводилось екстракорпоральне опромінювання крові ультрафіолетовими променями з позитивним ефектом. Отримані результати узагальнені в монографії В.М. Хворостінки «Алкогольні гепатопатії» (Харків, 1989. 234 с.), авторських винаходах, чотирьох кандидатських і двох магістрських роботах.

Одним з напрямків діяльності кафедри є вивчення функціонального стану, поліпшення діагностики та лікування жовчного міхура і жовчовидільних шляхів. Вивчався вміст біоелементів і гормонів у сироватці крові та жовчі, стан клітинного та гуморального імунітету, перекисного окиснення ліпідів при різних варіантах перебігу захворювання. Обгрунтовані та розроблені методи профілактики утворення конкрементів у жовчному міхурі у пацієнтів з високим ризиком розвитку жовчнокам'яної хвороби. Клініко-функціональне обстеження пацієнтів групи ризику дозволило виявити закономірні зміни структури міхурової жовчі та її складу, порушення обміну і транспорту ліпідів, жовчних кислот, кальцію. Встановлено, що високий ризик захворювання на жовчнокам'яну хворобу зумовлений метаболічним розладом в обміні холестерину й жовчних кислот з порушенням співвідношення сольобілізуючих і преципітувальних інгредієнтів жовчі, тобто секрецією літогенної жовчі.

На основі отриманих даних розроблені та впроваджені в практику схеми терапії з урахуванням встановлених порушень, якими передбачено застосування імуностимуляторів (тімалін, Т-активін), антиоксидантів (вітамін Е, токоферол, елеутерокок), ліпотропних засобів, холекінетиків. Розроблені нові методи лікування холелітазу з використанням лікарських засобів, які впливають на характер жовчо- та каменеутворення, — це препарати на основі урсодезоксихолевої кислоти.

З успіхом пройшли клінічні випробування вітчизняні препарати «Геранол» і «Цитринол», які мають жовчогінний і протизапальний ефекти та призначаються при лікуванні хронічного холециститу. Також в лікуванні даної патології апробовані жовчогінні препарати «Холензим», «Хофітол», «Фебіхол», «Хенофальк», які отримали позитивну оцінку.

Вивчалися особливості течії захворювання у пацієнтів похилого та старечого віку. Отримані дані відображені в навчальному посібнику «Хирургическое лечение острых осложненных холециститов у лиц пожилого и старческого возраста» (Харьков, Прапор, 1993. 182 с.).

У 2000 р. запланована трирічна науково-дослідна робота «Діагностичне та прогностичне значення клітинно-молекулярних і гормональних порушень на розвиток і перебіг хронічного безкам'яного холециститу», яка є фрагментом загальної тематики університету з проблеми «Гастроентерологія».

Вивчається роль імунних порушень, перекисного окиснення ліпідів, цитокінів і адаптаційних гормонів на розвиток і течію запального процесу в жовчному міхурі та жовчовидільних шляхах, а також роль гормонів (мелатоніну і серотоніну) на їх скоротливу функцію. Встановлюється роль секреції муцину в патогенезі каменеутворення.

Важливим напрямком діяльності кафедри є вивчення захворювань гастродуоденальної зони, хвороби стравоходу. Достовірно визначені механізми розвитку рефлюкс-езофагіту і гастроезофагальної рефлюксної хвороби з урахуванням ролі імунних і клітинно-молекулярних порушень. Визначені схеми патогенетичної терапії з використанням препаратів, що підвищують тонус нижнього стравохідного сфінктера і ослаблюють перистальтику стравоходу. До цієї групи препаратів відносяться прокінетичні препарати, один з яких — домперидон — призначався хворим на цю патологію.

Велика увага приділяється вивченню ролі гелікобактерної інфекції на виникнення хронічного гастриту й пептичних виразок. Апробований ефективний препарат «Пілорид» для лікування гелікобактерної інфекції.

Систематизовані патогенетичні фактори при виразковій хворобі, виділені основні фактори ульцерогенезу, встановлений вплив Н. pylori на хронізацію і рецидиви захворювання.

Дослідження проводяться з використанням інформативних імунологічних, біохімічних і радіоімуннологічних методик.

Вивчення характеру порушень слизової оболонки шлунка та дванадцятипалої кишки в залежності від стану імунної реактивності організму, клітинно-молекулярних і мікроциркуляторних порушень дозволило розширити уяву про етіологію та патогенетичний механізм цієї виразкової хвороби. Отримані результати сприяли розробці нових схем терапії з урахуванням виявлених порушень, профілактики рецидивів і ускладнень захворювання, що дозволяє уникнути хірургічного втручання і сприяє стійкій ремісії.

З успіхом використовувалися препарати блокаторів H_2 -рецепторів гістаміну (фамотидин, нізатидин та роксатидин) і блокаторів H -, K -, АТФази (омепразол, лансопразол і пантопразол), що мають мінімальну кількість і частоту побічних ефектів.

Результати викладені в періодичних виданнях, у монографії В.М. Хворостінки «Руководство к практическим занятиям по гастроэнтерологии» (Харків, 1997. 287 с.).

Співробітники кафедри багато років займалися проблемою хронічних запальних уражень кишечника (ХЗУК).

Відомо, що у виникненні хвороб кишечника основне місце займають інфекційні збудники. Новітні дослідження показали високу вірулентність ентеропатогенних бактерій (*V. Cholerae*, *E. Coli*, *Shigella*, *Salmonella*) та їх причетність до виникнення патологічних процесів у кишечнику. Тому однією з наукових розробок кафедри було детальне вивчення стану мікрофлори кишечника і вдосконалення методів лікування з урахуванням дисбактеріозу.

У 1997 р. завершена трирічна науково-дослідна робота «Молекулярно-клітинні та імуногормональні механізми патогенезу у хворих на хронічні запальні ураження кишечника в динаміці лікування».

Детально вивчались питання етіопатогенезу хронічних запальних уражень кишечника. Визначено роль порушень імунного стану, перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту організму, середньомолекулярних пептидів і адаптаційних гормонів на течію й перебіг запального процесу. Розроблено схеми індивідуальної диференційної терапії з урахуванням виявлених порушень.

Вивчається роль цитокінів у формуванні й розвитку запального процесу при хронічних ентеритах і колітах.

В процесі роботи використовувались сучасні біохімічні, імунологічні та морфологічні методики. При морфологічному дослідженні встановлені форми лімфоїдної гіперплазії кишечника, що є групою ризику у виникненні лімфому. Вивчена ефективність вітчизняних препаратів «Полензим» і «Хілак-форте» на течію хронічних запальних уражень кишечника, що дозволило ефективно використовувати їх при даній патології. Впроваджено немедикаментозний метод лікування хронічних запальних уражень кишечника — синглетно-кисневу терапію, яка позитивно впливає на нормалізацію окисно-відновних процесів та імунний стан організму.

Результати досліджень знайшли відображення в багатьох статтях, авторських винаходах, присвячених впровадженню нових методів діагностики та лікування хронічних запальних уражень кишечника, а також трьох кандидатських і двох магістрських роботах.

У панкреатології велика увага приділялася визначенню етіологічних факторів виникнення гострих і хронічних форм панкреатитів, ролі перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту організму на виникнення й перебіг хронічного панкреатиту. Апробовані схеми диференційної терапії при лікуванні хронічних панкреатитів з використанням блокаторів H_2 -гістамінових рецепторів (фамотидину, нізатидину), блокаторів H -, K -, АТФази (омепразолу, пантопразолу). Для лікування секреторної недостатності підшлункової залози призначались панцитрат-2000 і біодобавки, що позитивно впливало на стан ферментів.

Вивчено ефективність і перспективи використання для лікування хворих з патологією гастродуоденальної зони немедикаментозних методів (рефлексотерапії, магнітотерапії), тканинних біопрепаратів, фітотерапії.

Актуальні питання в гастроентерології відображені в монографії В.М. Хворостінки «Терапевтическая гастроэнтерология» (Харьков, Основа, 1999. 366 с.).

Дуже важливою проблемою, над якою працювала кафедра, є впровадження в практику програми реабілітації хворих, що знаходилися в зоні аварії на ЧАЕС. Вивчались питання впливу радіації на шлунково-кишковий тракт. Результати досліджень також відображені в багатьох статтях.

Гастроентерологічне відділення обладнано необхідною сучасною лікувально-діагностичною апаратурою: фіброгастродуоденоскопами, ректороманоскопом, колоноскопом, апаратом для УЗД органів черевної порожнини, апаратом для проведення рН-метрії.

В галузі ревматології вивчена роль медіаторів запалення на розвиток і перебіг процесу у хворих на ревматоїдний артрит, що дозволило здійснювати ефективну корекцію біохімічних, гемодинамічних і гуморальних порушень. Вивчався вплив нестероїдних протизапальних препаратів на виникнення виразок гастродуоденальної зони.

Визначені критерії ефективності антигіпертензивної терапії на основі добового моніторингу артеріального тиску та ЕКГ, оцінки нейрогуморальних і клітинних факторів.

Впроваджено в практику метод визначення антиядерних антитіл до ДНК при системному червоному вовчаку як додатковий достовірний діагностичний критерій в постановці діагнозу та визначенні течії патологічного процесу.

Розроблені ефективні схеми медикаментозної терапії артеріальних гіпертоній з використанням нових антагоністів кальцію, блокаторів ефектів ангіотензину-II, комбінованих антигіпертензивних препаратів.

Проведена апробація вітчизняних і зарубіжних препаратів «Ортопласт», «Моваліс», «Вобензим» у пацієнтів з захворюваннями суглобів. Встановлено позитивний вплив цих препаратів на перебіг захворювання і тривалість ремісії. Впроваджено використання оротеїну для внутрішньосуглобної терапії у хворих на остеоартроз на фоні використання нестероїдних протизапальних засобів.

У схемах терапії хворих на ревматоїдний артрит використовуються диклоцин, хондропротектор алфлутоп. Для локальної терапії ревматоїдного артриту призначався дипроспан, що сприяло скорішому затиханню запального процесу в суглобах.

Успішно використовуються методи лазерної терапії, плазмозферезу, розчинного азоту при лікуванні суглобів.

В кардіологічному відділенні наукова робота кафедри спрямована на поліпшення діагностики та лікування хворих з патологією серцево-судинної системи. Проводиться поглиблене вивчення ролі гумо-

ральних і клітинних факторів атерогенезу в патогенезі хворих на хронічну ішемічну хворобу серця. Визначені найбільш діагностично значущі клініко-біохімічні показники, які відображають вираженість ішемічного ураження міокарда. Для диференційної діагностики симптоматичних гіпертоній впроваджені методи дослідження β_2 -мікроглобуліну, гормонів кори наднирників і продуктів їх метаболізму, катехоламінів у сироватці крові та сечі, що дозволяє достовірно встановити генез захворювання. Впроваджено в практику ехокардіографічні проби з добутамінном і електрокардіографічні: велоергометрична, з допаміном, анаприлінкалієва, що дозволяє поліпшити діагностику хронічної ішемічної хвороби серця на ранніх, початкових стадіях захворювання та оцінити скорочувальний резерв міокарда.

Пацієнтам з порушеннями ритму проводиться електрофізіологічне дослідження, яке включає визначення пізніх шлуночкових потенціалів, вивчення варіабельності серцевого ритму, чрезстравохідна електрокардіостимуляція.

Проведена апробація препаратів антагоністів кальцію — амлодипіну при лікуванні гіпертонічної хвороби. Розроблені схеми диференційної терапії, направлені на корекцію виявлених порушень.

Визначені та впроваджені стандарти щодо діагностики та лікування захворювань внутрішніх органів, які використовуються в клінічній практиці лікарями відділень обласної та районних лікарень.

Фундаментальними працями останніх років являються монографії «Факультетська терапія» (Харків, Факт, 2000, 855 с.), видана російською та українською мовою, і «Терапія» — керівництво для студентів і лікарів, написана у сумісництві з кафедрою госпітальної терапії під керівництвом академіка Л.Т. Малої (Харьков, Факт, 2001. 1032 с.). Монографія «Факультетська терапія» нагороджена дипломом III ступеня Головного управління освіти та науки Харківської обласної державної адміністрації, Ради ректорів Харківського вузівського центру та Харківського національного університету ім. В.Н. Каразіна.

На протязі останніх років під керівництвом В.М. Хворостінки видані один підручник, 10 навчальних посібників і 6 монографій. Подано 16 заявок на винахід, отримано 6 позитивних рішень, впроваджено в клінічну практику 15 винаходів і 24 раціоналізаторські пропозиції. Підготовлено 25 методичних рекомендацій, 18 інформаційних листів, 1256 наукових праць.

Підготовлені 11 магістрів медицини, 15 спеціалістів для зарубіжних країн.

На кафедрі постійно проводяться науково-практичні конференції з питань діагностики та лікування захворювань внутрішніх органів.

Співробітники кафедри приймають активну участь у конференціях і з'їздах з терапії та гастроентерології, які проходять у різних країнах. Являючись членами терапевтичного та гастроентерологічного товариств, приймають участь у розгляданні актуальних проблем терапії на їх засіданнях.

Кафедра є клінічною базою Фармакологічного комітету України з випробування нових препаратів вітчизняного і закордонного виробництва. За останні 25 років проведено 28 клінічних іспитів.

Кафедра факультетської терапії є відповідальною за підготовку і кваліфікацію фахівців, розробку та впровадження науково-організаційних форм профілактики і терапевтичної допомоги населенню, розповсюдження досвіду діяльності в регіональних лікувальних закладах і підготовку кадрів з терапії.

Відкриття останніх років примушують переглянути сформовані уявлення про етіопатогенез ряду захворювань внутрішніх органів, доповнювати або змінювати тактику лікування, звернути особливу увагу на методи первинної та вторинної профілактики.

Наукові розробки на нинішньому етапі дають підстави прогнозувати, що в недалекому майбутньому вчені нашої країни зможуть забезпечити високий потенціал здоров'я нації.

ТЕОРЕТИЧНА І ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА

ДИНАМИКА АМИНОКИСЛОТНОГО СОСТАВА ПЛАЗМЫ КРОВИ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ, ПОДВЕРГАВШИХСЯ ВОЗДЕЙСТВИЮ СИНТЕТИЧЕСКИХ ПОВЕРХНОСТНО-АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

А.Я. Цыганенко

Харьковский государственный медицинский университет

Исследовано влияние синтетических поверхностно-активных веществ на аминокислотный пул организма крыс. Установлено, что длительное (30 суток) пероральное введение водных растворов (1/100 ДЛ₅₀) поверхностно-активных веществ приводит к качественным и количественным изменениям аминокислотного пула организма, обусловленным мембранотропными эффектами и свободнорадикальным характером влияния детергентов.

Ключевые слова: аминокислоты плазмы, поверхностно-активные вещества, крысы линии Вистар.

Синтетические поверхностно-активные вещества (ПАВ), широко применяемые в различных сферах производства и в быту, являются ксенобиотиками с установленными мембранотропными свойствами.

Данные о политропном характере действия, мембранотоксических эффектах ПАВ [1–3] позволяют предполагать качественные и количественные изменения в метаболических путях важнейших биомолекул, к которым, в частности, относятся аминокислоты.

Важность исследования аминокислотного пула при воздействии на организм ксенобиотиков различных классов обусловлена ролью аминокислот в синтезе белков, биологически активных соединений, их участием в репаративных и детоксикационных процессах, значением в определении уровня иммунобиологической реактивности организма.

Целью работы было исследование влияния синтетических ПАВ на аминокислотный пул организма крыс.

Материал и методы. Исследования выполнены на крысах линии Вистар массой 200–220 г, подвергавшихся ежедневной пероральной затравке в течение 30 сут водными растворами синтетических детергентов (в дозе 1/100 ДЛ₅₀): азотсодержащим ПАВ (амидалин 9 БС), фосфорсодержащим ПАВ (эфасол), натриевой солью карбоксиметилированного этоксилата на основе соответствующих иононилфенолов (неонол АФС 9-6 КМ).

Содержание аминокислот в плазме крови определяли методом ионообменной хроматографии на ионитах. Разделение и регистрацию аминокислот проводили на автоматическом анализаторе аминокислот ААА-339.

Результаты и их обсуждение. Анализ показал различия в содержании аминокислот в плазме крови в группах животных, подвергавшихся воздействию амидалином, эфасолом, неонолом АФС 9-6 КМ, как в сравнении с контролем, так и между собой. Это может быть связано с комплексом мета-

болических отклонений, происходящих в организме под влиянием испытуемых соединений и приводящих к развитию дефицита в энергообеспеченности тканей. В условиях интоксикации активируются компенсаторно-приспособительные механизмы, в частности происходит интенсификация глюконеогенеза, стимулируемого, как известно, глюкокортикоидами, которые в повышенных количествах секретируются при действии на организм токсических веществ. Предыдущие наши исследования [4] показали значительное возрастание продукции глюкокортикоидных гормонов, что подтверждает это положение.

Значительное увеличение количества свободных аминокислот в плазме крови объясняется многими авторами тем, что усиление катаболических процессов в тканях при различного рода интоксикациях является проявлением приспособительной реакции, направленной на поддержание гомеостаза. По их мнению, увеличение пула свободных аминокислот в результате повышенного распада белков способствует направленному синтезу ряда клеточных структур и других потребностей организма [5]. Вместе с тем, высокое содержание в крови аминокислот может свидетельствовать о преобладании катаболических процессов над анаболическими [6].

Нашими исследованиями установлено, что эфасол повышал в плазме крови уровень треонина, валина, цистеина, цистина + метионина, изолейцина, фенилаланина, лизина, цистеиновой и аспарагиновой аминокислот, вместе с тем отмечалось снижение таурина, серина, глицина, аланина, орнитина. У животных, подвергавшихся воздействию эфасола, не нарушалась динамика аргинина, гистидина, γ -аминомасляной кислоты, тирозина, аспарагина + глутаминовой кислоты, аммиака.

Амидалин 9 БС повышал уровень аланина, цистеиновой кислоты и снижал содержание в плазме таурина, лизина, мочевины, треонина, глутамина, пролина, глицина, валина, γ -аминомасляной кислоты, серина, цистеиновой и аспарагиновой аминокислот, аспарагина + глутаминовой кисло-

ты. Нарушений в динамике цистатионина, цистина + метионина, изолейцина + лейцина, тирозина, фенилаланина, аммиака, орнитина, гистидина, аргинина не отмечалось.

Сходные изменения в динамике аминокислот обнаруживали у животных, затравленных неололом АФС 9-6 КМ, который увеличивал в плазме уровень аланина, цистеиновой кислоты, снижал уровни глицина, пролина, глутамина, серина, треонина, мочевины, аспарагина + глутаминовой и аспарагиновой кислот, лизина; не влиял на пул аргинина, гистидина, орнитина, аммиака, фенилаланина, тирозина, изолейцина + лейцина, цистатионина, цистин + метионина (таблица). Все исследуемые детергенты в испытанной дозе не влияли на содержание аргинина, гистидина, аммиака, тирозина.

синтез белков, глюконеогенез, липогенез. Неоднотипно изменялось количество отдельных аминокислот. Азотсодержащий детергент — амидалин 9 БС увеличивал в плазме содержание серосодержащих аминокислот, тогда как эфасол и неонол АФС 9-6 КМ снижали. Уменьшение содержания аминокислот может объясняться использованием их для предохранения ферментов от инактивации перекисями, гидроперекисями, свободными радикалами, образующимися в организме экспериментальных животных при воздействии ПАВ. Вместе с тем, следует отметить, что амидалин повышал содержание мочевины в плазме по сравнению с другими соединениями, что указывает на усиленный распад аминокислот в организме под влиянием азотсодержащих ПАВ. Опыты свидетельствуют о нарушении метаболизма цистеина, треони-

Содержание аминокислот в плазме крови белых крыс под влиянием поверхностно-активных веществ (доза 1/100 ДЛ₅₀) (M±m), нмоль/мл

Аминокислоты	Амидалин 9 БС	Эфасол	Неонол АФС 9-6 КМ	Контроль
γ-аминомасляная	12,52±2,08	7,74±0,52*	7,86±0,49*	13,07±0,43
Аланин	56,65±2,65*	70,32±3,14*	74,81±1,56*	62,42±2,047
Аммиак	18,97±2,88	20,49±1,729	17,54±0,77	20,52±1,39
Аргинин	19,23±1,76	18,96±2,037	18,72±1,04	21,0±0,097
Аспарагин+глутамат	17,33±1,075	12,68±0,96*	13,43±0,87*	17,34±0,54
Аспарагиновая	5,4±0,6*	2,90±0,35*	2,53±0,42*	3,54±0,04
Валин	38,06±8,5*	13,06±0,71*	12,70±0,56*	16,8±0,66
Гистидин	10,01±0,64	10,65±0,55	10,80±1,27	11,25±0,35
Глицин	36,53±2,7*	40,33±1,65*	41,83±2,17*	51,96±1,83
Глутамин	201,3±10,11*	329,0±12,6*	312,43± 14,5*	375,7±12,03
Изолейцин+лейцин	9,83±1,26*	5,02±0,174	4,83±0,23	5,32±0,33
Лизин	32,9±0,96**	16,94±1,12*	16,28±1,09**	24,97±0,96
Мочевина	50,37±4,169*	21,72±4,87*	21,55±2,24*	34,64±2,75
Орнитин	8,7±0,68*	9,92±0,56	10,42±0,83	11,07±0,02
Пролин	50,46±2,60	41,46±1,18*	43,52±0,94*	50,5±2,17
Серин	36,2±1,49*	34,5±1,8*	32,80±1,44*	44,38±2,27
Таурин	17,73±0,519*	16,30±0,617*	20,72±1,192	4,85±2,099
Тирозин	12,55±2,78	7,65±0,877	8,28±0,66	9,95±0,49
Треонин	54,08±1,15*	20,09±1,40*	18,08±2,05*	37,28±4,09
Фенилаланин	14,87±0,65*	11,62±0,53	12,02±1,05	10,7±1,53
Цистатионин	16,23±1,20*	11,04±0,96	10,84±0,56	11,46±0,34
Цистеиновая	1,72±0,183*	1,53±0,11*	2,25±0,18**	0,875±0,14
Цистин+метионин	14,30±0,57*	9,11±0,11	8,68±0,743	9,18±0,34

Примечание. Различия с контролем статистически достоверны, * p<0,05; ** p<0,01.

Отмеченные сдвиги в содержании отдельных аминокислот в фонде экспериментальных животных могут лежать в основе нарушений протеосинтеза. Такое предположение основано на известном правиле: недостаточность хотя бы одной из аминокислот лимитирует использование остальных для синтеза белковой молекулы. При оценке сдвигов в количественном содержании свободных аминокислот следует исходить не только из предположений об изменениях процессов синтеза и распада белка, но и учитывать центральное место аминокислотного метаболизма в обменных процессах организма.

В наших наблюдениях эфасол приводил к нарушению утилизации аминокислот, подавляя био-

на, серина, глицина и превращении их через пирuvat в ацетил-КоА. У опытных животных отмечалось снижение уровня метаболизма фенилаланина в ацетил-КоА через ацетоацетил-КоА. ПАВ ускоряли утилизацию и превращение пролина в α-кетоглутарат. Аналогичная картина наблюдалась для глутамина, аспарагиновой и глутаминовой кислот. Амидалин 9 БС нарушал превращение изолейцина, метионина и валина через сукцинил-КоА.

Выводы

Данные экспериментов свидетельствуют о том, что при воздействии ПАВ происходит перестройка азотистого метаболизма, проявляющаяся количественными и качественными сдвигами в пуле сво-

бодных аминокислот. Азотсодержащие ПАВ способствовали мобилизации аминокислот из тканей (в большей степени серосодержащих), тогда как фосфорсодержащие детергенты и неонолы приводили к снижению их количества в плазме. Такие изменения указывают на то, что амидалин активи-

рует синтез серосодержащих аминокислот, используемых на «нейтрализацию» свободных радикалов, перекисей и гидроперекисей. Снижение пула серосодержащих аминокислот, возможно, свидетельствует о значительном расходе последних на нейтрализацию свободных радикалов.

Список литературы

1. *Абрамзон А.А.* Поверхностно-активные вещества: свойства и применение. Л.: Химия, 1981. 304 с.
2. *Бакач Т.* Охрана окружающей среды; Пер. с венг. М.: Медицина, 1980. 216 с.
3. *Башук В.Г.* Обоснование предельно-допустимых концентраций группы азотсодержащих ПАВ на основе имидазолинов в воде водоемов. Эколого-гигиенические аспекты производственной и окружающей среды: Сб. научн. трудов: Харьк. гос. мед. ун-т, Харьк. гор. сан.-эпид. станция. Харьков, 1995: 17–20.
4. *Цыганенко А.Я., Жуков В.И., Щербань Н.Г. и др.* Структурно-метаболические механизмы формирования нарушений клеточного и гуморального иммунитета под воздействием детергентов в связи с проблемой охраны водных экосистем. Белгород: Полисинтез, 2001. 414 с.
5. *Зорькин А.А., Курцер Б.М., Довганский А.П.* Динамика сдвигов свободных аминокислот и кортикостерона в тканях печени и миокарда крыс при комбинированной ожогово-лучевой травме. Метаболические процессы при некоторых экстремальных состояниях. Кишинев, 1985: 38–44.
6. *Заяц Л.Т., Головчинский В.Б., Музыкант Л.И.* О роли гипоталамической области в нарушениях белкового обмена после ожоговой травмы. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1968; 8: 48–50.

ДИНАМІКА АМІНОКИСЛОТНОГО СКЛАДУ ПЛАЗМИ КРОВІ ТЕПЛОКРОВНИХ ТВАРИН, ЩО ЗАЗНАВАЛИ ВПЛИВУ СИНТЕТИЧНИХ ПОВЕРХНЕВО-АКТИВНИХ РЕЧОВИН

А.Я. Цыганенко

Досліджено вплив синтетичних поверхнево-активних речовин на амінокислотний пул організму щурів. Установлено, що тривале (30 діб) пероральне введення водних розчинів (1/100 ДЛ₅₀) поверхнево-активних речовин приводить до якісних і кількісних змін амінокислотного пулу організму, зумовлених мембранотропними ефектами та вільнорадикальним характером впливу детергентів.

Ключові слова: амінокислоти плазми, поверхнево-активні речовини, щури лінії Вістар.

BLOOD AMINO ACIDS COMPOSITION DYNAMICS IN WARM-BLOODED ANIMALS TOXIFICATED BY SYNTHETIC SURFACE-ACTIVE SUBSTANCES

The influence of synthetic surface-active substances to amino acids pool of rats organism was investigated. The prolonged (30 days) administration of detergents water dilutions (1/100 DL₅₀) per os cause the qualitative and quantitative changes of amino acids pool. These changes are conditioned by membranotropic and free-radical effects of surface-active substances.

Key words: blood amino acids, surface-active substances, Wistar rats.

ОТДАЛЕННЫЕ ПОСЛЕДСТВИЯ ВЛИЯНИЯ МАКРОЦИКЛИЧЕСКИХ КРАУН-ЭФИРОВ НА ОРГАНИЗМ ТЕПЛОКРОВНЫХ ЖИВОТНЫХ

Р.И. Кратенко

Харьковский государственный медицинский университет

В эксперименте на белых крысах изучено гонадотоксическое, эмбриотоксическое и мутагенное действие макроциклических краун-эфиров. В дозе 1/10000 ДЛ₅₀ они снижали индекс сперматогенеза, относительное число канальцев с 12-й стадией мейоза, число сперматогоний и увеличивали число канальцев со слущенным эпителием. Краун-эфир в дозе 1/100000 ДЛ₅₀ не оказывали эмбриотоксическое действие. Действие 1/10000 ДЛ₅₀ приводило к снижению массы плодов, плацент и увеличению гибели до имплантации и общей эмбриональной гибели. Исследуемые соединения способны вызывать хромосомные aberrации, снижать синтез ДНК, РНК, белка. Обнаруженные нарушения находились на уровне общетоксического действия макроциклов, что дает основание исключить у них наличие специфического мутагенного эффекта. Недействующей дозой во всех случаях была 1/100000 ДЛ₅₀.

Ключевые слова: макроциклические краун-эфир, гонадотоксическое действие, эмбриотоксическое действие, мутагенный эффект.

Многие химические соединения, загрязняющие среду обитания человека, способны оказывать специфическое действие (без значительных общих токсических эффектов), проявляющееся в отдаленные периоды жизни индивидуумов и сказывающееся на потомстве [1, 2]. Имеется особый класс малоисследованных в медико-биологическом от-

ношении экзогенных веществ — макроциклические краун-эфир. Наиболее важным их свойством является способность образовывать устойчивые комплексы с солями щелочных и других металлов, включая в свою полость катион [3]. Свойство краун-эфиров «коронировать» катион, а также коронобразная молекулярная структура были приняты

С. J. Pedersen за основу при названии этого класса соединений («crown» — корона) [4]. Они представляют собой макроциклические системы с 9–60 атомами в цикле, из которых треть составляют атомы эфирного кислорода, разделенные между собой этановыми группами [3, 4]. Краун-эфиры широко применяются в химической промышленности для разделения ионов металлов, в фармацевтическом анализе лекарственных средств и др. [3, 5], однако их специфическое действие, проявляющееся в отдаленные периоды жизни организма, практически не изучено, хотя и показано, что эти вещества принадлежат к умеренно-токсичным и чрезвычайно кумулятивным [6]. Согласно «Методическим указаниям по применению расчетных и экспресс-экспериментальных методов при гигиеническом нормировании химических соединений в воде водных объектов» (№ 1943-78) проведение исследований по изучению отдаленных последствий влияния макроциклических эфиров на организм теплокровных животных является обязательным.

Материал и методы исследований. Эксперименты выполнены на белых крысах (самцах и самках) массой 180–210 г. Для интоксикации выбраны действующая и пороговая дозы хронического опыта, то есть 1/10000 и 1/100000 ДЛ₅₀, что составляет для 12-краун-4 — 0,1117 и 0,01117; дициклопента-12-краун-4 — 0,1790 и 0,0179; трициклопента-12-краун-4 — 0,236 и 0,0236; 15-краун-5 — 0,1350 и 0,01350; гидрокси-16-краун-5 — 0,211 и 0,0211; 18-краун-6 — 0,1270 и 0,01270 мг/кг массы животного. Животные подвергались ежедневной пероральной заправке указанными дозами в течение 2 мес.

Изучение гонадотоксического действия краун-эфиров выполнено в соответствии с «Методическими указаниями по изучению гонадотоксического действия химических веществ при гигиеническом нормировании в воде водоемов» (№ 2492-81) с использованием этапности исследований.

В программу изучения гонадотоксического действия испытуемых эфиров включалось:

- функциональное состояние сперматозоидов — подвижность сперматозоидов (млн), количество сперматозоидов (млн), осмотическая резистентность (% р-ра NaCl), кислотная резистентность (рН), дегенеративные формы (%);
- морфологические показатели — масса семенников (г), коэффициенты массы семенников, внешний вид;
- морфологические показатели состояния сперматогенного эпителия (индекс сперматогенеза, каналцы со слущенным эпителием (%), каналцы с 12-й стадией мейоза (%), нормальные сперматогонии).

Изучение эмбриотоксического действия выполнено в соответствии с «Методами экспериментального исследования по установлению порогов действия промышленных ядов на генеративную функцию с целью гигиенического нормирования» на самках с нормальным эстральным циклом. При исследовании были учтены также научно-практические рекомендации [7, 8].

На стадии эструс и проэструс самок подсаживали к самцам в отношении 1:3. Первый день беременности определяли по наличию сперматозоидов в вагинальных мазках. Оплодотворенные самки с первого дня беременности подвергались ежедневной пероральной заправке исследуемыми веществами в дозах 1/10000, 1/100000 ДЛ₅₀. Препара-

ты вводили в течение всей беременности. На 20-й день крыс вскрывали и учитывали количество живых эмбрионов, их внешний вид, массу плацент, количество мест имплантации, гибель зародышей после имплантации, количество желтых тел беременности. Плоды подвергали внешнему осмотру и морфологическому исследованию с целью выявления возможного тератогенного действия [9]. Для этого их фиксировали в жидкости Буэна в течение 7–10 сут, после чего определяли аномалии органов по методу Вильсона в модификации А.П. Дыбана [10].

Мутагенный эффект краун-эфиров был изучен на клетках красного костного мозга, обладающих высокой митотической активностью [11]. В опыте использованы белые крысы. При постановке учитывали методические рекомендации [12].

Животные на протяжении подострого опыта подвергались ежедневной пероральной заправке 1/1000; 1/10000; 1/100000 ДЛ₅₀. За 2 ч до забоя им внутрибрюшинно вводили 2,5 мг/кг колхицина. Препараты готовили по общепринятой методике с последующей окраской по Романовскому-Гимза. От каждой крысы проанализировано по 100 метафаз, учитывали одиночные и парные фрагменты, транслокации, дицентрики, делеции, кольцевые хромосомы; пробелы не учитывали. В клетках костного мозга подсчитывали делящиеся клетки на 1500 клеток у каждого животного.

Для изучения мутагенной активности химических соединений на втором этапе исследований был использован метод учета доминантных летальных мутаций в половых клетках самцов млекопитающих. Белых крыс заправляли испытуемыми веществами на протяжении 2,5 мес. После окончания воздействия к каждому самцу подсаживали по три виргинные самки на одну неделю. Оплодотворенных самок вскрывали на 20-й день беременности. При этом подсчитывали число живых и мертвых эмбрионов, процент беременных самок, количество имплантаций, показатель постимплантационной гибели.

Генотоксичность макроциклических эфиров оценивали на бактериях *Escherichia coli*, штамм trp A₂₂₃. Микроорганизмы выращивали на мясопептонном бульоне до стационарной фазы роста. Аликваты культуры обрабатывали различными концентрациями испытуемых веществ в течение 30 мин. После обработки делали серии 10-кратных разведений и посев на чашки Петри агаризованной средой M₉. Чашки инкубировали 18 ч при 37 °С, после чего подсчитывали колонии. Подсчитывали также отношение количества колоний (К) на чашках с агаризованной средой M₉⁻ к количеству колоний на чашках с агаризованной средой M₉⁺, содержащей триптофан (концентрацией 1 мг/мл) (trp/trp⁺), что характеризовало частоту мутаций триптофансинтетазы.

Для определения мутагенной активности краун-эфиров также были использованы клетки культуры миеломы мыши Х-63. В культуральную среду добавляли изучаемое соединение и инкубировали в течение 1 ч при 37 °С. Затем клетки рассеивали в 96-луночный планшет с макрофагами в качестве фидера. При культивировании линии Х-63 на ростовой среде с 8-азагуанином (50 мкг/мл) выживали только клетки, не способные продуцировать гипоксантин фосфорибозил трансферазу (ГФРТ⁻), а на среде гипоксантин-аминоптерин-ти-

мидин клетки способны синтезировать гипоксантин фосфорибозил трансферазу (ГФРТ⁺). Клоны, растущие в лунках культурального планшета, учитывали через две недели. По количеству ревертантов ГФРТ⁺ — ГФРТ⁻ судили о частоте мутаций гена ГФРТ.

Для изучения индукции индивидуальных белковых фракций клетки *Escherichia coli* MRE-600 инкубировали в течение 10 мин с изучаемым веществом, отмывали средой M₉ и метили 10 мин при 37 °С ³⁵S-метионином. Клетки бактерий лизировали кипячением в 1%-ном SDS, белки разделяли с помощью электрофореза в полиакриламидном геле. Гели окрашивали Кумаси G-250, высушивали и по прошествии двух недель экспонировали. Авторадиограммы денситометрировали на «Ultrosap XL» для количественной оценки радиоактивности белковых фракций.

Результаты и их обсуждение. При введении 12 краун-4 в дозе 1/10000 ДЛ₅₀ наблюдалось нарушение функциональной активности сперматозоидов, выразившееся в снижении их концентрации в суспензии придатка, уменьшении времени подвижности, увеличении количества мертвых форм, снижении осмотической резистентности (табл. 1). Сходные изменения обнаруживались под воздействием и других краун-эфиров.

Макроциклические эфиры в дозе 1/10000 ДЛ₅₀ снижали индекс сперматогенеза, относительное число канальцев с 12-й стадией мейоза, число сперматогоний и увеличивали число канальцев со слущенным эпителием. Во всех случаях доза 1/100000 ДЛ₅₀ была недействующей. Это дает возможность судить об отсутствии у макроциклических эфиров специфического гонадотоксического действия.

Макроциклические эфиры в дозе 1/100000 ДЛ₅₀ не оказывали эмбриотоксического действия, в дозе 1/10000 ДЛ₅₀ приводили к снижению массы плодов, плацент и увеличению гибели до имплантации и общей эмбриональной гибели. Морфологическая

оценка эмбрионального материала не выявила видимых уродств и отклонений в дифференциации органов и тканей при гистологическом исследовании препаратов. Сопоставляя результаты подострого и хронического опытов, следует сделать вывод об отсутствии специфического эмбриотоксического действия у краун-эфиров. Установленные изменения эмбрионального материала находились на уровне общетоксического действия. Доза 1/100000 ДЛ₅₀ оказалась недействующей.

Эксперименты показали, что исследуемые вещества в дозах 1/1000 и 1/10000 ДЛ₅₀ повышали процент клеток с хромосомными aberrациями и снижали их митотическую активность (табл. 2). В дозе 1/100000 ДЛ₅₀ они не нарушали перестройку хромосомного аппарата клеток красного костного мозга.

Исследуемые вещества концентрацией до 50 мг/л не влияли на частоту мутаций гена ГФРТ. Под влиянием факторов, индуцирующих однонитевые разрывы ДНК, в клетках активировался синтез белков.

Обработка *Escherichia coli* изучаемыми веществами в концентрациях до 50 мг/л не оказывала влияния на спектр синтезируемых белков. Действие 30-мин инкубации веществ на мутации *Escherichia coli* trp⁻/trp⁺ в концентрациях до 25 мг/л показало, что вещества не повреждают генетический аппарат клетки: контроль 12,4±4,9, опыт в диапазоне от 10±3,5 до 17,8±5,1, ультрафиолетовое облучение (2-й контроль) 79,3±6,6 при 25 эрг/мм.

Эти исследования подтверждают, что краун-эфиры не вызывают точечных генных мутаций в концентрациях до 25 мг/л. Но вместе с тем, результаты показали, что краун-эфиры тормозили в концентрациях 50 мг/л и более включение предшественников ДНК, РНК и белка в культуру клеток мышинной миеломы (X-63). Снижение инкорпорации радиоактивных нуклеотидов ³H-тимидина, ³H-уридина, ¹⁴C-лейцина свидетельствует, что вещества способны тормозить синтез ДНК, РНК и белка (табл. 3).

Таблица 1. Влияние краун-эфиров на функциональное состояние сперматозоидов белых крыс (M±m)

Показатель	Контроль	12 краун-4 (ДЛ ₅₀)		18 краун-6 (ДЛ ₅₀)	
		1/10000	1/100000	1/10000	1/100000
Время подвижности сперматозоидов, мин	144,9±10,2	89,4±14,2*	148,5±8,3	84,7±7,8*	130,6±8,4
Количество сперматозоидов, млн/мл	10,5±1,2	5,2±0,83*	8,5±1,5	4,2±1,3*	9,7±1,4
Количество мертвых сперматозоидов, %	5,8±1,3	48,3±9,80*	6,4±1,2	35,6±4,2*	6,2±1,02
Осмотическая резистентность, %	3,7±0,2	3,1±0,1*	3,67±0,4	2,8±0,2*	3,5±0,2
Кислотная резистентность, РН	3,5±0,1	4,1±0,2*	3,6±0,2	3,3±0,4*	3,4±0,3

* p<0,05.

Таблица 2. Влияние краун-эфиров на частоту хромосомных aberrаций и митотическую активность клеток красного костного мозга (M±m)

Вещество	Кол-во клеток с хромосом. перестройками			Митотический индекс		
	1/1000 ДЛ ₅₀	1/10000 ДЛ ₅₀	1/100000 ДЛ ₅₀	1/1000 ДЛ ₅₀	1/10000 ДЛ ₅₀	1/100000 ДЛ ₅₀
Контроль		0,65±0,13			6,7±0,4	
12 краун-4	7,2±0,8*	4,2±0,5*	0,73±0,09	2,10±0,15*	3,9±0,18*	6,3±0,4
Гидрокси-16 краун-5	6,5±0,4*	3,7±0,6*	0,68±0,07	3,14±0,20*	4,6±0,35*	6,51±0,3
18 краун-6	6,7±0,20*	3,9±0,4*	0,68±0,2	3,30±0,25*	3,5±0,40*	6,8±0,7
15 краун-4	6,4±0,35*	5,10±0,24*	0,76±0,14	4,15±0,18*	5,30±0,15*	6,20±0,3
Дициклопента-12 краун-4	7,8±0,45*	4,30±0,3*	0,72±0,16*	3,70±0,30*	5,60±0,20*	7,10±0,25

*p<0,05.

Таблица 3. Влияние краун-эфиров на синтез РНК, ДНК и белка в культуре клеток Х-63

Вещество	Имп/мин·10 ⁶ клеток		
	³ Н-уридин	³ Н-тимидин	¹⁴ С-лейцин
12 краун-4	35895,7±2408*	10406,7±958*	20756,3±2785*
15 краун-5	37624,8±1953*	16840,5±1850*	40115,3±2273*
18 краун-5	48956,2±2150*	12620,7±1305*	38116,51±3016*
Контроль	62863,4±2945,6	31692,7±1325,4	51625,7±3460,8

*p<0,05.

Эти данные хорошо согласуются с митотической активностью клеток красного костного мозга.

Изучение влияния краун-эфиров на генетический аппарат показало, что эти соединения способны вызывать хромосомные аберрации (дилации, дицентрики, разрывы, транслокации), снижать синтез ДНК, РНК, белка. Обнаруженные нарушения находились в пределах допустимого общетоксического действия макроциклов, что дает основание исключить у них наличие специфического мутагенного эффекта. Недействующей во всех случаях была доза 1/100000 ДЛ₅₀.

Таким образом, оценка отдаленных последствий влияния макроциклических эфиров на организм теплокровных животных свидетельствует, что в дозах 1/100000 и 1/100000 ДЛ₅₀ они не вызывают специфического гонадотоксического, эмбриотоксического, мутагенного действия. Не оказывают они в этих дозах и тератогенного эффекта. Отдаленные последствия влияния краун-эфиров проявились на уровне общетоксического действия, что позволило исключить у них наличие специфических отдаленных эффектов. Доза 1/100000 ДЛ₅₀ была недействующей.

Список литературы

1. Красовский Г.Н. Экстраполяция мутагенного эффекта некоторых веществ. Гигиена и санитария 1975; 3: 53–58.
2. Красовский Г.Н., Соколовский В.В. Генетические эффекты тяжелых металлов. Гигиена и санитария 1979; 9: 56–59.
3. Хираока М. Краун-соединения, свойства и применение. М.: Мир, 1986. 277 с.
4. Фегтле Ф., Вебер Э. Химия комплексов «гость-хозяин». М.: Мир, 1988. 506 с.
5. Gal S.C., Couroy W.J., McKelvey J.A. Behavioral and neuropharmacological toxicology of macrocyclic ether of 18 crown-6. Drug. Chem. Toxicol. 1978; 1(4): 339–356.
6. Саноцкий И.В., Фоменко В.Н. Параметры токсичности и кумулятивные свойства краун-эфиров в краткосрочных опытах. Эксперим. і кліні. мед. 2001; 1: 25–28.
7. Красовский Г.Н., Алексеева Т.В., Егорова Н.А., Жолдакова З.И. Биотестирование в гигиенической оценке качества воды. Гигиена и санитария 1991; 9: 13–16.
8. Саноцкий И.В., Фоменко В.Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. М.: Медицина, 1979. 217 с.
9. Wilson J. Teratogenic effects of environmental chemicals. Fed. Proc. 1977; 36; 5: 1698–1703.
10. Дыбан А.П., Баранов В.С., Акимова И.М. Основные методические подходы к тестированию тератогенной активности химических веществ. Архив анат. 1970; 10: 89–99.
11. Литвинов Н.Н., Соколовский В.В., Журков В.С. Модификация анилиновой мутагенной активности циклофосамида в хроническом эксперименте на мышах. Гигиена и санитария 1983; 8: 13–16.
12. Саноцкий И.В., Фоменко В.Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм. М.: Медицина, 1979. 217 с.

ВІДДАЛЕНІ НАСЛІДКИ ВПЛИВУ МАКРОЦИКЛІЧНИХ КРАУН-ЕФІРІВ НА ОРГАНІЗМ ТЕПЛОКРОВНИХ ТВАРИН

Р.І. Кратенко

Експериментально на білих щурах вивчено гонадотоксичну, ембріотоксичну та мутагенну дію макроциклических краун-ефірів. У дозі 1/10000 ДЛ₅₀ вони знижували індекс сперматогенезу, відносно кількість каналців з 12-ю стадією мейозу, число сперматогоній і підвищували число каналців зі злущеним епітелієм. Краун-ефіри в дозі 1/100000 ДЛ₅₀ не виявляли ембріотоксичної дії. Дія 1/10000 ДЛ₅₀ призводила до зниження маси плодів, плацент і підвищення загибелі перед імплантацією та загальної ембріональної загибелі. Досліджувані сполуки можуть викликати хромосомні аберрації, знижувати синтез ДНК, РНК, білка. Знайдені порушення знаходились на рівні загальнотоксичної дії макроциклів, що дає підставу виключити наявність їх специфічного мутагенного ефекту. Не діючою дозою у всіх випадках була 1/100000 ДЛ₅₀.

Ключові слова: макроциклическі ефіри, гонадотоксична дія, ембріотоксична дія, мутагенний ефект.

REMOTE EFFECTS OF MACROCYCLIC CROWN-ETHERS INFLUENCE ON WARM-BLOODED ANIMAL ORGANISM

R.I. Kratenko

Gonadotoxic, embryotoxic and mutagenic remote effects of macrocyclic crown-ethers were investigated in the experiments with white rats. 1/10000 DL₅₀ of macrocyclic ethers diminished spermatogenesis index, relative number of tubules with 12th stage of meiosis, spermatogonium number and elevated number of tubules with sliced epithelium. 1/100000 DL₅₀ of crown ethers did not cause embryotoxic effects, 1/10000 DL₅₀ action resulted in the decrease in fetus and placenta mass, and the increase in the preimplantational and general embryonal mortality. The investigating substances are capable of evoking the chromosomal aberrations, reducing DNA, RNA and protein synthesis. The discovered impairments abode at the levels of the macrocycle general toxicity, which gives the reason to exclude the occurrence of their specific mutagenic effect. In all cases 1/100000 DL₅₀ was inactive.

Key words: macrocyclic crown-ethers, gonadotoxic, embryotoxic and mutagenic effects.

ДИФФЕРЕНЦИРОВКА IN VITRO КЛЕТОК СТРОМЫ КОСТНОГО МОЗГА МЫШИ В КЛЕТКИ-ПРЕДШЕСТВЕННИКИ НЕЙРОНОВ И ГЕПАТОЦИТОВ

Е.А. Щегельская, Ю.Е. Микулинский, В.Е. Кульшин*,
Е.А. Омельченко*, В.И. Грищенко*

*Институт проблем криобиологии и криомедицины НАН Украины, г. Харьков
Лаборатория молекулярной диагностики «Вирола», г. Харьков

С помощью морфологического анализа и гистохимических реакций показана дифференцировка in vitro клеток стромы костного мозга мыши в клетки-предшественники нервных и печеночных клеток при использовании для культивирования специфических индукторов и кондиционных сред. При продолжительном культивировании нейробласты дифференцировались в веретенообразные, пирамидные и звездчатые нейроны, а также в клетки глии: астроциты и олигодендроциты. Разработанные методики позволяют получать от 25 до 80 % нервных клеток вне организма. Высказывается предположение о плюрипотентности клеток стромы костного мозга и возможности их использования в клеточной терапии.

Ключевые слова: *костный мозг, клетки стромы, стволовые клетки, кондиционная среда, ретиновая кислота, нейробласт, гепатоциты, нейрон, клетки глии, клеточная терапия.*

Давно известно, что костный мозг является источником ряда стволовых клеток, из которых в организме млекопитающих постоянно дифференцируются клетки крови и иммунной системы. Эти типы стволовых клеток хорошо изучены. Однако среди клеток костного мозга есть еще немногочисленная популяция фибробластоподобных клеток стромы, которым ранее не уделяли особого внимания, но о которых было известно, что они каким-то образом способствуют сохранению недифференцированного состояния стволовых клеток крови [1], а также в определенных условиях могут дифференцироваться в клетки хрящевой и костной ткани [2]. И лишь совсем недавно стали появляться данные о том, что клетки стромы костного мозга, по-видимому, являются плюрипотентными и под действием специфических индукторов могут дифференцироваться в нервные клетки [3–5], кардиомиоциты [6] и гепатоциты [7], а возможно, подобно эмбриональным стволовым клеткам, в клетки любых других тканей. Если эти факты будут подтверждены, отпадет необходимость использовать для получения плюрипотентных стволовых клеток человека дорогостоящую и вызывающую этические споры и запреты методику соматического клонирования. Собственный костный мозг больного человека сможет стать источником стволовых клеток, из которых за короткий период культивирования вне организма можно будет получить достаточное количество клеток для репарации ткани любого поврежденного органа.

В данной работе показана возможность дифференцировки клеток стромы костного мозга мыши в клетки-предшественники нервной и печеночной ткани при культивировании в специфических кондиционных средах и при добавлении в среду некоторых индукторов.

Материал и методы исследований. Костный мозг получали из берцовых костей лабораторных мышей путем промывания их раствором Хэнкса (Sigma). Ткань ресуспендировали и дважды отмывали в растворе Хэнкса центрифугированием в течение 5 мин при 16 с^{-1} . Отмытые клетки ресуспендировали в культуральной среде DMEM/F12 (1/1) (Sigma) с 10%-ной фетальной бычьей сывороткой (Sigma)

и рассеивали по 5 млн клеток на культуральный сосуд (25 см^2 , Nunc). Через 24 ч культивирования среду с не прикрепившимися к субстрату клетками костного мозга удаляли, добавляли свежую среду и продолжали культивировать прикрепленные фибробластоподобные клетки еще неделю для получения первичной культуры клеток стромы костного мозга.

Для дифференцировки клеток стромы костного мозга в нейробласты (предшественники нервных клеток) использовали кондиционную среду, полученную путем трехсуточного культивирования первичной культуры эмбриональных фибробластов мыши, выделенных по методу Фрешни [8], а также среду DMEM/F12 (1/1) с 2%-ной фетальной бычьей сывороткой и 20 нг/мл LIF (Leukemia Inhibitory Factor, Sigma, cat.n.L5283) либо 10^{-6} M ретиновой кислоты известными нейроиндукторами, используемыми для нейродифференцировки эмбриональных и нервных стволовых клеток мыши и человека [9, 10].

Для индукции дифференцировки клеток стромы костного мозга в клетки-предшественники гепатоцитов использовали кондиционную среду, полученную после трехсуточного культивирования первичной культуры эмбриональных клеток печени мыши в среде DMEM/F12 (1/1) и 10%-ной фетальной бычьей сыворотки.

Морфологию клеток изучали как в живой культуре, так и после фиксации метанолом и окрашивания специфическими красителями. Фиксацию и окрашивание проводили прямо в культуральном сосуде (25 см^2 , Nunc). Нейробласты окрашивали 0,03%-ным раствором амидо черного 10Б по Альцгеймеру [11] в нашей модификации, а также 1%-ным раствором метилового фиолетового.

Гликоген в клетках-предшественниках гепатоцитов выявляли окрашиванием по Мак-Манусу йодной кислотой и реактивом Шиффа [12].

Клеточные культуры и окрашенные препараты изучали с помощью инвертированного микроскопа «Биолам П2-1» (ЛОМО, Санкт-Петербург) и видеокамеры, соединяющей микроскоп с компьютером.

Результаты и их обсуждение. Фибробластоподобные клетки стромы составляют не более 1 %

всех клеток костного мозга. При культивировании они образуют на субстрате культурального сосуда единичные колонии, клетки которых обладают очень низкой пролиферативной активностью. Поэтому для получения достаточного количества первичной культуры этих клеток рассеивали смесь клеток костного мозга при высокой концентрации — 200–400 тыс кл/см². Через 24 ч культивирования не прикрепившиеся к субстрату и оставшиеся в суспензии клетки удаляли, а оставшиеся прикрепленными культивировали еще неделю до начала обработки индукторами. Клетки стромы в формируемых ими колониях выглядят неоднородно и могут быть условно разделены на два типа: фибробластоподобные, образующие филоподии, клетки с крупными ядрами и 1–2 ядрышками и относительно мелкие клетки веретенообразной формы (рис. 1). Эти наблюдения соответствуют описанным в работе [2].

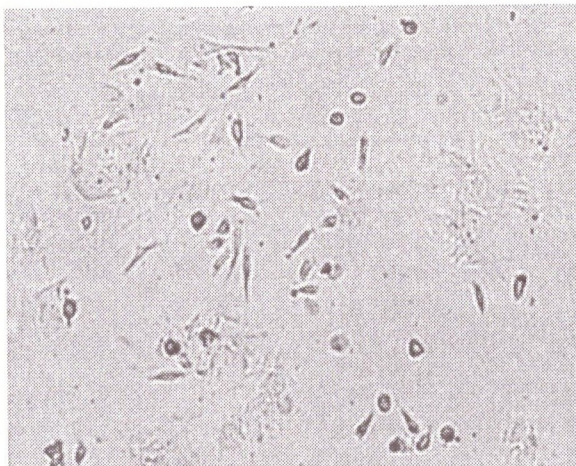


Рис. 1. Первичная культура клеток стромы костного мозга. Мелкие веретенообразные и крупные фибробластоподобные клетки, х 200

При культивировании обоих типов клеток в кондиционной среде, полученной на фидерном слое первичных эмбриональных фибробластов мыши, на 3–4-е сутки в культуре были обнаружены клетки, похожие на нейробласты. На этой стадии они чаще всего имеют веретенообразную форму с одним или

двумя длинными отростками, заканчивающимися филоподиями, реже встречаются пирамидные или звездчатые клетки с короткими дендритами на стадиях их ранней дифференцировки. Дендриты некоторых нейробластов имеют характерные расширения (почки роста) и ветвления в своей дистальной части (рис. 2, а), другие — отчетливые конусы роста с филоподиями (рис. 3, а), с помощью которых происходит рост дендритов. Аналогичные морфологические признаки (почки и конусы роста с филоподиями), характерные для нейробластов, дифференцирующихся в нейроны, подробно описаны в работах по нейрогенезу [13]. Это еще раз подтверждает наше предположение о том, что обнаруженные нами в культуре клетки являются нейробластами.

После культивирования первичной культуры клеток стромы в течение двух недель в сменяемой каждые 3–4 суток кондиционной среде было обнаружено, что часть клеток пролиферирует, сохраняя недифференцированное состояние. Внешне такие клетки похожи на фибробласты и обнаруживаются в культуре наряду с дифференцирующимися нейробластами (рис. 3, б). Большая же часть клеток (около 80 %) находится на разных стадиях дифференцировки в клетки нервной ткани, преимущественно в нейроны. Дендритные отростки этих клеток тесно контактируют между собой, и постепенно клетки образуют на субстрате культурального сосуда участки нервной сети (рис. 2, б), которые имеют вид длинных многоклеточных тяжей.

Дендритные отростки нейробластов становятся значительно длиннее, некоторые из них в 8–10 раз превышают длину тела самого нейрона (рис. 4, а). Постепенно увеличивается доля пирамидных и звездчатых клеток. Дендриты звездчатых клеток становятся разветвленными (рис. 4, б). Отмечается более поздняя дифференцировка пирамидных и звездчатых клеток по сравнению с веретенообразными, что соответствует данным [14] о такой последовательности этапов нейрогенеза в норме у животных.

Таким образом, показано, что в результате индуцированного нейрогенеза *in vitro* из нейробластов дифференцируются все три основных типа нейронов. Предметом дальнейшего исследования может стать детальное изучение роли некоторых известных факторов роста в процессе дифферен-

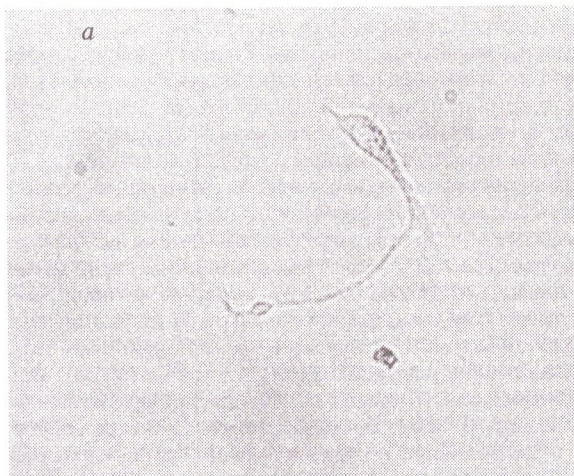


Рис. 2. Разные стадии индуцированной нейродифференцировки клеток стромы костного мозга: а — нейробласт с дистальной почкой роста и ветвлением дендрита, интактный, х 400; б — участок нервной сети, образованный дифференцирующимися нервными клетками в культуре, фиксация метанолом, х 200

цировки нейробластов в разные типы нервных клеток, особенностей формирования дендритных и аксонных связей между ними в культуре и ряд других вопросов нейрогенеза.

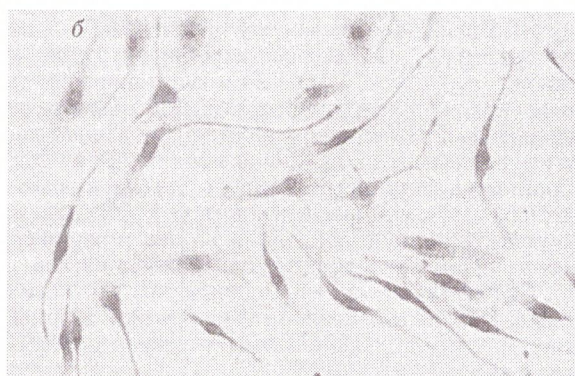
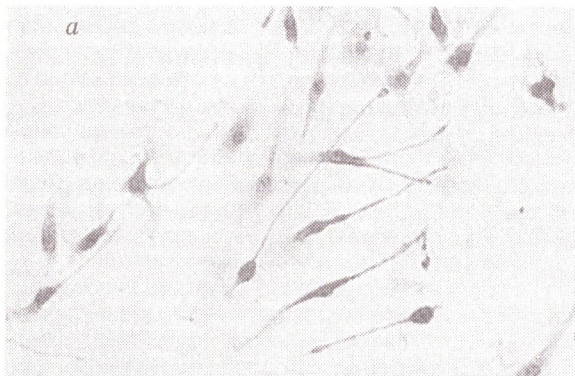


Рис. 3. Дифференцировка нервных клеток в кондиционной среде:

a — развитие веретенообразных нейронов, рост дендритов за счет конусов роста; *б* — пирамидные и веретенообразные нервные клетки на фоне недифференцированных фибробластоподобных клеток стромы. Окраска метиловым фиолетовым, $\times 400$



Рис. 4. Веретенообразный нейробласт с длинным нервным отростком (*a*); звездчатая нервная клетка с ветвящимся дендритом и веретенообразный нейробласт с почкой роста на дендрите (*б*), $\times 400$. Окраска по Альцгеймеру, $\times 400$

Предшественники нервных клеток были обнаружены также при культивировании клеток стромы костного мозга в течение 3–4 суток в среде с 2%-ной фетальной сывороткой и 20 нг/мл LIF. Однако в этом случае стволовые клетки делились очень медленно, дифференцировка нейробластов происходила только в 30 % случаев, и они не образовывали нервные сети, возможно, из-за отсутствия достаточной плотности клеток.

Используя в качестве одного из индукторов дифференцировки нервных клеток ретиноевую кислоту (10^{-6} М, Sigma), давно применяемую для нейродифференцировки эмбриональных стволовых клеток мыши [9], мы получили в культуре 25–30 % нервных клеток. Однако в этом случае, в отличие от упомянутых опытов, среди них преобладали клетки глии: астроциты и олигодендроциты (рис. 5, *a*). Нейроны составляли лишь третью часть от всех нервных клеток, хотя и были представлены всеми тремя типами: веретенообразными, пирамидными и звездчатыми. На 6-е сутки культивирования клеток стромы в среде с ретиноевой кислотой нервные клетки становились более дифференцированными, а у отдельных пирамид были обнаружены аксоны (рис. 5, *б*), обычно и в нормальном нейроонтогенезе появляющиеся позже образования дендритных отростков.

функции во время роста дендритов и аксонов и необходимы для нормального формирования нервной ткани, для репарации поврежденных участков нервной ткани *in vivo* лучше использовать суспензию нейронов, обогащенную клетками глии.

Во второй серии опытов мы попытались индуцировать дифференцировку клеток стромы костного мозга в клетки печени. После трехсуточного культивирования клеток стромы костного мозга в кондиционной среде, полученной на эмбриональных клетках печени мыши, были обнаружены крупные, шарообразной формы клетки, часто двуядерные, с цитоплазматическими включениями разного размера. Эти клетки находились на разных стадиях дифференцировки и различались между собой по размеру, числу ядер и включений в цитоплазме (рис. 6, *a*). Метод окраски йодной кислотой и реактивом Шиффа по Мак-Манусу позволил выявить в большинстве таких клеток гликоген, окрашиваемый в розовый цвет (рис. 6, *б*), что дало основание считать эти клетки предшественниками гепатоцитов. Интересным фактом является то, что в этой культуре не обнаружены клетки, похожие на нейробласты и описанные выше. Следовательно, в кондиционной среде, полученной в результате культивирования эмбриональных клеток печени и используемой в данном опыте, отсутствуют

факторы дифференцировки нервных клеток и, наоборот, присутствуют факторы, индуцирующие дифференцировку клеток стромы костного мозга в клетки-предшественники гепатоцитов. Для более

вых клеток, обладающих способностью дифференцироваться в клетки разных тканей взрослого организма. Для подтверждения возможности использования в клеточной терапии клеток-предшествен-

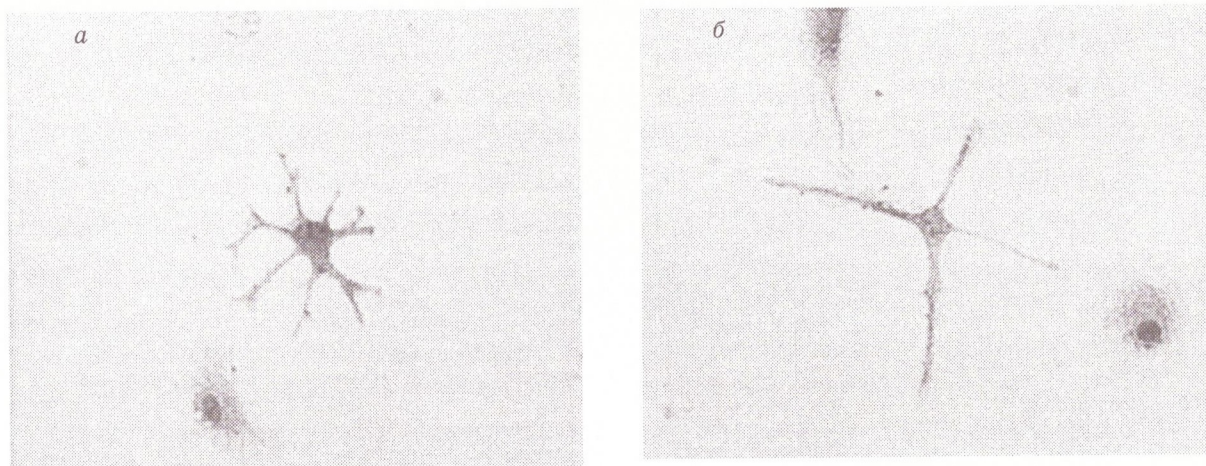


Рис. 5. Клетка глии — астроцит, дифференцирующаяся в среде с ретиноевой кислотой (а), и пирамидный нейрон с тонким аксоном (б). Окраска метиловым фиолетовым, х 400

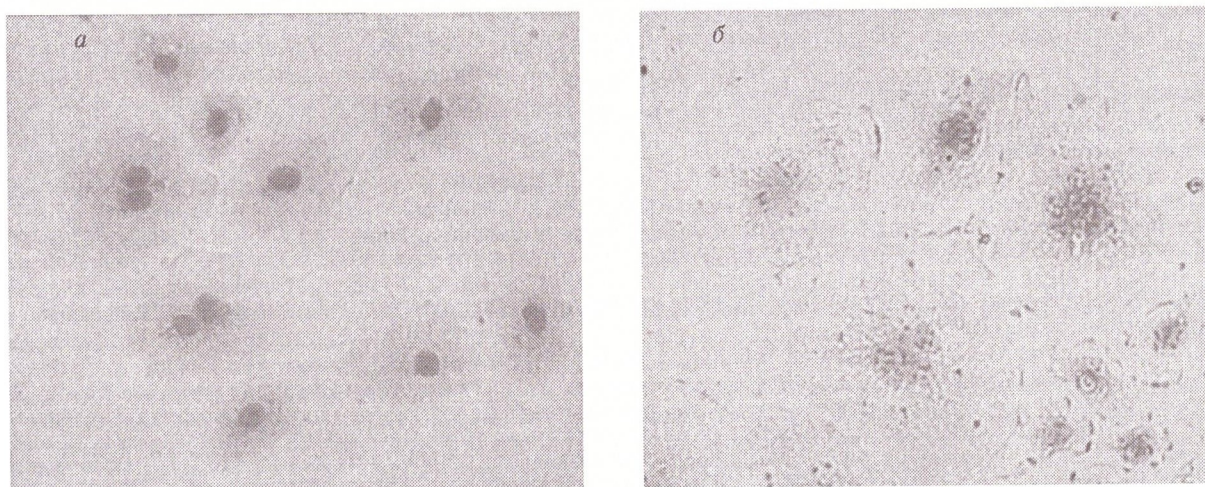


Рис. 6. Одно- и двоядерные клетки-предшественники гепатоцитов на разных стадиях дифференцировки. Окраска метиловым фиолетовым (а); гликоген, окрашенный в лилово-розовый цвет, в клетках-предшественниках гепатоцитов. Окраска по Мак-Манусу (б), х 400

детальной оценки дальнейшей дифференцировки этих клеток необходимо проведение дополнительных опытов.

Таким образом, мы показали, что клетки стромы костного мозга дифференцируются *in vitro* в клетки нервной или печеночной ткани в зависимости от используемых специфических кондиционных сред и индукторов. По-видимому, можно говорить о плюрипотентности клеток стромы костного мозга, учитывая уже имеющиеся в литературе данные. Так, показана дифференцировка клеток стромы костного мозга в кардиомиоциты, клетки хрящевой, костной и нервной ткани [15, 6]. Появляются также данные о том, что среди клеток костного мозга есть популяции стволовых клеток, способных дифференцироваться в гепатоциты [16, 7].

В свете этих данных представленные результаты опытов, полученные на мышах, являются еще одним подтверждением того, что костный мозг может стать источником плюрипотентных стволо-

ников, полученных в культуре из клеток костного мозга, необходимо проведение модельных опытов по трансплантации таких клеток в область поврежденного органа, аналогично тому, как уже была показана возможность репарации мышечной стенки поврежденного миокарда мыши с помощью пересаженных туда клеток костного мозга [6].

Выводы

1. Клетки стромы костного мозга мыши дифференцируются в клетки-предшественники нервных клеток (нейробласты) при культивировании в кондиционной среде, полученной из культуры первичных эмбриональных фибробластов мыши. При дальнейшем культивировании нейробласты дифференцируются преимущественно в нейроны, формирующие нервные сети.

2. LIF (фактор, ингибирующий лейкемию) в дефицитной по сыворотке среде (2 %) индуцирует дифференцировку нейробластов в 30 % случаев.

3. Под действием ретиноевой кислоты 25–30 % клеток стромы костного мозга аналогично эмбриональным стволовым клеткам дифференцируются в разные типы нервных клеток, преимущественно астроциты и олигодендроциты.

4. Клетки-предшественники гепатоцитов дифференцируются при культивировании клеток стро-

мы костного мозга в кондиционной среде, полученной из культуры эмбриональных гепатоцитов мыши.

5. Клетки стромы костного мозга, очевидно, являются плюрипотентными стволовыми клетками, способными в определенных условиях культивирования *in vitro* дифференцироваться в разнообразные клеточные типы организма.

Список литературы

1. Muller-Sieburg C.E., Derugina E. The stromal cells' guide to the stem cell universe. *Stem Cells* 1995; 13, 5: 477–486.
2. Bianco P., Riminucci M., Gronthos S., Gehron Robey P. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology and potential applications. *Stem Cells* 2001; 19, 3: 180–192.
3. Sanchez-Ramos J., Song S., Cardozo-Pelaez F. et al. Adult bone marrow stromal cells differentiate into neural cells *in vitro*. *Experim. Neurology* 2000; 164, 2: 247–256.
4. Prockop D.J., Azizi S.A., Phinney D.G. et al. Potential use of marrow stromal cells as therapeutic vectors for diseases of the central nervous system. *Prog. Brain Research*. 2000; 128: 293–297.
5. Deng W., Obrocka M., Fisher I., Prockop D.J. *In vitro* differentiation of human marrow stromal cells into early progenitors of neural cells by conditions that increase intracellular cyclic AMP. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 282, 1: 148–152.
6. Orlic D., Kajstura J., Chimrnti S. et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410; 6829: 701–705.
7. Vessey C.J., De la Hall P.M. Hepatic stem cells: a review. *Pathology* 2001; 33, 2: 130–141.
8. Freshny R.I. Culture of animal cells. A manual of basic technique. Alan R Liss, Inc. New York 1987. 397 p.
9. Fraichard A., Chassande O., Bilbaut G. et al. *In vitro* differentiation of embryonic stem cells into glial cells and functional neurons. *J. Cell Sci.* 1995; 108, 10: 3181–3188.
10. Pagano S.F., Impagnatiello F., Girelli M. et al. Isolation and characterization of neural stem cells from the adult human olfactory bulb. *Stem Cells* 2000; 18: 295–300.
11. Микроскопическая техника: Руководство; Под ред. Д.С. Саркисова и Ю.Л. Перова. М.: Медицина, 1996. 544 с.
12. Луппа Х. Основы гистохимии. М.: Мир, 1977. 343 с.
13. Будко К.П., Гладкович Н.Г., Максимова Е.В. и др. Нейроонтогенез. М.: Наука, 1985. 270 с.
14. Богословская Л. С., Поляков Г.И. Пути морфологического прогресса нервных центров у высших позвоночных. М.: Наука, 1981. 160 с.
15. Woodbury D., Schwarz E.J., Prockop D.J., Black I.B. Adult rat and human bone marrow stromal cells differentiate into neurons. *J. Neuroscience Research* 2000; 61, 4: 364–370.
16. Petersen B.E., Bowen W.C., Patrene K.D. et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284, 5417: 1168–1170.

ДИФЕРЕНЦІЮВАННЯ *IN VITRO* КЛІТИН СТРОМИ КІСТКОВОГО МОЗКУ МИШІ У КЛІТИНИ-ПОПЕРЕДНИКИ НЕЙРОНІВ І ГЕПАТОЦИТІВ

О.А. Щегельська, Ю.Ю. Мікулінський, В.С. Кульшин, О.А. Омельченко, В.І. Грищенко

За допомогою морфологічного аналізу та гістохімічних реакцій показано диференціювання *in vitro* клітин стромы кісткового мозку миші у клітини-попередники нервових і печінкових клітин при застосуванні для культивування специфічних індукторів і кондиційних середовищ. При тривалому культивуванні нейробласти диференціювались у веретеноподібні, пірамідні та зірчасті нейрони, а також клітини глії: астроцити та олигодендроцити. Розроблені методики дозволяють одержувати від 25 до 80 % нервових клітин поза організмом. Висловлюється припущення про плюрипотентність клітин стромы кісткового мозку та можливість їх застосування в клітинній терапії.

Ключові слова: кістковий мозок, клітини стромы, ствовові клітини, кондиційне середовище, ретиноева кислота, нейробласт, гепатоцити, нейрон, клітини глії, клітинна терапія.

IN VITRO DIFFERENTIATION OF MOUSE BONE MARROW STROMAL CELLS INTO PROGENITOR CELLS OF NEURONS AND HEPATOCYTES

E.A. Shchegelskaya, Yu.E. Mikulinsky, V.E. Kulshin, E.A. Omelchenko, V.I. Grischenko

In vitro differentiation of mouse bone marrow stromal cells cultured with condition media and specific inductors into progenitor cells of neural and liver cells has been shown using morphological and histochemical analyses. After prolonged cultivation neuroblasts differentiated into spindle-like, pyramidal and star-like neurons and into glial cells: astrocytes and oligodendrocytes. The developed techniques allow to obtain 25-80 % neural cells *in vitro*. The suggestion about bone marrow stromal cells pluripotency and their applying in cell therapy are discussed.

Key words: bone marrow, stromal cells, stem cells, condition medium, retinoic acid, neuroblast, hepatocytes, neuron, glial cell, cell therapy.

ПЕРЕКИСНОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЛИПИДОВ И ФУНКЦИОНИРОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТАТИВНЫХ СИСТЕМ В КРОВИ БОЛЬНЫХ ОСТРЫМ И ХРОНИЧЕСКИМ ХОЛЕЦИСТИТОМ

Н.В. Трегубова, А.А. Гуцол

Харьковский национальный университет им. В.Н. Каразина

Исследована система перекисного окисления липидов/антиоксидантной защиты (ПОЛ/АОЗ) в крови у больных хроническим и острым холециститом до и после холецистэктомии. Интенсивность ПОЛ оценивали по содержанию гидроперекиси липидов в плазме крови, состояние АОЗ — по активности глутатионпероксидазы (ГП), глутатионредуктазы эритроцитов и ГП плазмы крови. Полученные данные свидетельствуют о смещении антиоксидантно-прооксидантного равновесия в сторону активации ПОЛ при остром и хроническом воспалительном процессе и подтверждают необходимость применения антиоксидантов в комплексной терапии холецистита.

Ключевые слова: гидроперекись липидов, глутатионпероксидаза, глутатионредуктаза, плазма крови, острый и хронический холецистит.

Важная роль свободнорадикальных процессов и механизмов их регуляции в патогенезе воспалительных заболеваний не вызывает сомнений. В настоящее время имеется значительное число работ, посвященных реакциям перекисного окисления липидов (ПОЛ) и системе антиоксидантной защиты (АОЗ) при ряде воспалительных заболеваний [1, 2] и, в частности, при холецистите [3–5]. Однако в литературе нет единого мнения о роли ПОЛ при поражениях гепатобилиарной системы. Наряду с работами, указывающими на достоверное, коррелирующее со степенью выраженности воспалительного процесса в желчевыводящих путях увеличение содержания липоперекисей в крови и желчи [3–8], есть такие, в которых отрицается диагностическая ценность данного факта [9].

В связи с этим целью настоящей работы было изучение состояния системы ПОЛ/АОЗ в крови у лиц с хронической и острой формами холецистита до и после холецистэктомии.

Материал и методы. Исследовали плазму и эритроциты здоровых доноров (группа контроля, 20 чел.) и больных острой (14 чел.) и хронической (19 чел.) формами холецистита. Измерения проводили при поступлении больных в стационар и через 7–10 дней после лапароскопической холецистэктомии. Кровь брали утром натощак из локтевой вены в гепаринизированные пробирки, центрифугировали, плазму и эритроциты замораживали и хранили в жидком азоте в полиэтиленовых ампулах по 0,5 мл. Для повышения точности измерения проводили одновременно для всех пациентов.

Перед измерением продуктов ПОЛ и активности ферментативной антиоксидантной системы ампулы размораживали на водяной бане при 37 °С. Ранее было показано, что быстрое замораживание-оттаивание существенно не влияет на величину измеряемых параметров [10, 11].

Определение гидроперекисей липидов в плазме крови проводили по методу Asakawa et al. [12]. Спектр поглощения окрашенного продукта записывали на двухлучевом спектрофотометре «Specord UV VIS» и измеряли разность экстинций при 535–520 нм. Содержание гидроперекисей выражали в эквивалентных количествах малонового диальдегида.

Глутатионпероксидазную активность плазмы и эритроцитов определяли спектрофотометрически

при 340 нм в среде, содержащей 50 мМ К,Na-фосфатного буфера, pH 7,4, 1 мМ ЭДТА, 0,15 мМ НАДФН, 1 мМ GSH, 0,6 мМ H₂O₂, 3 мМ NaN₃ и 1,0 ед/мл глутатионредуктазы, как описано в [13]. Активность выражали в нмоль НАДФН/мл плазмы или на 1 мг белка эритроцитов за 1 мин, используя коэффициент молярной экстинкции, равный 6,22x10³ М⁻¹ см⁻¹.

Глутатионредуктазную активность эритроцитов определяли спектрофотометрически при 340 нм в среде, содержащей 50 мМ К-фосфатный буфер, pH 7,4, 1 мМ ЭДТА, 0,16 мМ НАДФН, 1 мМ GSSG, как описано в [10]. Активность выражали в нмоль НАДФН на 1 мг за 1 мин. Коэффициент молярной экстинкции — 6,22x10³ М⁻¹ см⁻¹.

Белок определяли по Лоури с соавт. в модификации Миллера [14]. Полученные результаты обрабатывали статистически, используя t-критерий Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Представленные в таблице данные свидетельствуют, что содержание гидроперекисей липидов (ГПЛ) в плазме крови больных хроническим холециститом до операции было выше, чем в плазме здоровых. После холецистэктомии содержание ГПЛ в плазме крови больных хроническим холециститом незначительно снижается, оставаясь достоверно выше контроля.

У больных с острой формой холецистита наблюдали аналогичные изменения содержания ГПЛ в плазме, при этом уровень ГПЛ у них был значительно выше, чем у больных с хроническим холециститом.

Установлено, что активность основного фермента, утилизирующего ГПЛ плазмы, — селензависимой глутатионпероксидазы (ГП), наоборот, уменьшалась в плазме больных хроническим холециститом до оперативного вмешательства. После холецистэктомии наблюдалось небольшое повышение активности ГП. При остром воспалении желчного пузыря происходило более выраженное снижение ГП-активности в плазме крови по сравнению с хроническим воспалением. После операции у больных с острым холециститом зарегистрировано повышение ГП-активности в плазме.

ГП-активность в эритроцитах крови больных обеих групп до операции была ниже аналогичного

Содержание ГПЛ и изменение ГП и ГР-активности в крови больных острым и хроническим холециститом в до- и послеоперационном периоде (M±σ)

Группа	ГПЛ	ГП		ГР
	нмоль МДА / мл плазмы	нмоль НАДФН / мл плазмы за 1 мин	нмоль НАДФН / 1 мг белка эритроцитов за 1 мин	нмоль НАДФН / 1 мг белка эритроцитов за 1 мин
Контрольная	19,83±3,43	180,6±19,9	30,08±5,84	5,77±0,68
Хронический холецистит				
до операции	27,20±7,49*	132±1,72*	25,88±6,10*	7,32±0,76*
после операции	25,25±6,26*	146,5±33,06*	27,60±5,23*	8,43±0,83*
Острый холецистит				
до операции	35,50±7,15*	117,96±27,13*	23,39±4,33*	7,54±0,92*
после операции	23,37±5,36*	137,96±30,54*	27,29±3,85*	8,45±0,64*

* p<0,05 по сравнению с контролем.

показателя в контроле. А в ответ на оперативное вмешательство ГП-активность увеличилась.

Активность фермента, катализирующего реакцию восстановления глутатиона с участием НАДФН, необходимого для глутатионпероксидазной реакции — глутатионредуктазы (ГР), при обеих формах воспаления и особенно после холецистэктомии в эритроцитах крови увеличивалась практически одинаково.

При обеих клинических формах холецистита в крови больных происходит смещение антиоксидантно-прооксидантного равновесия в сторону последнего. Это нарушение более выражено при острой форме заболевания. Вероятно, такое смещение равновесия можно объяснить дыхательным взрывом при фагоцитозе — главным источником активации ПОЛ в крови при воспалительных процессах. Будучи исключительно защитной реакцией организма в физиологических условиях, реакция нейтрофилов в форме респираторного взрыва способна при очень сильном и продолжительном воспалительном процессе превращаться в патогенный фак-

тор, вызывая гибель окружающих здоровых клеток, гнойное расплавление тканей, подавление антиоксидантных защитных механизмов.

Активация ГР при холецистите, вероятно, также связана с повышением фагоцитарной активности нейтрофилов. Известно, что при фагоцитозе имеет место активация пентозофосфатного шунта и, следовательно, повышение глюкозо-6-фосфатдегидрогеназной активности, фермента, генерирующего восстановительный НАДФ — донор восстановительных эквивалентов для ГП-ГР АО-системы. Повышение же ГР-активности в послеоперационный период, следовательно, можно объяснить как компенсаторный механизм.

Таким образом, можно констатировать, что активация ПОЛ — неотъемлемая составная часть воспалительного процесса, отражающая и характеризующая его остроту и тяжесть. Это позволяет предположить, что включение антиоксидантов в комплексную терапию лечения холецистита позволит существенно ускорить реабилитационный период.

Список литературы

1. Del Maestro R.F. Free radical injury during inflammation. Free Radic. Mol. Biol., Aging and Disease 1984, Oct. 6-8: 87-102.
2. Proctor Peter H., Reynolds Edwards S. Free radical and disease in man. Physiol. Chem. and Phys. and Med. NMR 1984; 16, 3: 175-195.
3. Воведка О.С., Коломієць М.Ю. Патогенетичне обґрунтування протіоксидантної терапії в комплексному лікуванні хронічних холециститів. Врач. дело 1997; 5: 63-66.
4. Сахаутдинов В.Г., Пашаев И.В., Иванченко В.А. Роль перекисного окисления липидов в диагностике острого холецистита, осложненного желчным перитонитом. Клин. хирургия 1981; 9: 55-56.
5. Лобода Д.И., Бобров О.Е., Земскова М.В., Лигоненко А.Н. Перекисное окисление липидов и состояние антиоксидантной системы при остром панкреатите и желчекаменной болезни. Врач. дело 1991; 11: 59-60.
6. Lichtenberg D., Ragimova S., Peled Y., Halpern Z. Phospholipid peroxidation as a factor in gallstone pathogenesis. FEBS Lett 1988; 228, 1: 179-181.
7. Мараховский Ю.Х. Новое в диагностике и лечении болезней органов пищеварения. Душанбе, 1988: 82-85.
8. Окорочков А.И., Федоров Н.Е. Применение достижений фундаментальных наук в клинической гастроэнтерологии. М., 1987: 61-68.
9. Скуя Н.А. Перекиси липидов в дуоденальной желчи при заболеваниях холангио-дуодено-панкреатической зоны. М., 1988. Рук. деп. во ВНИИМИ МЗ СССР, N 15407-88.
10. Никитченко Ю.В. Возрастные изменения и особенности регуляции перекисного окисления липидов биомембран в печени и сердце крыс. Автореф. дис. ...канд. биол. наук. Харьков, 1985. 16 с.
11. Лемешко В.В., Никитченко Ю.В., Ланкин В.З. Ферменты утилизации гидропероксидов и O₂ в миокарде крыс разного возраста. Бюл. эксперим. биол. и мед., 1985; 99, 5: 563-565.
12. Asakawa T., Matsushita S. Coloring condition of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides lipida Lipid 1980; 15, 3: 137-140.
13. Лемешко В.В., Никитченко Ю.В., Свич И.В. и др. Перекисное окисление липидов биомембран и его ферментативная регуляция при старении крыс. Укр. биохим. журн. 1987; 59, 2: 50-57.
14. Miller G.I. Protein determination for large numbers of samples. Anal. Chem. 1959; 31, 5: 964-966.

ПЕРЕКИСНЕ ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ І ФУНКЦІОНУВАННЯ ДЕЯКИХ АНТИОКСИСНИХ ФЕРМЕНТАТИВНИХ СИСТЕМ В КРОВІ ХВОРИХ НА ГОСТРИЙ І ХРОНІЧНИЙ ХОЛЕЦИСТИТ**Н.В. Трегубова, О.А. Гуцол**

Досліджено систему ПОЛ/АОЗ у крові хворих на хронічний і гострий холецистит до і після холецистектомії. Інтенсивність ПОЛ оцінювали за кількістю гідроперекису ліпідів у плазмі крові, стан АОЗ — за активністю глутатіонпероксидази (ГП), глутатіонредуктази еритроцитів і ГП плазми крові. Отримані дані свідчать про зміну антиоксидантно-прооксидантної рівноваги в бік активації ПОЛ під час гострого та хронічного запального процесу і підтверджують необхідність застосування антиоксидантів у комплексній терапії холециститу.

Ключові слова: гідроперекис ліпідів, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза, плазма крові, гострий та хронічний холецистит.

LIPID PEROXIDATION AND FUNCTIONING OF SOME ANTIOXIDANT ENZYME SYSTEMS IN BLOOD OF PATIENTS WITH ACUTE AND CHRONIC CHOLECYSTITIS**N.V. Tregubova, A.A. Gutsol**

It was investigated the LPO / AOD system in the blood of patients chronic and acute cholecystitis before and after cholecystectomy. It was determined the intensity LPO by quantity hydroperoxide of lipids (HPL) in the blood plasma, the state AOD — the glutathione peroxidase activity (GP) and glutathione reductase activity of erythrocytes and GP in the blood plasma. Obtained results testify that removal antioxidant-prooxidant balance in side the activation of the LPO in the time of acute and chronic inflammation process and confirm the necessity to use antioxidants for therapy of cholecystitis.

Key words: lipid hydroperoxide, glutathione peroxidase, glutathione reductase, plasma in blood, human acute and chronic cholecystitis.

КОРЕКЦІЯ ПРОЦЕСІВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСНЕННЯ ЛІПІДІВ ПРИ ХРОНІЧНОМУ ГАСТРОДУОДЕНІТІ ЗА ДОПОМОГОЮ СИСТЕМНОЇ ОЗОНОТЕРАПІЇ**О.С. Усинська****Тернопільська медична академія ім. І.Я. Горбачевського**

Наведено результати застосування озонотерапії при хронічному гастродуоденіті, особливу увагу приділено впливу цього методу на процеси перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту. Показано зменшення інтенсивності ПОЛ та стимуляцію АОС, підвищення рівня ерадикації *Helicobacter pylori* при озонотерапії, що дозволяє рекомендувати застосування системної озонотерапії як компонента терапії хронічних гастродуоденітів.

Ключові слова: хронічний гастродуоденіт, *Helicobacter pylori*, антиоксидантний захист, озонотерапія.

Перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ) у здоровому організмі є важливою стадією синтезу і перетворення багатьох речовин. Регуляція інтенсивності процесів ПОЛ здійснюється за допомогою ферментативних і неферментативних антиоксидантних систем (АОС), які в нормі підтримують її на певному невадливому рівні. Водночас ПОЛ є одним з універсальних механізмів ушкодження клітини, відіграє суттєву роль у патогенезі багатьох захворювань, у тому числі хронічного гастродуоденіту і виразкової хвороби [1].

Із відкриттям ролі *Helicobacter pylori* в патогенезі хронічного активного гастродуоденіту активацію ПОЛ почали пов'язувати перш за все із впливом збудника, оскільки саме ПОЛ лежить в основі цитолітичної дії моноцитів, макрофагів, нейтрофілів [2]. Згодом стало відомо, що і сам мікроорганізм може активувати ПОЛ шляхом пригнічення АОС [3, 4], причому цитопатогенні його штами, наприклад Саg А-позитивні, є значно активнішими в цьому відношенні [5].

Із сказаного стає зрозумілою необхідність нормалізації процесів ПОЛ як важливого фактора успіху терапії захворювань гастродуоденальної зони, профілактики рецидивів виразки чи її утворення при хронічному гастродуоденіті.

Системна озонотерапія є перспективним методом, що має виражену дезінтоксикаційну та імуностимулюючу дію. Крім того, є багато повідомлень

про її антиоксидантну дію, що можна пояснити механізмом зворотного зв'язку — при незначній початковій активації ПОЛ спостерігається подальша, набагато вираженіша стимуляція АОС [6].

Метою нашого дослідження було визначення впливу озонотерапії на процеси ПОЛ і АОС у хворих на хронічний гастродуоденіт і обґрунтування доцільності її використання як компонента патогенетичної терапії при цьому захворюванні.

Матеріал і методи досліджень. Обстежено 50 пацієнтів з хронічним гелікобактерним гастродуоденітом віком від 16 до 67 років. Діагноз хронічного гастродуоденіту встановлювали на підставі клініко-анамнестичних даних, результатів ЕГДС і гістологічного дослідження біоптатів слизової шлунка і дванадцятипалої кишки. Для виявлення *H. pylori* проводили уреазний тест, визначали наявність збудника в мазках-відбитках, зафарбованих за Гімзою, та гістологічних препаратах.

До і після лікування проводили визначення в крові продуктів ПОЛ: малонового діальдегіду (МДА) [7], дієнових кон'югат (ДК) [8] і ферментів АОС: сукцинатоксиддегідрогенази (СОД), каталази, відновленого глутатіону (ВГ) [9]. Отримані дані порівнювали з показниками, отриманими при дослідженні крові 30 донорів.

Залежно від виду терапії пацієнти були розподілені на дві групи по 25 чоловік: 1-ша група отримувала антигелікобактерну терапію за такою схе-

мою: омепразол 0,04 г/добу, амоксицилін 2,0 г/добу і фуразолідон 0,4 г/добу протягом 7 діб; 2-га, крім названої терапії, отримувала внутрішньовенні інфузії озонованого фізіологічного розчину — по 200 мл 1 раз на добу протягом 5 діб.

Отримані результати обробляли методами варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента.

Результати і обговорення. При початковому обстеженні гелікобактерна інфекція була виявлена в усіх пацієнтів, що підтверджувалось позитивними результатами принаймні двох методів. При дослідженні мазків-відбитків переважало обсіювання середнього ступеня (від 20 до 50 мікробних тіл у полі зору) — у 29 хворих (58 %); у 13 хворих (26 %) було виявлено обсіювання слабкого ступеня (до 20 мікробних тіл у полі зору) і у решти — 8 хворих (16 %) — сильного ступеня (більше 50 мікробних тіл у полі зору).

Практично в усіх хворих було виявлено підвищення в крові рівня МДА і ДК. Цікаво зазначити, що рівень цих речовин залежав від тяжкості ураження та рівня гелікобактеріозу і був відповідно вищим в осіб з ерозивними ураженнями гастродуоденальної зони і зі значним обсіюванням слизової оболонки *H. pylori*. Рівень ферментів АОС змінювався по-різному. Практично в усіх хворих спостерігалось зниження рівня СОД, показники інших

Після лікування в 1-й групі ерадикація спостерігалась у 19 хворих (76,0 %), у 2-й групі результат був значно кращим — 88,0 % (22 хворих). У інших хворих виявлялось значне зниження рівня гелікобактеріозу, мікроорганізм після лікування виявлявся лише в тілі шлунка — до 20 мікробних тіл у полі зору.

У 1-й групі рівні продуктів ПОЛ дещо знизились, але не досягли контрольних показників. При визначенні активності АОС спостерігалось незначне підвищення рівня СОД, рівні ж інших ферментів дещо знизились або залишились без змін. При більш детальному вивченні виявилось, що ці зміни були більш суттєвими у тих хворих, у яких вдалося досягти ерадикації.

Зміни рівнів МДА і ДК у 2-й групі були більш істотними і практично не відрізнялись від таких у здорових осіб. Що ж стосується показників активності АОС, то практично в усіх хворих цієї групи вони істотно підвищились, що особливо стосується ЦП і СОД. Ці зміни були практично односпрямованими в усіх пацієнтів і не залежали від успіху чи невдачі ерадикації (таблиця).

Ми вважаємо, що позитивні зміни у хворих 1-ї групи є вторинними і певною мірою відображають ефективність антибактеріальної терапії — зниження ПОЛ зумовлене знищенням причини його інтенсифікації, а саме *H. pylori*, тоді як у 2-й групі вони,

Зміни ПОЛ і АОС у хворих на хронічний гастродуоденіт під впливом різних схем терапії (M±m)

Показник	Контрольна група	До лікування	Після лікування	
			1-ша група	2-га група
МДА, мкмоль/л	2,8±0,095	3,56±0,12*	3,11±0,11* **	2,85±0,08**
ДК, мкмоль/л	16,9±0,06	19,65±0,25*	17,8±0,05* **	17,1±0,12**
ЦП, мг/л	235,51±12,84	336,00±13,24*	300,12±14,37*	378,24±10,54* **
Каталаза, од.	17,48±2,87	25,64±2,05*	24,15±1,59*	28,13±2,03*
Відновлений глутатіон, ммоль/л	60,51±4,13	75,27±4,12*	67,54±3,84	80,24±3,47*
СОД, од/1 мл еритроц.	62,15±2,85	51,21±2,47*	56,34±2,87	67,78±2,14**

* Зміни достовірні порівняно з контролем; ** зміни достовірні порівняно з показниками до лікування.

речовин (каталази, ЦП, ВГ) були підвищеними. У даному випадку зміни залежали від тривалості захворювання та віку хворих — у хворих похилого віку та з тривалим анамнезом рівні антиоксидантних ферментів були підвищеними незначно або навіть, у деяких випадках, зниженими, у молодих же осіб ці показники, за винятком СОД, були значно вищими за норму. Ці особливості можна пояснити компенсаторною активацією АОС при загостренні захворювання, що прямо пропорційна його тяжкості і, отже, рівню підвищення ПОЛ. При тривалому перебігу хвороби, а також у людей старшого віку спостерігається виснаження захисних механізмів, і антиоксидантна система не здатна ефективно і повноцінно реагувати на патологічні зрушення окисних процесів.

Список літератури

1. Sieron A., Kawczyk-Krupka A., Gadowska-Cicha A. The role of free radicals in inflammatory states, ulceration and ulcers of the stomach and duodenum. *Pol Merkuriosz. Lek* 2001; 10(56): 113–116.
2. Juraskova B., Zadak Z., Solichova D., Kohout P., Vavrova J. Monitoring phagocyte activity and free radicals in *Helicobacter pylori* infections. *Vnitr. Lek.* 2000; 46(10): 677–680.
3. Fater A., Talar R., Malecka-Panas E. The role of oxygen radicals in *Helicobacter pylori* infections. *Pol. Arch. Med.* 2000; 103(5–6): 287–294.
4. Beil W., Obst B., Sewing K.F., Wagner S. *Helicobacter pylori* reduces intracellular glutathione in gastric epithelial cells. *Dig. Dis. Sci.* 2000; 45(9): 1769–1773.

найімовірніше, є результатом прямого впливу озону на ПОЛ і АОС.

Висновки

Результати наших досліджень підтверджують антиоксидантний вплив озону при системному застосуванні. Отримані дані свідчать і про підвищення ефективності антигелікобактерної терапії при комбінації її з озонотерапією. Це особливо важливо, враховуючи зростання резистентності *Helicobacter pylori* до багатьох антибіотиків, що зумовлює часту невдачу ерадикації. Отже, озонотерапія є ефективним методом патогенетичного впливу при хронічному гелікобактер-асоційованому гастродуоденіті і може бути рекомендована для застосування не лише при даній патології, а і, можливо, при інших гелікобактер-індукованих захворюваннях.

5. Danese S., Cremonini F., Armuzzi A. et al. Helicobacter pylori Cag A-positive strains affect oxygen free radicals generation by gastric mucosa. Scand. J. Gastroenterol. 2001; 36(3): 247–250.
6. Контрощикова К.Н. Перекисное окисление липидов при коррекции гипоксических нарушений физиологическими факторами: Автореф. дис. ...докт. биол. наук. СПб., 1992. 32 с.
7. Placer L. Lipoperoxidation systeme in biologischen material, MHN Bestimmung der Lipoperoxidation in saugerier organismus. Die Nahrung. 1968; 12, 6: 679–684.
8. Орехович В.Н. Современные методы в биохимии. М.: Медицина, 1977. 391 с.
9. Практикум по биохимии; Под ред. Ю.М. Северина, К.В. Соловьева. М.: Изд-во МГУ, 1989. 509 с.

КОРРЕКЦИЯ ПРОЦЕССОВ ПЕРЕКИСНОГО ОКИСЛЕНИЯ ЛИПИДОВ ПРИ ХРОНИЧЕСКОМ ГАСТРОДУОДЕНИТЕ С ПОМОЩЬЮ СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ

О.С. Усинская

Приведены результаты применения озонотерапии при хроническом гастродуодените, особое внимание уделено влиянию этого метода на процессы перекисного окисления липидов и антиоксидантной защиты. Показано уменьшение интенсивности ПОЛ и стимуляция АОС, повышение уровня эрадикации Helicobacter pylori при озонотерапии, что позволяет рекомендовать применение системной озонотерапии как компонента терапии хронических гастродуоденитов.

Ключевые слова: хронический гастродуоденит, Helicobacter pylori, антиоксидантная защита, озонотерапия.

CORRECTION OF LIPIDS PEROXIDATION IN CHRONIC GASTRODUODENITIS WITH SYSTEMIC OZONOTHERAPY

O.S. Uzynska

The results of application of ozonotherapy in chronic gastroduodenitis are given, the special attention is given to influence of this method on processes of lipid peroxidation and antioxydative protection. The decrease of LP and stimulation of antioxydative systeme, increase of eradication rate of Helicobacter pylori is shown. So ozonotherapy is effective method of treatment of chronic gastroduodenitis.

Key words: chronic gastroduodenitis, Helicobacter pylori, antioxydative protection, ozonotherapy.

ГИСТОСТЕРЕОМЕТРИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ОТДЕЛОВ ПРОВОДЯЩЕЙ СИСТЕМЫ СЕРДЕЦ ПЛОДОВ И НОВОРОЖДЕННЫХ ОТ МАТЕРЕЙ С ГЕСТОЗОМ

Н.В. Гольева

Харьковский государственный медицинский университет

Выделены основные группы изменений проводящей системы сердец плодов и новорожденных при гестозах у матерей. Гипертрофия специфических кардиомиоцитов и их ядер наиболее выражена в синусном узле. Отмечено увеличение стромально-паренхиматозных отношений во всех отделах проводящей системы сердца, особенно выраженное в дистальных. Относительный объем очаговых повреждений кардиомиоцитов низкий, с тенденцией нарастания показателя в дистальных отделах проводящей системы.

Ключевые слова: проводящая система сердца, плод, морфометрия, поздний гестоз.

Осложнения беременности (гестоз, перенашивание и др.) и родов (родовая травма, затянувшиеся роды) приводят к нарушению плацентарного кровообращения, что проявляется острой и хронической гипоксией плода. Морфофункциональное состояние сердец плодов и новорожденных, преимущественно сократительного миокарда, при гипоксии различного генеза изучено довольно хорошо. Показано, что сократительная деятельность миокарда плода резко снижается уже через несколько минут после наступления гипоксии. При этом в миокарде возможно развитие дистрофических изменений и даже очаговых некрозов [1].

При хроническом течении гипоксия может проявляться дистрофическими, некротическими, а также склеротическими изменениями в миокарде новорожденных [2, 3] и приводить, в конечном итоге, к срывам адаптационно-компенсаторных механизмов [4].

Работ, посвященных изучению морфологического состояния проводящей системы сердца (ПСС) плодов и новорожденных при гестозах, нет.

Если клинические параметры и маркеры повреждений ПСС в детской кардиологии разработаны в достаточной степени [5–7], то их морфологические эквиваленты недостаточно изучены и дифференцированы в отношении этиологии, что диктует необходимость изучения ПСС плодов и новорожденных от матерей, беременность которых осложнилась гестозом.

Целью настоящего исследования явилось изучение количественных показателей основных структурных элементов отделов ПСС плодов и новорожденных при беременности, осложненной гестозом.

Материал и методы. Исследовано 25 сердец плодов и новорожденных от матерей с гестозами (опытная группа). Группой сравнения (контрольной) служили 10 сердец плодов и новорожденных (от матерей с нормально протекавшей беременностью), погибших в результате острого нарушения маточно-плацентарного кровообращения (преждевременная отслойка плаценты, обвитие пуповины).

Гистологические препараты окрашивали гематоксилином и эозином, пикрофуксином по Ван-Ги-

зону, НВФР-методом по Lie. Для изучения очаговых повреждений специфических кардиомиоцитов использовали физико-оптические методы (фазово-контрастная и поляризационная микроскопия).

При морфологическом исследовании определяли следующие показатели: диаметр специфических кардиомиоцитов, диаметр их ядер, ядерно-цитоплазматическое отношение; относительный объем кардиомиоцитов; относительный объем капилляров, относительный объем стромальной соединительной ткани; капиллярно-кардиомиоцитарное отношение; стромально-паренхиматозное отношение и относительный объем очаговых повреждений кардиомиоцитов.

Полученные данные статистически обработали с привлечением метода Фишера-Стьюдента.

Результаты и их обсуждение. Изменения структурных элементов в основных отделах ПСС показаны в таблице.

В синусном узле наиболее выраженные изменения были выявлены в кардиомиоцитах. Так, их диаметр в опытной группе был увеличен на 34,9 % по сравнению с этим показателем в контрольной группе (рисунок, а). Диаметр ядер кардиомиоцитов у первых был на 19,7 % больше, чем у вторых. Ядерно-цитоплазматическое отношение при такой непропорциональной гипертрофии диаметра кардиомиоцита и ядра в опытной группе было на 11,5 % меньше, чем в контрольной. Гипертрофия кардиомиоцитов сопровождалась снижением относительного объема кардиомиоцитов на 3 %. Относительный объем капилляров уменьшен незначительно. Относительный объем стромальной соединительной ткани в опытной группе был повышен на 2,3 %. Отношение капилляров к кардиомиоцитам было уменьшено на 2,3 % и незначительно отличалось от такового в контрольной группе. При этом четко выделялось увеличение стромально-паренхиматозного отношения на 11,7 %. Относительный объем очаговых повреждений кардиомиоцитов при гестозах увеличился незначительно — на 1,23 %.

В атриовентрикулярном узле диаметр кардиомиоцитов в опытной группе увеличился на 29,8 % по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе. Диаметр ядер кардиомиоцитов увеличился на 19,3 %. Непропорциональная гипер-

трофия кардиомиоцита и ядра сопровождалась значительным снижением ядерно-цитоплазматического отношения — на 8,1 % в сравнении с таковым показателем в контрольной группе (0,697±0,007). В связи с гипертрофией кардиомиоцитов их относительный объем уменьшился на 3,29 %. Относительный объем капилляров увеличился незначительно.

Отмечено умеренное увеличение относительного объема стромальной соединительной ткани (на 1,85 %); отношение капилляров к кардиомиоцитам увеличилось на 11,3 % по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе (рисунок, б). Указанное изменение в относительном объеме паренхиматозных и стромальных элементов привело к увеличению стромально-паренхиматозного отношения на 23,5 %. Относительный объем очаговых повреждений кардиомиоцитов был на 1,29 % выше, чем в контрольной группе.

Изучение количественных показателей структурных элементов пучка Гиса и его ножек показало, что гипертрофия кардиомиоцитов проявлялась в увеличении их диаметра в опытной группе на 23,3 % по сравнению с контрольной; при этом отмечена наибольшая и в то же время непропорциональная гипертрофия ядер кардиомиоцитов, которая на 30,8 % выше, чем в группе сравнения. Непропорциональность гипертрофий элементов кардиомиоцитов привела к изменениям ядерно-цитоплазматического отношения в сторону его увеличения на 6,2 % по сравнению с контролем. Относительный объем кардиомиоцитов был на 4,14 % меньше. Относительный объем капилляров был повышен незначительно — всего лишь на 0,36 %; относительный объем стромальной соединительной ткани увеличился на 2,76 %; капиллярно-кардиомиоцитарное отношение — на 11,8 % по сравнению с показателями в контрольной группе. Неравномерность изменений в паренхиме и строми проводящей системы этого отдела привела к увеличению стромально-паренхиматозного отношения на 34,3 % (рисунок, в).

Что касается относительного объема очаговых повреждений кардиомиоцитов в этом отделе ПСС, то он был всего лишь на 1,63 % выше, чем в контроле.

Гистостереометрические показатели отделов проводящей системы

Отел и группа	ДКМ, мкм	ДЯ, мкм	ЯЦИ	ООКМ, %
Синусный узел				
сравнения	2,96±0,024	2,149±0,023	0,727±0,004	74,08±0,189
с гестозом	3,992±0,015	2,57±0,015	0,643±0,003	71,08±0,234
Атриовентрикулярн. узел				
сравнения	4,31±0,022	3,00±0,024	0,697±0,007	86,4±0,330
с гестозом	5,594±0,007	3,577±0,006	0,641±0,001	83,11±0,192
Пучок Гиса и его ножки				
сравнения	4,94±0,033	3,06±0,044	0,619±0,006	87,4±0,200
с гестозом	6,089±0,018	4,003±0,016	0,657±0,001	83,26±0,102
Волокна Пуркиные				
сравнения	4,46±0,140	3,04±0,060	0,681±0,011	—
с гестозом	5,881±0,022	3,842±0,017	0,653±0,001	—

Примечания: 1. Условные обозначения: ДКМ — диаметр кардиомиоцитов; ДЯ — диаметр ядра; ЯЦИ — ядерно-цитоплазматическое отношение; ООКМ — относительный объем соединительной ткани; ККО — отношение капилляров к кардиомиоцитам, СПО —

2. $p < 0,05$, достоверность в сравнении с контролем.

ждалась плазматичної с такою (0,697±0,029) відсотків їх 29%. Отримано незначительного

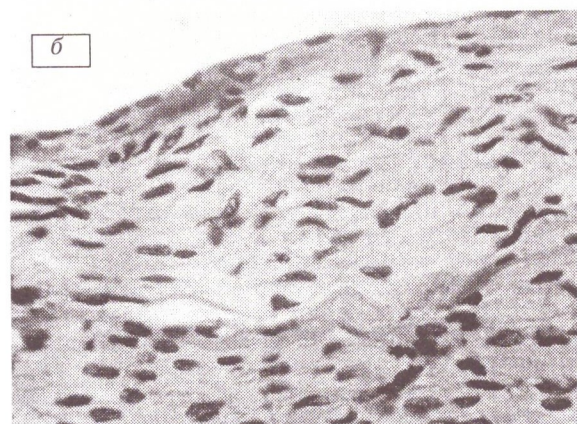
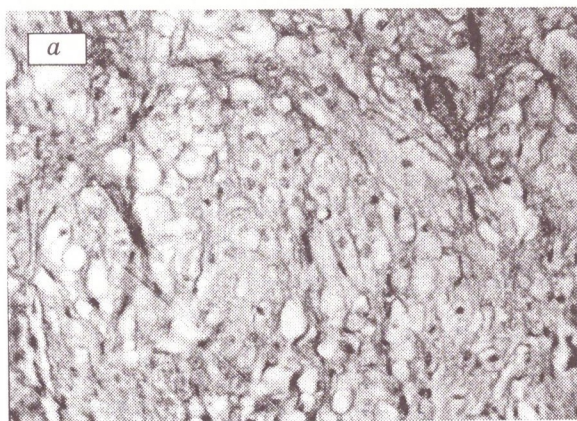
носительной тканью кардиомиоцитів з аналітичною групою носительных элементов плацентарного миоцитів групи. При структурі показувалась рупе на цьому отпорціоні, котенія. Нентов карно-цитого увелич. Отнона 4,14% ров был а 0,36%; цинительарно-карпо сравнуппе. Неи строме ла к увеотноше

очаговых еле ПСС, м в конт

системы

%
1,189
1,234
1,330
1,192
1,200
1,102

цитоплазматическое СПО —



Структура ПСС плода при беременности, осложненной гестозом:

a — гипертрофия специфических кардиомиоцитов синусового узла и их ядер в сочетании с дистрофическими изменениями. Реакция Маллори, x 240; *б* — увеличение ООК с одновременным ростом ККМО. Окраска по Lie, x 190; *в* — увеличение СПО в результате количественного нарастания стромального комплекса. Реакция Фельгена-Росенбека, x 240

Изучение структурных изменений в таком дистальном отделе ПСС, как волокна Пуркинье, показало выраженную гипертрофию кардиомиоцитов, их диаметр в опытной группе был на 31,9% выше, чем в контрольной. Диаметр ядер кардиомиоцитов увеличен на 26,4%. Такая относительно равномерная гипертрофия кардиомиоцитов и ядер привела к умеренному уменьшению ядерно-цитоплазматического отношения на 4,1% по сравнению с контролем. Относительный объем кардиомиоцитов в этом отделе ПСС достаточно высокий, лишь на 3,96% ниже, чем в группе сравнения, а относительный объем капилляров на 11,4% выше. Относи-

тельный объем стромальной соединительной ткани высокий — на 36,3% выше, чем в группе сравнения. Такие изменения в относительных объемах паренхиматозных элементов и стромы привели к значительному увеличению стромально-паренхиматозного отношения, оно на 31,9% выше, чем в контрольной группе. Наряду с этим отмечается достаточно высокое изменение капиллярно-миоцитарного отношения, оно на 20,7% выше, чем в контроле.

Таким образом, анализ полученных количественных данных, характеризующих структурные элементы проводящей системы сердец плодов и новорожденных при гестозах у матерей позволяет выделить основные группы изменений.

Наиболее выражены признаки гипертрофии специфических кардиомиоцитов и их ядер. Причем наибольшая гипертрофия кардиомиоцитов отмечена в синусном узле, меньше всего кардиомиоци-

сердца плодов и новорожденных, рожденных от матерей с гестозом

	ООК, %	ООСТ, %	ККМО	СПО	ООПКМ, %
	7,36±0,063	18,08±0,062	0,099±0,001	0,343±0,001	0,895±0,014
	6,89±0,108	20,38±0,118	0,097±0,001	0,384±0,001	2,12±0,017
	5,68±0,130	6,27±0,15	0,067±0,001	0,1407±0,002	0,94±0,023
	6,21±0,090	8,12±0,215	0,075±0,001	0,173±0,003	2,23±0,022
	5,0±0,320	5,89±0,230	0,058±0,004	0,125±0,005	1,12±0,033
	5,36±0,090	8,65±0,059	0,064±0,011	0,168±0,001	2,75±0,036
	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—

матическое отношение; ООКМ — относительный объем кардиомиоцитов; ООК — относительный объем капилляров; стромально-паренхиматозное отношение; ООПКМ — относительный объем очаговых повреждений кардиомиоцитов.

ты гипертрофированы в пучке Гиса и его ножках. Что касается гипертрофии ядер кардиомиоцитов, то она непропорциональна гипертрофии самих кардиомиоцитов. Так, если в синусном и атриовентрикулярных узлах гипертрофия достигает 19–20 %, то в дистальных отделах проводящей системы (пучок Гиса и волокна Пуркинье) 26–31 %. В связи с этим при умеренной гипертрофии ядер ядерно-цитоплазматическое отношение уменьшается, а при выраженной гипертрофии ядер кардиомиоцитов отмечается даже увеличение этого показателя. Что

касается стромально-паренхиматозных отношений, то во всех отделах ПСС отмечено увеличение этого показателя, в наибольшей степени в дистальных отделах ПСС (пучок Гиса и волокна Пуркинье), что связано с заметным увеличением стромального компонента в системе.

Характеризуя относительный объем очаговых повреждений кардиомиоцитов следует отметить, что этот показатель низкий, нарастает в дистальных отделах ПСС и колеблется в пределах 2,12–2,75 %.

Список литературы

1. Валькович Э.И., Давыдова М.К. Морфологические изменения миокарда плодов и новорожденных в условиях острой гипоксии. Морфологические основы иммунопатологических процессов. М.: Медицина, 1983: 50–52.
2. Валькович Э.И., Молчанова В.В. Морфологические изменения коронарных сосудов сердца плодов и новорожденных в условиях гипоксии. Тез. докл. 3-й Всесоюз. науч. конф. дет. пат. Харьков, 1985: 59–60.
3. Шахламов В.А., Сороковой В.И. Реакция клеток на гипоксию. Архив анат. 1983; 85; 7: 12–25.
4. Саркисов Д.С. Структурные основы адаптации и компенсации нарушенных функций. М.: Медицина, 1987: 448.
5. Бандик В.Ф. Кардиотокография плодов у беременных с высоким перинатальным риском. Пед., акуш. и гинекол. 1991; 5: 55.
6. Грищенко В.И., Щербина Н.А., Нерадовская О.В. Применение математического анализа сердечного ритма в оценке адаптационно-компенсаторных возможностей крупного плода. Акуш. и гинекол. 1990; 1: 63–65.
7. Приходько В.С. Витоки патології серця у дітей і її клінічні варіанти: Тез. IV конгр. СФУЛТ. Харків, 1992 р., 9–14 серп. Харків, 1992: 226.

ГІСТОСТЕРЕОМЕТРИЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА ВІДДІЛІВ ПРОВІДНОЇ СИСТЕМИ СЕРЦЯ ПЛОДІВ І НОВО-НАРОДЖЕНИХ ВІД МАТЕРІВ З ГЕСТОЗОМ

Н.В. Гольєва

Виділено основні групи змін провідної системи сердець плодів і новонароджених при гестозах у матерів. Гіпертрофія специфічних кардіоміоцитів та їх ядер найбільш виражена у синусному вузлі. Відмічено збільшення стромально-паренхіматозних відношень у всіх відділах провідної системи серця, що особливо виявляється в її дистальних відділах. Відносний об'єм осередкових ушкоджень кардіоміоцитів низький з тенденцією до наростання цього показника в дистальних відділах провідної системи.

Ключові слова: провідна система серця, плід, морфометрія, пізній гестоз.

HISTOSTEREOMETRICAL INDICES IN PARTS OF CONDUCTING SYSTEM OF HEART IN FOETUSES AND NEWBORNS WHOSE MOTHERS ARE ILL WITH GESTOSIS

N.V. Golieva

The main groups of changes in the conducting system of the hearts of foetuses and newborns in cases of gestosis in their mothers were revealed. Hypertrophy of the specific cardiomyocytes and their nuclei had its most vivid expression in the sinoatrial node. An increase of the stroma-parenchyma relations was found in all parts of the conducting system of the heart, but it was mostly pronounced in the distal portions of the above system. The relative volume of focal damages in the cardiomyocytes was low and had a tendency to an increase of its index in the distal portions of the conducting system.

Key words: conducting system of heart, foetus, morphometry, late gestosis.

ВЛИЯНИЕ АЛЛОТРАНСПЛАНТАЦИИ ГОЛУБОВАТОГО ПЯТНА ЭМБРИОНАЛЬНОГО МОЗГА НА ПАМЯТЬ И СОДЕРЖАНИЕ КАТЕХОЛАМИНОВ У КРЫС С РАЗРУШЕНИЕМ ЛОБНО-ВИСОЧНОГО НЕОКОРТЕКСА

Т.М. Воробьева, Д.А. Бевзюк, Т.П. Бойко

Институт неврологии и психиатрии АМН Украины, г. Харьков

Изучали механизм влияния внутримозговой и дистантной аллонейротрансплантации на условно-рефлекторный стереотип поведения, функциональную активность катехоламинергической системы мозга у крыс с повреждением лобно-височных отделов мозга. Показано положительное влияние внутримозговой и дистантной трансплантации ткани эмбрионального голубоватого пятна на память и функциональную активность катехоламинергической системы у данных крыс. Сделан вывод о том, что трансплантированная ткань эмбрионального голубоватого пятна секреторирует норадреналин дискретно.

Ключевые слова: внутримозговая и дистантная трансплантация, эмбриональное голубоватое пятно, память, катехоламинергическая система.

Опираясь на результаты исследований механизмов действия сверхмалых доз химических соединений направленного влияния на ЦНС [1], мы высказали суждение о том, что при приживлении трансплантата эмбриональных нейроспецифических тканей, продуцирующих эндогенные биологические регуляторы, имеет место феномен их дискретного выделения (квантирования). То есть по сути происходит пролонгированное во времени выделение трансмисмиттеров в сверхмалых дозах, близких к потенцированным. В развитие этих представлений были осуществлены настоящие эксперименты.

Материал и методы. Исследования проведены на 40 нелинейных крысах-самцах весом от 230 до 280 г. Из них 20 крыс составили три опытные группы: 1-я группа — крысы с разрушением лобно-височной коры головного мозга; 2-я группа — крысы с разрушением лобно-височной коры головного мозга и одновременной внутримозговой трансплантацией ткани эмбрионального голубоватого пятна (ЭГП); 3-я группа — крысы с разрушением лобно-височной коры головного мозга и одновременной дистантной трансплантацией ткани ЭГП.

Остальные 20 крыс составили две биохимические контрольные группы. Формирование стереотипа условно-рефлекторных эмоциональных реакций изучали с применением стандартной методики [2]. Внутримозговую трансплантацию осуществляли путем аппликации ткани ЭГП крысы 17–19-дневного периода гестации, а дистантную — через кожный разрез между 2–3-м шейными позвонками. Содержание катехоламинов в структурах мозга, периферических тканях и их экскрецию с мочой определяли флуориметрическим методом [3]. Результаты обрабатывали с использованием непараметрического критерия U Вилкоксона–Манна–Уитни.

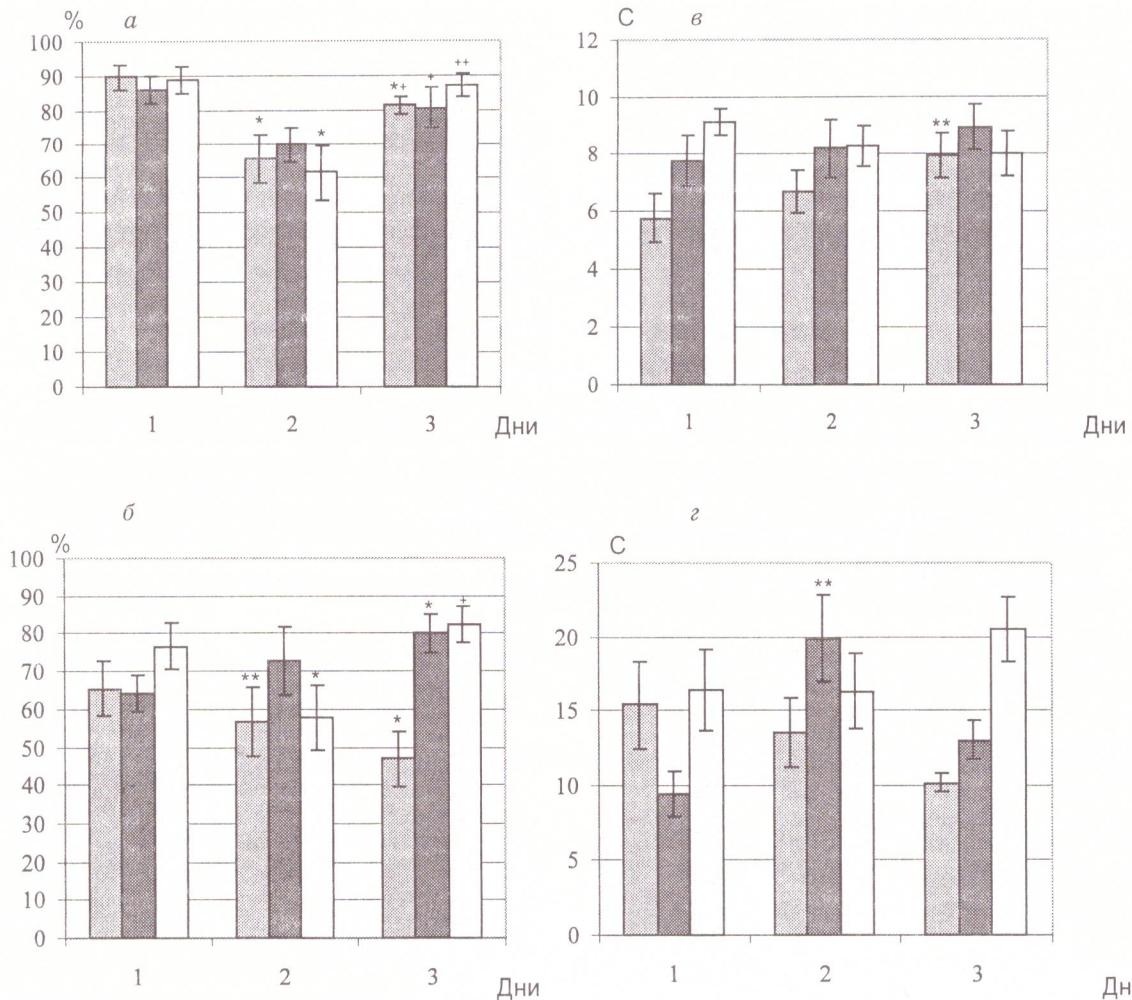
Результаты и их обсуждение. Формирование стереотипа условно-рефлекторной эмоциональной реакции избегания (УРЭРИ) у крыс 1-й группы характеризовалось постепенным увеличением количества условно-рефлекторных ответов, укорочением их латентных периодов, а также увеличением

числа правильных дифференцировок и удлинением латентных периодов «ошибочных» условно-рефлекторных ответов.

Затем крысам данной группы электролитически повреждали лобно-височные отделы коры головного мозга, что приводило к значительным изменениям в показателях условно-рефлекторного стереотипа. Так, уже на 13–15-й день наблюдалось снижение уровня правильных дифференцировок и резкое его падение к 25–27-му дню (рисунок).

Снижение латентного периода на «ошибочный» условный сигнал к 13–15-му дню свидетельствовало об ослаблении процессов внутреннего торможения. Количество условно-рефлекторных ответов снижалось к 13–15-му дню с одновременным повышением их латентных периодов. Однако следует отметить, что к 25–27-му дню количество условно-рефлекторных ответов у крыс 1-й группы немного повышалось, но не достигало фонового уровня. В структурах мозга выявлено снижение содержания адреналина в зоне коагулированной коры и гипоталамусе с достоверным увеличением данного показателя в крови и надпочечниках, что объясняется эффектом ауторегуляции центральной и периферических звеньев симпатoadrenalной системы. Некоторое увеличение содержания адреналина в гиппокампе могло активировать гиппокампальные механизмы памяти. В крови наблюдалось снижение, а в надпочечниках увеличение уровня норадреналина (таблица).

Формирование стереотипа условных рефлексов у крыс 2-й группы происходило так же, как у крыс 1-й группы. В этой серии эксперимента условно-рефлекторный стереотип поведения нарушали путем электрокоагуляции лобно-височных отделов коры головного мозга и одновременно с этим проводили внутримозговую трансплантацию ткани ЭГП. Через 12 дней у крыс было обнаружено существенное повышение числа правильных дифференцировок. Через 13–15 дней после операции и на 25–27-й день этот показатель в данной группе превышал таковой в 1-й группе почти в 1,8 раз (рисунок). Характерным также было увеличение латентных периодов «ошибочных» условно-рефлек-



Динамика изменений поведенческих и временных показателей стереотипа УРЭРИ у крыс с разрушением лобно-височных отделов коры головного мозга (1-я группа), с разрушением лобно-височных отделов коры головного мозга и внутримозговой трансплантацией ткани ЭГП (2-я группа) и с разрушением лобно-височных отделов коры головного мозга и дистантной трансплантацией ткани ЭГП (3-я группа):

а — количество условно-рефлекторных ответов; *б* — количество полных дифференцировок; *в* — латентный период условно-рефлекторных ответов; *г* — латентный период «ошибочных» условно-рефлекторных ответов; 1 — за три дня до операционного вмешательства (фон), 2 — на 13–15-й и 3 — на 25–27-й день после операционного вмешательства; * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$ в сравнении с фоном; * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ в сравнении с 13–15-м днями

Влияние внутримозговой и дистантной трансплантации ткани ЭГП на содержание норадреналина и сердце (нмоль/г)

Группа	Структуры мозга			
	Rfm	Hip	Hpt	Cort 1
<i>Адреналин</i>				
Контроль 1 (n=10)	0,27±0,15	0,07±0,002	0,53±0,07	0,16±0,05
1-я (n=6)	0,12±0,02	0,104±0,005 ³⁾	0,27±0,06 ²⁾	0,12±0,02
2-я (n=7)	0,10±0,03	0,09±0,01 ³⁾	0,62±0,11	0,13±0,002
Контроль 2 (n=10)	0,16±0,03	0,08±0,01	0,59±0,07	0,12±0,04
3-я (n=7)	0,16±0,02	0,08±0,01	0,67±0,02	0,16±0,01
<i>Норадреналин</i>				
Контроль 1 (n=10)	2,07±0,04	1,24±0,04	4,63±0,12	1,30±0,05
1-я (n=6)	1,81±0,12 ²⁾	1,322±0,051	8,44±0,56 ²⁾	1,35±0,05
2-я (n=7)	1,83±0,04 ³⁾	1,38±0,08	5,41±0,43	1,35±0,41
Контроль 2 (n=10)	2,15±0,07	1,32±0,06	5,68±0,4	1,25±0,01
3-я (n=7)	1,54±0,1	1,22±0,06	7,45±0,38 ³⁾	1,23±0,14

Примечания: 1. Rfm — ретикулярная формация среднего мозга; Hip — гиппокамп; Hpt — гипоталамус; Cort 1 — кора сердца. 2. Достоверность в сравнении с контролем: ¹⁾ $p < 0,1$; ²⁾ $p < 0,05$; ³⁾ $p < 0,01$.

торных ответов к 13–15-му дню в сравнении с фоном и со значениями, которые наблюдались в 1-й группе. Наблюдалось снижение содержания адреналина, а в гипоталамусе — тенденция к его увеличению. Содержание норадреналина в новой коре значительно (более чем в 7 раз) увеличивалось в сравнении с контролем и почти в 9 раз — в сравнении с наблюдаемым в 1-й группе. То есть трансплантат интенсивно функционировал, синтезируя норадреналин и депонируя его в коре больших полушарий. В гипоталамусе концентрация данного амина была увеличена, а в крови снижена, что еще раз подтверждает базовые регуляторные функции гипоталамуса в вегетативной нервной системе. В надпочечниках и сердце возрастала концентрация норадреналина, что свидетельствовало об активации механизмов его синтеза и обратного захвата по трем типам — uptake 1, 2, 3.

В 3-ю группу вошли крысы также с быстрым формированием УРЭРИ. После стабилизации условно-рефлекторного стереотипа животным данной группы осуществляли электролитическое разрушение лобно-височной коры головного мозга с одновременной дистантной трансплантацией ткани ЭГП и через 12 дней после повреждения неокортекса проверяли сохранность условно-рефлекторного стереотипа. Из рисунка видно, что уменьшение числа условно-рефлекторных ответов на 13–15-й день сопровождалось незначительным снижением их латентных периодов и снижением процента полных дифференцировок. Число «ошибочных» условно-рефлекторных ответов совпадало с фоновыми значениями. К 25–27-му дню число условно-рефлекторных ответов достигало фоновых значений и их латентный период был несколько сниженным относительно фона. Дифференцировки были не только достоверно выше относительно 13–15-го дней, но и на 10 % больше исходных значений, а латентный период «ошибочного» условного рефлекса значительно возрастал. Эти изменения поведенческих и временных показателей УРЭРИ свидетельствовали о повышении тонуса коры больших полушарий мозга.

Уровень адреналина в структурах мозга у крыс 3-й группы отвечал фоновым значениям, за исклю-

чением коагулированных областей коры головного мозга. В гипоталамусе сохранялась тенденция к увеличению содержания норадреналина и адреналина. Отмечалась тенденция к увеличению содержания норадреналина в сердце и надпочечниках (таблица).

Выводы

Электролитическое повреждение лобно-височной коры головного мозга нарушает стереотип условно-рефлекторной эмоциональной реакции избегания (память), ослабляет общую физиологическую активность, снижает содержание норадреналина в зоне коагулированного неокортекса с его повышением в гипоталамусе, снижает содержание адреналина в гипоталамусе с одновременным повышением его в крови, надпочечниках.

Внутриголовная трансплантация ткани ЭГП восстанавливает в 81,4 % стереотип условно-рефлекторной эмоциональной реакции избегания, нарушенный электролитическим повреждением лобно-височных отделов коры головного мозга, нормализует содержание адреналина в ретикулярной формации среднего мозга, гипоталамусе, неокортексе, а в гиппокампе даже увеличивает наряду со снижением его в крови.

Дистантная трансплантация ткани ЭГП не только восстанавливает нарушенный стереотип условно-рефлекторной эмоциональной реакции избегания у крыс с аналогичным крысам первых двух групп повреждением, но и повышает содержание норадреналина и адреналина, преимущественно в гипоталамусе, крови, надпочечниках и сердце, что связано с васкуляризацией трансплантата, проникновением амина в кровяное русло и, вероятно, прохождением через гематоэнцефалический барьер, а также активацией механизмов обратного захвата аминов по типам — uptake 1, 2, 3.

Поддержание уровня содержания норадреналина в течение длительного времени в условиях приживания и функционирования трансплантата можно рассматривать как феномен поступательного его высвобождения в минимальных дозах нейронами голубоватого пятна.

и адреналина в структурах мозга (нмоль/г), в крови (нмоль/л), тканях надпочечников (мкмоль/г) крыс (M±m)

		BI	GSR	Cor
Cort 2	Cort 3			
—	—	33,76±3,06	3,00±0,25	0,38±0,02
0,07±0,01 ³⁾	—	50,59±3,33 ³⁾	4,61±0,41 ²⁾	0,27±0,03
0,010±0,004	0,12±0,02	29,6±4,41	3,61±0,26	0,38±0,06
—	—	36,07±2,69	3,6±0,49	0,37±0,01
0,08±0,01	—	34,08±3,65	4,54±0,52 ²⁾	0,54±0,05 ¹⁾
—	—	29,8±3,13	0,11±0,03	4,32±0,14
0,91±0,06	—	13,82±3,16 ³⁾	1,23±0,66 ²⁾	4,16±0,09
0,911±0,060	9,84±2,48	19,36±2,5 ²⁾	0,24±0,09	4,53±0,91
—	—	38,83±4,44	0,12±0,02	4,32±0,02
0,643±0,041	—	46,36±0,25 ¹⁾	0,62±0,05 ³⁾	6,51±0,33 ³⁾

остаточная; Cort 2 — кора коагулированная; Cort 3 — кора трансплантированная, BI — кровь, GSR — надпочечники, Cor —

Список літератури

1. Эпштейн О.И., Воробьева Т.М., Берченко О.Г., Гарбузова С.Н., Гейко В.В., Гармаш Т.И., Туткова А.М. Информационно-онтологические модели адаптации. М.: ИМПЭ, 1997. 165 с.
2. Воробьева Т.М. О состоянии эмоционального напряжения в условиях переделки условно-рефлекторного стереотипа и безусловного подкрепления: Тез. докл. 33 совещания по проблемам ВНД. Горький, 1972: 62–63.
3. Бару А.М., Бойко Т.П. Методика исследования катехоламинов с повышением специфичности триоксинидоловой процедуры. Актуальные проблемы экспериментальной и клинической эндокринологии. Харьков, 1979: 126–127.
4. Well-Malherbe H. The passage of catecholamines through the blood brain barriers: Ciba Found Symposium jointly with Committee for Symposia on drug action on Adrenergic Mechanism. Ed. Voul. London, 1960; 48: 423.

ВПЛИВ АЛОТРАНСПЛАНТАЦІЇ БЛАКИТНУВАТОЇ ПЛЯМИ ЕМБРІОНАЛЬНОГО МОЗКУ НА ПАМ'ЯТЬ І ВМІСТ КАТЕХОЛАМІНІВ У ЩУРІВ З УШКОДЖЕННЯМ ЛОБНО-СКРОНЕВОГО НЕОКОРТЕКСУ

Т.М. Воробійова, Д.О. Бевзюк, Т.П. Бойко

Вивчали механізм впливу внутрішньомозкової та дистантної трансплантації тканини ембріональної блакитнуватої плями на умовно-рефлекторну діяльність (пам'ять) і функціональну активність катехоламінергічної системи мозку у щурів з ушкодженням лобно-скроневої кори головного мозку. Показано, що внутрішньомозкова та дистантна трансплантація тканини ембріональної блакитнуватої плями позитивно впливає на умовно-рефлекторну поведінку (пам'ять) і функціональну активність катехоламінергічної системи таких щурів. Зроблено висновок, що трансплантована тканина ембріональної блакитнуватої плями мозку секретує норадреналін дискретно.

Ключові слова: внутрішньомозкова та дистантна трансплантація, пам'ять, ембріональна блакитнувато-пляма, катехоламінергічна система.

INFLUENCE ALLONEUROTRANSPLANTATION OF EMBRYONIC LOCUS COERULEUS OF BRAIN ON MEMORY AND CONTENT IN THE RATS WITH THE DAMAGED FRONTAL-TEMPORAL NEOCORTEX

T.M. Vorobiova, D.A. Bevzjuk, T.P. Boyko

We investigated mechanisms of influence of inter-brain and distant alloneurotransplantation of embryonic locus coeruleus on the conditional reaction stereotype of behaviour, functional activity of catecholaminergic of brain system in the rats with the damaged frontal-temporal part of brain. It was obtained tells about positive influence of inter-brain and distant transplantation of embryonic locus coeruleus tissue on memory and functional activity of catecholaminergic system in these rats. A conclusion was made that grafting tissue of embryonic locus coeruleus secretes noradrenalin discretely.

Key words: inter-brain and distant alloneurotransplantation, memory, embryonic locus coeruleus, catecholaminergic system.

ПАТОМОРФОЛОГІЯ ТОКСИЧНОГО УРАЖЕННЯ АФЕРЕНТНИХ НЕЙРОНІВ СПИННОМОЗКОВИХ ВУЗЛІВ, ВИКЛИКАНОГО ЕТОПОЗИДОМ

С.Б. Герашенко

Івано-Франківська державна медична академія

У білих щурів, яким одноразово внутрішньовенно вводили етопозид у дозі 22 мг/кг маси тіла, виникає пошкодження аферентних нейронів спинномозкових гангліїв, що проявляється змінами у структурі ядра і ядерця та декомпозицією органел, які забезпечують енергетичні та білоксинтезуючі функції клітини. За допомогою морфометричних методів виявлено прогресуюче зменшення на 3–15-ту добу розмірів ядер і перикаріонів і різноспрямований характер зміни площі ядерця.

Ключові слова: спинномозкові ганглії, етопозид, нейротоксичність.

Напівсинтетичне похідне подофілотоксину (екстракту з рослини *Podophyllum peltatum*) — етопозид (Е.) використовується в хіміотерапії дрібноклітинного раку легень, неходжкінських лімфом, гострого мієлолейкозу та ін. Нейротоксичність є одним із побічних ефектів цього препарату і зустрічається в 5–10 % пацієнтів [1]. Е. часто використовується в комбінації з іншими хіміопрепаратами, які викликають ураження нервової системи, — комплексними сполуками платини та вінка-алкалоїдами. Численні клінічні дослідження засвідчують виникнення периферійних нейропатій при комплексному використанні вказаних середників [2–6]. При цьому механізми нейротоксичності Е. порівняно з іншими препаратами залишаються найменш вивченими. Нечисленні експериментальні дослідження [7] не дають цілісної уяви про пато- і морфо-

генез Е.-індукованих уражень периферійної нервової системи.

Дана робота присвячена вивченню токсичного впливу Е. на перикаріони чутливих нейронів, які формують аферентний компонент периферійних нервів.

Матеріал і методи. Досліджували спинномозкові ганглії (СМГ) L₂–L₅ 15 білих рандомбредних щурів масою 200–220 г, яким одноразово внутрішньовенно вводили Е. (Ebewe, Австрія) в дозі 22 мг/кг маси тіла. В якості контролю служили 9 тварин, яким вводили внутрішньовенно ізотонічний розчин NaCl еквівалентного об'єму. Забір матеріалу дослідних і контрольних тварин проводили на 3-тій, 7-му та 15-ту добу експерименту. Утримання та маніпуляції з тваринами проводили у відповідності до положень «Загальних етичних принципів експе-



риментів на тваринах», ухвалених Першим Національним конгресом з біоетики (Київ, 2001). Використовували методи світлооптичного морфометричного дослідження препаратів СМГ, забарвлених за Нісслем. Визначення метричних параметрів нейронів, у яких візуалізувалось ядрце, здійснювали в інтерактивному режимі шляхом сканування зображень серійних зрізів. Вимірювали площу S перикаріонів, ядер, ядерця та їх периметри P . Обчислювали похідні величини — коефіцієнти форми перикаріону, ядра та ядерця ($C=4\pi S/P^2$), співвідношення площ ядра і клітини, ядерця і ядра. Матеріал для електронно-мікроскопічного дослідження фіксували у 1%-вому розчині OsO_4 на 0,1M какодилатному буфері (рН 7,4) протягом 2 год. Відмивання, дегідратацію та заливку препаратів у суміш епону-812 з аралдитом проводили згідно з загальноприйнятими правилами. Перегляд ультратонких зрізів СМГ проводили за допомогою електронного мікроскопа ПЕМ-125К.

Результати. При світлооптичному дослідженні препаратів СМГ в усі строки дослідження набряк строми вузлів. Контури багатьох перикаріонів виглядають нерівними через формування неглибоких інвагінацій. Хроматофільна речовина в деяких клітинах розподілена нерівномірно з утворенням інтенсивно забарвлених грудок, розміщених перинуклеарно або на периферії клітини. В інших вона набуває однорідного дрібнозернистого вигляду. В окремих перикаріонах визначається хроматоліз. В ядрах багатьох нейронів спостерігається просвітлення каріоплазми, хроматин представлений

в одних випадках дрібними, інтенсивно забарвленими грудочками, в інших — має дрібногранулярний вигляд. На 7–15-ту добу експерименту зростає кількість ядер з ексцентрично розміщеними ядерцями. На 3-тю добу з'являються поодинокі дрібні, різко зморщені, деформовані нейрони з гомогенною інтенсивно забарвленою цитоплазмою та пікнотичним ядром, оточені великою кількістю гліоцитів. На 7-му добу їх число значно зростає.

Ультраструктурна картина СМГ в усі терміни дослідження характеризується поліморфізмом і поєднанням різноманітних ознак ураження перикаріонів чутливих нейронів. У цитоплазмі визначається зростання електронної щільності гіалоплазми, значне набухання цистерн ендоплазматичної сітки з вакуольною трансформацією окремих із них (рис. 1, а). Спостерігається дегрануляція цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки. Мітохондрії збільшені в розмірах, визначається розрідження крист, часткове або повне їх руйнування. Матрикс низької електронної щільності. В окремих мітохондріях зовнішня і внутрішня мембрани розплавлені. Елементи комплексу Гольджі також зазнають вакуольної трансформації (рис. 1, б). У цитоплазмі багатьох аферентних нейронів спостерігається значне зростання числа лізосом і внутрішньоклітинних включень високої електронної щільності (рис. 1, в). Каріолема здебільшого формує неглибокі випинання та інвагінації. Каріоплазма більшості нейронів світла, хроматин однорідного дрібногранулярного вигляду. Значна частина ядерця має неправильну форму, інколи визначається їх сегрегація (рис. 1, г).

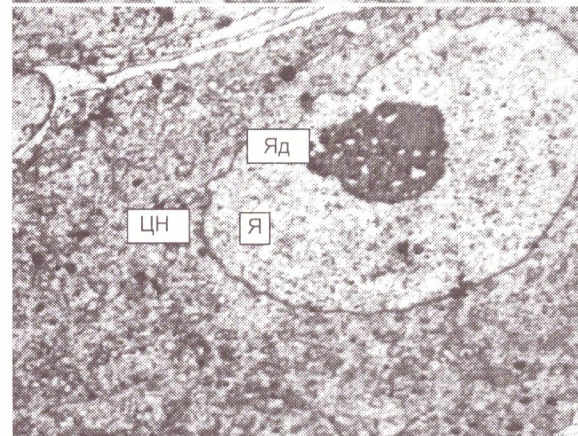
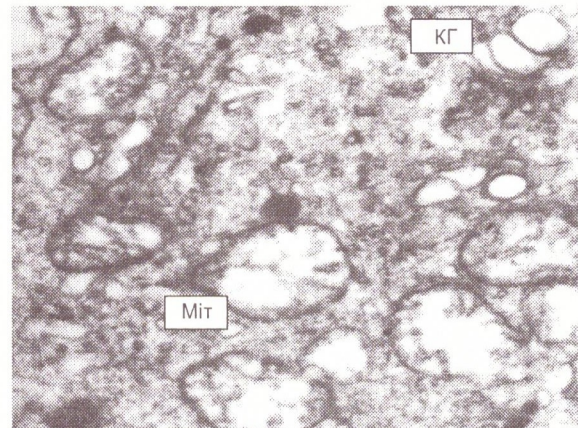
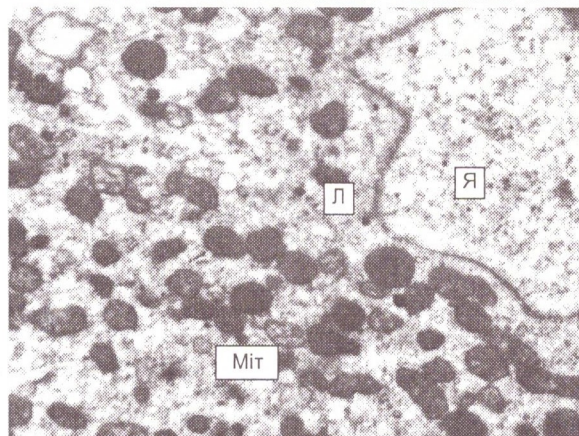
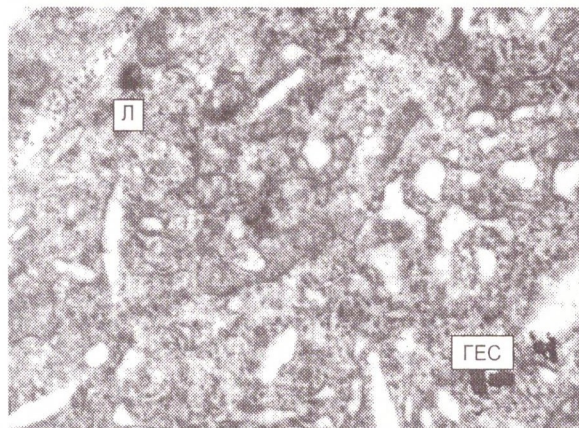


Рис. 1. Ультраструктурні зміни аферентних нейронів спинномозкових вузлів білих щурів під впливом етопозиду (15-та доба після введення препарату), $\times 12000$ (а), 16000 (б), 9600 (в) и 4000 (г): ГЕС — гранулярна ендоплазматична сітка, КГ — комплекс Гольджі, Л — лізосома, Міт — мітохондрія, ЦН — цитоплазма нейрона, Я — ядро нейрона, Яд — ядрце

Результати морфометричного аналізу вказують на суттєве зниження середніх значень показників площі перикаріонів чутливих нейронів та їх ядер (таблиця). Достовірних змін середнього значення величини площі ядерця не спостерігається. У зв'язку з цим величина індексу площа ядра/площа клітини достовірно не відрізняється від контрольних значень, а співвідношення площі ядерця і ядра достовірно перевищують контрольні показники в усі терміни досліджу.

Аналіз гістограм розподілу чутливих нейронів за величиною показника площі перикаріону (рис. 2, а) свідчить про те, що на 3-тю добу після введення

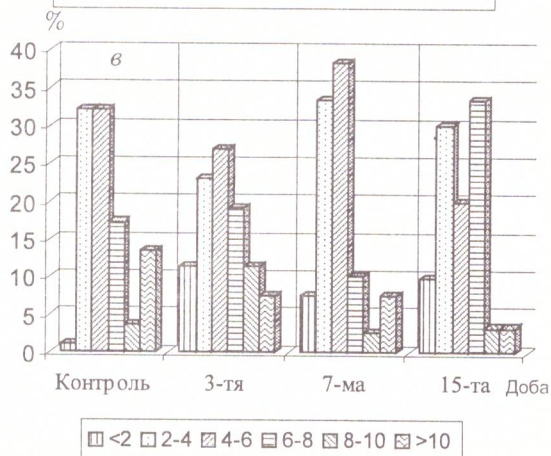
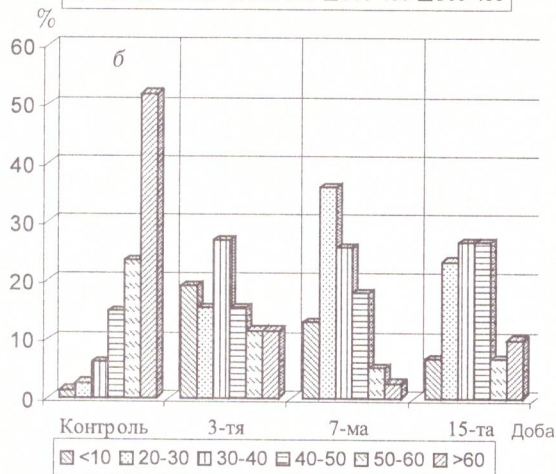
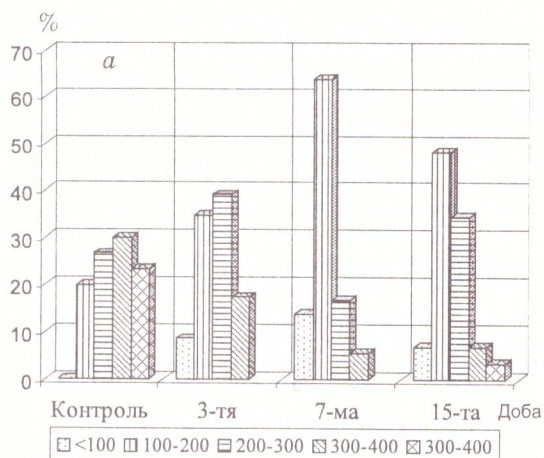


Рис. 2. Гістограми розподілу перикаріонів аферентних нейронів спинномозкових гангліїв за величиною показника площі клітини (а), площі ядра (б) і площі ядерця (в)

Е. у СМГ з'являються нейрони, площа яких не перевищує 100 мкм² (8,7 % всіх перикаріонів), зростає до 73,9 % частка клітин з площею 100–300 мкм² (46,7 % у контролі). Відповідно до 17,4 % знижується відносна кількість клітин площею 300–400 мкм². Великі нейрони площею понад 400 мкм², які у контрольних тварин складають 23,3 %, у цей термін досліджу не визначаються. Аналогічна тенденція спостерігається на 7-му добу досліджу. При цьому домінуючою групою стають клітини площею 100–200 мкм², які складають 63,9 % від загальної кількості (34,8 % на 3-тю добу і 20,0 % у контролі). На противагу цьому знижується порівняно із попереднім терміном досліджу та контролем частка клітин, що належать до метричної групи 200–300 мкм², яка становить 16,7 %. Відсоток нейронів площею понад 300 мкм² зменшується до 5,6 (30,0 % у контролі та 17,4 % на 3-тю добу). На 15-ту добу експерименту відбувається зниження порівняно з попереднім терміном частки перикаріонів площею до 200 мкм², яка складає 55,2 % (77,8 % на 7-му добу). Одночасно зростає до 41,4 % кількість нейронів площею 200–400 мкм² (22,2 % на 7-му добу). З'являються поодинокі нейрони площею понад 400 мкм² (3,5 %).

Аналогічна закономірність спостерігається і при зміні характеру розподілу нейронів СМГ за величиною показника площі ядра (рис. 2, б). На 3-тю добу різко збільшується кількість нейронів з ядром, площа якого не перевищує 10 мкм², і становить 19,2 % (1,2 % у контролі). Відсоток нейронів, площа ядра яких відноситься до метричної групи 20–40 мкм², зростає від 8,6 до 42,2. Відповідно нейрони з ядрами площею понад 50 мкм² складають лише 23,1 % (у контролі 75,3 %). До 7-ї доби тенденція до зниження показника площі ядра стає ще більш вираженою внаслідок домінування нейронів з площею ядра, яка не перевищує 30 мкм². Частка останніх складає 48,7 %. Відносна кількість нейронів з ядрами площею понад 50 мкм² зменшується до 7,7 %. На 15-ту добу диспропорції між кількістю клітин із дрібними та великими ядрами дещо згладжуються, однак гістограма розподілу значно відрізняється від нормальної.

Аналіз гістограм розподілу нейронів за величиною площі ядерця (рис. 2, в) вказує на значне зростання на 3-тю добу частки клітин з дуже дрібними ядрами площею до 2 мкм² за рахунок зменшення частки ядерця площею 2–6 мкм². При цьому знижується з 13,6 до 7,7 % кількість клітин з ядрами площею понад 10 мкм² і відповідно зростає з 3,7 до 11,5 % число нейронів, ядра яких мають площу 8–10 мкм². На 7-му добу експерименту незначне зниження частки дуже дрібних ядерця супроводжується зростанням частки нейронів з ядрами площею 2–6 мкм² і зниженням відносної кількості ядерця площею 6–8 мкм². На 15-ту добу гістограма розподілу ядерця набуває характерного бімодального вигляду з близько розміщеними піками, які знаходяться в зоні метричних груп 2–4 і 6–8 мкм². При цьому відсоток дуже дрібних ядерця площею до 2 мкм² (10,0 %) залишається значно вищим, а площею понад 10 мкм² (3,3 %) — достовірно нижчим, ніж у контролі (відповідно 1,2 та 13,6 %).

Обговорення. Одноразове внутрішньовенне введення Е. в дозі 22 мг/кг викликає в аферентних нейронах порушення конфігурації ядер і характеру розподілу хроматину, розширення та дегрануляцію цистерн гранулярної ендоплазматичної сітки,

Зміни морфометричних показників нейронів спинномозкових гангліїв під впливом етопозиду ($M \pm m$, $n=8$)

Показник	3-тя доба		7-ма доба		3-тя доба	
	дослід	контроль	дослід	контроль	дослід	контроль
Площа клітини, мкм ²	216,80±17,51*	349,09±27,39	170,77±11,41*	352,77±12,87	199,73±15,41*	351,55±24,28
Площа ядра, мкм ²	38,96±3,82*	66,79±2,36	32,91±2,19*	68,94±2,65	38,41±2,80*	72,13±7,31
Площа ядерця, мкм ²	5,32±0,58	5,51±0,33	4,76±0,40	5,65±0,26	4,99±0,46	5,53±0,51
Площа ядра/ площа клітини	0,19±0,01	0,20±0,01	0,20±0,01	0,21±0,01	0,20±0,01	0,22±0,02
Площа ядерця/ площа ядра	0,15±0,02*	0,09±0,004	0,15±0,01*	0,09±0,003	0,13±0,01*	0,08±0,005

* Відмінність між показниками дослідів і контролю достовірна, $p < 0,05$.

дилатацію елементів комплексу Гольджі, наявність великої кількості лізосом, що свідчить про порушення білоксинтезуючої функції нейронів. Поряд з цим спостерігаються пошкодження мітохондрій. Результатом вказаних змін є рівномірне зморщення ядра і перикаріону чутливих нейронів, яке може завершуватись загибеллю окремих із них з наступною нейронофагією. Отримані результати в цілому узгоджуються з даними попередніх досліджень [7], однак ми не спостерігали ознак значного пошкодження немембранних структур і гідропічної дистрофії цитоплазми. Зміни ядерця носять різноспрямований характер — частина з них зморщується, а частина збільшується в розмірах. Порівню-

ючи морфологічні зміни, викликані Е., з результатами досліджень впливу на СМГ інших нейротоксичних хіміопрепаратів (вінкристин, цисплатин) [8–10], приходимо до висновку, що етопозид викликає в аферентних нейронах неспецифічні пошкодження, пов'язані з порушенням синтезу білка та вільнорадикальним ураженням мембранних органел цитоплазми.

Отже, етопозид-індуковане ураження аферентних нейронів спинномозкових вузлів є повільно прогресуючий процес, який проявляється змінами у структурі ядра і ядерця та декомпозицією органел, що забезпечують енергетичні та білоксинтезуючі функції клітини.

Список літератури

1. Блохин Н.Н., Переводчикова Н.И. Химиотерапия опухолевых заболеваний. М.: Медицина, 1984. 304 с.
2. Rybak M.E., Anderson J., Kaplan R. et al. Phase-II trial of etoposide and cisplatin in patients with refractory and relapsed non-Hodgkin-lymphoma-cancer and leucemia group-B study-8351. Med.Pediat.Oncol. 1993; 21, 6: 441–445.
3. Scarlos D.V., Samantas E., Kosmidis P. et al. Randomized comparison of etoposide-cisplatin vs etoposide-carboplatin and irradiation in small-cell lung cancer — a hellenic cooperative oncology group-study. Annals Oncol. 1994; 5, 7: 601–607.
4. Schink J.C., Singh D.K., Rademaker A.W. et al. Etoposide, methotrexate, actinomycin-D, cyclophosphamide and vincristine for the treatment of metastatic, high-risk gestational trophoblastic disease. Obstetr. and Gynecol. 1992; 80, 5: 817–820.
5. Snider S., Bashir R., Bierman P. Neurologic complications after high-dose chemotherapy and autologous bone-marrow transplantation for Hodgkins-disease. Neurol. 1994; 44, 4: 681–684.
6. Somlo G., Doroshow J.H., Forman S.J. et al. High-dose cisplatin, etoposide and cyclophosphamide with autologous stem-cell reinfusion in patients with responsive metastatic or high-risk primary breast-cancer. Cancer 1994; 73, 1: 125–134.
7. Bregman C.L., Buroker R.A., Hirth R.S. et al. Etoposide-induced and BMY-40481-induced sensory neuropathy in mice. Toxicol. Pathol. 1994; 22, 5: 528–535.
8. Topp K.S., Tanner K.D., Levine J.D. Damage to the cytoskeleton of large diameter sensory neurons and myelinated axons in vincristine-induced painful peripheral neuropathy in the rat. J. Comp. Neurol. 2000; 424, 4: 563–576.
9. Barajon I., Bersani M., Quartu M. et al. Neuropeptides and morphological changes in cisplatin-induced dorsal root ganglion neuropathy. Exp. Neurol. 1996; 138, 1: 93–104.
10. Cavaletti G., Tredici G., Marmiroli P. et al. Morphometric study of the sensory neuron and peripheral-nerve changes induced by chronic cisplatin (DDP) administration in rats. Acta Neuropath. 1992; 84, 4: 364–371.

ПАТОМОРФОЛОГИЯ ТОКСИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ АФФЕРЕНТНЫХ НЕЙРОНОВ СПИНОМОЗГОВЫХ УЗЛОВ, ВЫЗВАННОГО ЭТОПОЗИДОМ

С.Б. Геращенко

У белых крыс, которым однократно внутривенно вводили этопозид в дозе 22 мг/кг массы тела, возникает повреждение афферентных нейронов спинномозговых узлов, которое проявляется изменениями в структуре ядра и декомпозицией органелл, обеспечивающих энергетическую и белоксинтезирующую функции клетки. С помощью морфометрических методов установлено прогрессирующее уменьшение на 3–15-е сутки размеров ядер и перикарионов и разнонаправленный характер изменений площади ядрышек.

Ключевые слова: спинномозговые ганглии, этопозид, нейротоксичность.

PATHOMORPHOLOGY OF ETOPOSIDE-INDUCED TOXIC INJURE OF SPINAL GANGLIA SENSORY NEURONS

S.B. Gerashchenko

After single intravenous injection of etoposide to white rats at dose 22 mg/kg/wt the injure of afferent neurons of the spinal ganglia occurs that manifests itself by the alterations in the nucleus structure and decomposition of organella responsible for energy and protein-synthesized function of the cell. The progressive decrease of nucleus and perikaryon sizes as well as diverse character of nucleolus square changes have been established on the 3d–5th days by using morphometric methods.

Key words: spinal ganglia, etoposide, neurotoxicity.

СТРУКТУРНЫЕ ПРЕОБРАЗОВАНИЯ СОЕДИНИТЕЛЬНОЙ ТКАНИ СТЕНКИ ДВЕНАДЦАТИПЕРСТНОЙ КИШКИ В ПРОЦЕССЕ РЕПАРАТИВНОЙ РЕГЕНЕРАЦИИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ЯЗВЫ ПРИ ДЕЙСТВИИ ЛАЗЕРНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

А.В. Подзорова, Н.Ф. Еремина

Украинская медицинская стоматологическая академия, г. Полтава

Проведено морфологическое исследование особенностей структурной перестройки соединительной ткани в области экспериментальной язвы двенадцатиперстной кишки под действием лазерной коррекции у 33 экспериментальных животных. Изучено стимулирующее действие лазерного облучения, которым воздействовали на зону проекции двенадцатиперстной кишки через кожу, а также биологически активные точки. Отмечена более высокая активность ангиогенеза, пролиферации макрофагов и фибробластов, их дифференцировка с последующей продукцией коллагена и более раннее его созревание по сравнению с контрольной группой.

Ключевые слова: репаративная регенерация, язва двенадцатиперстной кишки, лазерное излучение, ангиогенез, пролиферация макрофагов и фибробластов.

К концу 80-х годов был установлен широкий спектр биологических реакций, возникающих в организме после лазерного облучения. Они сводились к активации биосинтеза нуклеиновых кислот и белков, усилению окислительно-восстановительных реакций и интенсификации полиферментных систем, увеличению энергетического потенциала клеток в виде синтеза макроэргических веществ, увеличению кислородной емкости тканей, ускорению репродукции цитоплазматических органелл, повышению разности зарядов на клеточных мембранах, активизации процессов пролиферации, микроциркуляции, репаративной регенерации и др. [1].

Что касается биостимулирующего действия лазерного излучения, то на сегодняшний день механизм его изучен недостаточно, хотя именно этому вопросу посвящены работы многих исследователей [2–5]. В данной работе для стимуляции репаративной регенерации язвы двенадцатиперстной кишки избраны лазеропунктура и облучение зоны проекции двенадцатиперстной кишки, так как эти методы воздействия неинвазивны, не причиняют физических страданий пациенту, просты в исполнении, применимы в амбулаторных условиях.

Для восстановления эпителия слизистой оболочки и желез двенадцатиперстной кишки существенное значение имеет состояние подлежащей соединительной ткани и сосудов микроциркуляторного русла, поскольку эпителизация язвы возможна лишь после заполнения ее грануляционной тканью [6].

Цель настоящей работы — изучить эффект воздействия лазерного облучения на процесс регенерации язвы двенадцатиперстной кишки и дать патоморфологическую характеристику структурных изменений соединительной ткани язвенного дефекта под действием этого облучения.

Материал и методы. Эксперимент проводили на половозрелых лабораторных крысах обоего пола весом 180–250 г. Животным была смоделирована гиперацидная язва по Окабэ. На 4-е сутки после моделирования язвы начата лазерная коррекция с помощью установки ЛГ–75, работающей в красном световом диапазоне. Коррекция заключалась в облучении биологически активных точек — лазеропунктуры (E_{36} , E_{45} , 4Ji), выбор кото-

рых осуществлялся исходя из данных [2]. Экспозиция облучения составляла 15 с на каждую биологически активную точку. Зону проекции двенадцатиперстной кишки облучали расфокусированным лучом $d=2$ см, расстояние от источника — 3 см, экспозиция облучения — 1 мин. Облучение проводили ежедневно в одно и то же время суток.

В качестве контроля служила группа животных, которым была смоделирована язва по той же методике, что и животным опытной группы, но заживление происходило без каких-либо воздействий. Обе группы содержались в условиях вивария на протяжении всего эксперимента.

Исследования выполнены на 33 крысах: шесть групп (три опытных и три контрольных) по пять животных в каждой, три крысы были выведены из эксперимента на 4-е сутки после моделирования язвы для подтверждения ее формирования. Остальные животные выводились из эксперимента в следующем порядке: первая опытная группа — через сутки после однократной коррекции, контрольная — в тот же срок без коррекции; вторая опытная группа — через трое суток коррекции, контрольная — в тот же срок без коррекции; третья опытная группа — после шестикратного облучения в течение шести суток, контрольная — через шесть суток от начала эксперимента без коррекции. Умерщвлялись все крысы путем передозировки наркоза. Материал от всех животных подвергали светооптическому исследованию. Изучали структурные изменения соединительной ткани стенки двенадцатиперстной кишки в зоне смоделированной язвы в разные сроки репаративного процесса.

Кусочки ткани, взятые для морфологических исследований, фиксировали в 2,5%-ном глутаровом альдегиде и четырехокиси осмия, обрабатывали по общепринятым методикам, заливали в Эпон-812. Срезы толщиной до 1 мкм окрашивали толуидиновым синим. При помощи специальной сетки Автандилова считали общее количество клеток соединительной ткани и по классам, а также количество сосудов микроциркуляторного русла.

Все количественные исследования проводили согласно рекомендациям Г.Г. Автандилова [7] с применением t-критерия Стьюдента. Различия считали достоверными при $p<0,05$.

ЯЗВЫ

Результаты. При гистологическом исследовании материала, полученного от животных через трое суток после моделирования язвы двенадцатиперстной кишки, наблюдали образование, которое по своей структуре вполне укладывается в морфологическое понятие «язва». На препаратах этой группы животных были проведены все количественные исследования для определения исходного уровня изменений в структуре соединительной ткани в области язвенного дефекта в процессе его регенерации до начала коррекции (рис. 1).

По клеточному составу образцы опытной группы отличаются более низкой нейтрофильной и лимфоцитарной инфильтрацией, чем контрольные. Количество макрофагов и клеток фибробластического ряда в опытной группе выше, чем в контрольной, а количество плазмоцитов ниже. Таким образом, мы наблюдаем реакцию соединительной ткани в области язвы двенадцатиперстной кишки даже после однократного лазерного облучения.

После трехкратного лазерного воздействия в клеточном составе соединительной ткани язвен-



Рис. 1. Количественное соотношение клеток соединительной ткани в процессе лазерной коррекции язвы 12-перстной кишки

После однократного облучения в зоне реактивных изменений разрастание соединительной ткани в стенке двенадцатиперстной кишки выражено в меньшей степени, чем в контрольной группе. По общему количеству клеток соединительной ткани образцы опытной группы превышают контрольные, хотя этот показатель в среднем ниже в той и другой группе по сравнению с образцами ткани, взятой у животных через три дня после моделирования язвы.

В качественном отношении в опытной группе наблюдается структуризация соединительной ткани в области язвенного дефекта: образование молодой рубцовой ткани с упорядоченным расположением волоконных и клеточных элементов. В контрольной группе описанные выше процессы выражены в меньшей степени.

ного дефекта отмечают следующие изменения: повышение количества нейтрофилов и плазмоцитов в срезах, принадлежащих опытной группе, и снижение их количества в контрольной. Количество лимфоцитов и макрофагов остается относительно постоянным в обеих группах. Фибробластов в обеих группах становится меньше, но в опытной группе их остается значительно больше, чем в контрольной (рис. 1). Наряду с изменениями в клеточном составе соединительной ткани, на препаратах облученных животных наблюдалось развитие молодых капилляров, тогда как в контрольной группе их количество было значительно меньше (рис. 2).

После шести сеансов коррекции заметны явные признаки восстановления структуры двенадцатиперстной кишки. Наружная оболочка представлена рыхлой волокнистой соединительной тканью с раз-

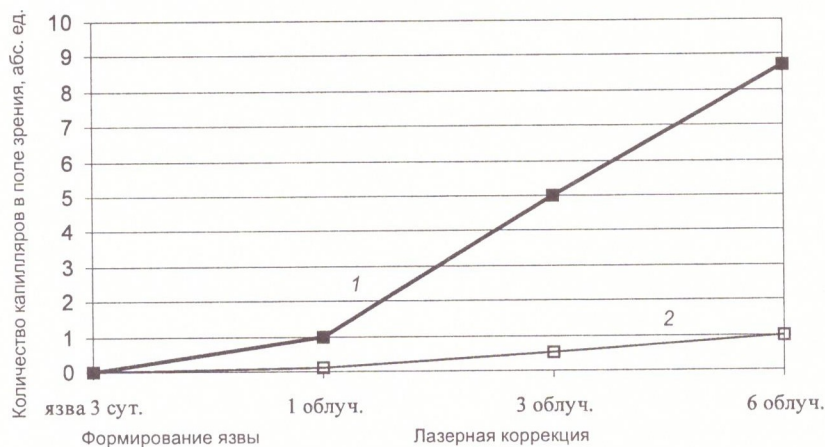


Рис. 2. Количество капилляров слизистой оболочки в области язвенного дефекта 12-перстной кишки: 1 — опытная группа; 2 — контрольная

витой сетью сосудов. Отмечается формирование подслизистого слоя с функционирующими дуоденальными железами по краям язвы, большое количество сосудов микроциркуляторного русла. На препаратах контрольной группы регенерация находится на стадии образования рубца. Дно язвы выполнено грубой рубцовой тканью, в которой имеется небольшое количество микрососудов. В клеточном составе соединительной ткани количество лимфоцитов и макрофагов в препаратах облученных животных заметно не изменилось, в то время как в контрольной группе количество лимфоцитов снизилось, а макрофагов несколько возросло. Количество нейтрофилов и плазмочитов в опытной группе значительно уменьшилось, а в контрольной, наоборот, заметно увеличилось. Фибробласты в опытной группе остались почти на прежнем уровне, но все же их было значительно больше, чем в контрольной, где количество этих клеток несколько возросло (см. рис. 1).

Обсуждение результатов. Приведенные факты свидетельствуют, что лазерное облучение действительно влияет на скорость и качество репаративной регенерации язвы двенадцатиперстной кишки.

Соединительная ткань совместно с сосудами микроциркуляторного русла является самой реактивной, поэтому первой реагирует на все внешние воздействия, в том числе и на лазерное облучение. Как в опытной, так и в контрольной группе животных в ходе регенерации экспериментальной язвы

происходит структурная перестройка соединительной ткани в соответствии с фазами раневого процесса [8, 9], однако в группе облученных животных эти процессы выражены в большей степени и опережают по времени ход структурных изменений в соединительной ткани животных контрольной группы. Так, уже после однократного облучения в препаратах крыс опытной группы предшествующая нейтрофилия сменяется увеличением количества макрофагов и фибробластов. Как известно [10, 11], влияние макрофагов связано не только с их функцией очищения раны, но и с секрецией ими специфических субстанций, усиливающих пролиферацию фибробластов, количество и функциональная активность которых определяют скорость и качество заживления и эпителизации язвы. Новообразование и созревание соединительной ткани происходит параллельно с образованием и ростом капилляров, количество которых в препаратах крыс опытной группы намного превосходит их количество в контроле. Та же тенденция сохраняется и в последующие сроки лазерной коррекции.

Таким образом, подтверждено, что лазерное облучение оказывает стимулирующее действие на процесс репаративной регенерации соединительной ткани в области язвы двенадцатиперстной кишки, что, в свою очередь, способствует более быстрому восстановлению структуры и функции данного отдела пищеварительного тракта.

Список литературы

1. *Самойлов Н.Г.* Современное состояние проблемы комбинированного влияния на организм ионизирующего и лазерного излучений. *Фотобиология и фотомедицина* 1998; 1: 89–92.
2. *Байбеков И.М., Касымов А.Х., Козлов В. И., Мусаев Э.Ш., Самойлов Н.Г.* Морфологические основы низкоинтенсивной лазеротерапии. Ташкент: Изд-во им. Ибн Сины, 1991. 234 с.
3. *Баракаев С.Б.* Низкоинтенсивное лазерное излучение в терапии язвенной болезни. *Клин. медицина* 1991; 7: 44–46.
4. *Подзорова А.А., Загоруйко Г.Е.* Современные принципы лечения язвы желудка и двенадцатиперстной кишки. *Вісник проблем біології і медицини* 1999; 14: 45–51.
5. *Vahn J.* Laser and biologische systems. *Akupunkturarzt. Aurikulo therapeut.* 1986; 1: 3–10.
6. *Ярыгин Н.Е., Серов В.В.* Атлас патологической гистологии; Под ред. А.И. Струкова. М.: Медицина, 1977: 117–132.
7. *Автандилов Г.Г.* Медицинская морфометрия. М.: Медицина, 1990. 384 с.
8. *Серов В.В., Шехтер А.Б.* Соединительная ткань. Функциональная морфология и общая патология. М.: Медицина, 1981. 312 с.
9. *Diegelman R.F., Lindbland W., Cohen I.K.* Collagen; Ed. M. Nimmi. Florida, 1988: 114–138.
10. *Саркисов Д.С., Туманов В.П.* Общая патология человека; Под ред. А.И.Струкова и др. М., 1990; Т. 2: 199–322.
11. *Pinchard R.N., Ludwig J.C., Mc Vanus L.M.* Inflammation: Basic Principles and Clinical Correlates. Ed J. Galling. New York, 1988: 139–167.

СТРУКТУРНІ ПЕРЕТВОРЕННЯ СПЛУЧНОЇ ТКАНИНИ СТІНКИ ДВАНДЦЯТИПАЛОЇ КИШКИ В ПРОЦЕСІ РЕПАРАТИВНОЇ РЕГЕНЕРАЦІЇ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ВИРАЗКИ ПРИ ДІЇ ЛАЗЕРНОГО ВИПРОМІНЮВАННЯ **А.В. Подзорова, Н.Ф. Єрьоміна**

Проведено морфологічне дослідження особливостей структурної перебудови сплочної тканини в ділянці експериментальної виразки дванадцятипалої кишки під дією лазерної корекції в 33 експериментальних тварин. Вивчено стимулюючу дію лазерного випромінювання, яким впливали на зону проєкції дванадцятипалої кишки через шкіру, а так само на біологічно активні точки. Відзначена більш висока активність ангіогенезу, проліферації макрофагів і фібробластів, їх диференціювання з наступною продукцією колагену і більш раннє його дозрівання в порівнянні з контрольною групою.

Ключові слова: репаративна регенерація, виразка дванадцятипалої кишки, лазерне випромінювання, ангіогенез, проліферація макрофагів і фібробластів.

STRUCTURAL TRANSFORMATIONS OF CONJUNCTIVE TISSUE WALL OF DUODENUM IN REPARATIVE REGENERATION OF AN EXPERIMENTAL ULCER AT ACTION LASER RADIANCE

A.V. Podzorova, N.F. Eryomina

The morphological research of features of structural transformation of conjunctive tissue in range of an experimental ulcer of a duodenum under action of laser correction at 33 experimental animals was executed. The promoting effect of laser radiance is investigated with which attacked zone of a projection of a duodenum through a skin and as irradiated biologically awake points. Higher activity of an angiogenesis, proliferation of macrophages and fibroblasts, them differentiation with subsequent production of a collagen and its earlier maturing was marked in comparison with control group.

Key words: reparative regeneration, ulcer of a duodenum, laser radiance, angiogenesis, proliferation of macrophages and fibroblasts.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ТИАМИНСУКЦИНА НА ТКАНЕВОЕ ДЫХАНИЕ

М.Е. Березнякова

Национальная фармацевтическая академия Украины, г. Харьков

Установлено, что тиаминсукцин стимулирует тканевое дыхание, активизируя процессы гликолиза, тормозит образование избытка молочной кислоты на ранней стадии гипоксии.

Ключевые слова: тиаминсукцин, тканевое дыхание, гликолиз, лактат, пируват.

О тяжести гипоксии судят по многим гематологическим показателям, включающим газометрический спектр крови [1], содержание определенных ферментативных единиц и др. Одним из информативных является тест, характеризующий соотношение молочной и пировиноградной кислот в крови и непосредственно связанный с ними показатель содержания избыточного количества лактата.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния тиаминсукцина на показатели тканевого дыхания.

Материал и методы. Опыты проводили на 20 нелинейных крысах обеих полов весом 180–200 г. Животным вводили тиаминсукцин и оксибутират (ГОМК). Тканевое дыхание исследовали путем определения количественного содержания молочной (лактата) кислоты (МК) и пировиноградной (пирувата) кислоты (ПК) в крови. Уровень МК устанавливали фотоколориметрически по методу Баркера-Саммерсона, основанному на взаимодействии уксусного альдегида с п-оксидифенолом, при котором образуется соединение, интенсивность окраски которого зависит от концентрации лактата; уровень ПК — унифицированным фотоколориметрическим методом по цветной реакции с 2,4-динит-

рофенилгидразином [2]. По данным концентрации лактата и пирувата в крови вычисляли величину «избытка лактата», или «Excess lactate» (EI) [2]

$$EI = (I_n - I_o) - (P_n - P_o) \cdot (I_o/P_o),$$

где I_o и P_o — исходное, контрольное количество МК и ПК;

I_n и P_n — количество этих кислот после воздействия различных факторов.

Результаты. Данные экспериментов по определению количественного содержания лактата (МК) и пирувата (ПК) в крови животных с хронической гемической гипоксией представлены в таблице.

Из таблицы видно, что уже в 1-е сутки эксперимента в крови крыс увеличивалось содержание как МК, так ПК, хотя достоверной разницы соответствующих показателей сравниваемых групп выявить не удалось ($p > 0,05$). Величина эксцесс-лактата имела отрицательное значение.

По мере развития гемической гипоксии на 3-и сутки в крови крыс повышалось содержание МК ($p < 0,05$) и в меньшей степени — ПК ($p > 0,05$). Цифровые характеристики эксцесс-лактата становились положительными.

Под влиянием тиаминсукцина накопление лактата задерживалось ($p > 0,05$), уровень пирувата со-

Период эксперимента, сут	Группа животных	Содержание, $X \pm S_x$		
		лактата (МК)	пирувата (ПК)	эксцесс-лактата
1-е	Контроль	1,60±0,10	118,0±11,68	-0,05
	Интактн.	1,49±0,08	106,33±14,08	-
3-и	Контроль	1,98±0,13	129,11±6,44	+0,17
	Интактн.	1,49±0,08	106,33±14,08	-
	С тиаминсукцином	1,64±0,09*	110,33±11,23*	-0,09
	С ГОМК	1,90±0,14*	126,37±9,24*	+0,13
5-е	Контроль	2,36±0,19	144,78±11,13	+0,33
	Интактн.	1,49±0,08	106,33±14,08	-
	С тиаминсукцином	1,77±0,10	120,07±12,67*	+0,09
	С ГОМК	2,24±0,21*	139,06±11,19*	+0,29
7-е	Контроль	2,02±0,16	126,25±12,22	+0,25
	Интактн.	1,49±0,08	106,33±14,08	-
	С тиаминсукцином	1,54±0,09#	111,29±17,51*	-0,02
	С ГОМК	1,75±0,12*	114,64±13,33*	+0,14
10-е	Контроль	1,62±0,06	108,37±19,87	+0,1
	Интактн.	1,49±0,08	106,33±14,08	-
	С тиаминсукцином	1,49±0,126*	105,82±12,22*	-0,05
	С ГОМК	1,52±0,17*	111,62±15,53*	-0,04

* $p > 0,05$; # $p < 0,05$.

хранялся практически в пределах нормы. Величина эксцесс-лактата имела отрицательное значение.

Влияние натрия оксидбутирата (ГОМК) сводилось к меньшему накоплению в крови животных лактата и пирувата по сравнению с соответствующими показателями контрольной группы. Однако избыточно увеличивалось количество эксцесс-лактата.

Сопоставление результатов крови животных, получавших тиаминсукцин и ГОМК, выявило, что первый в большей степени задерживал накопление МК и ПК.

К 5-м суткам опыта продолжало увеличиваться в крови животных, не получавших фармакологических средств, содержание лактата ($p < 0,011$) и пирувата, одновременно нарастала величина эксцесс-лактата. Введение крысам тиаминсукцина способствовало стабилизации окислительно-восстановительных процессов, в результате чего уровень лактата у них был достоверно ниже, чем у контрольной группы животных. Содержание пирувата имело тенденцию к увеличению, но это увеличение не было существенным ($p > 0,05$). Величина эксцесс-лактата приобретала положительный знак.

ГОМК также способствовал активации адаптационных механизмов, но в меньшей степени, чем тиаминсукцин.

На 7-е сутки эксперимента отмечено снижение содержания лактата и пирувата у всех животных. Однако у крыс контрольной группы содержание лактата сохранялось на уровне, достоверно пре-

вышающем нормальный, в связи с чем величина эксцесс-лактата оставалась большой.

Тиаминсукцин к 7-м суткам эксперимента практически до нормы восстанавливал в крови животных концентрацию лактата и пирувата. Величина эксцесс-лактата становилась отрицательной. Действие ГОМК было аналогичным действию тиаминсукцина, но менее значимым (исходя из уровней МК и ПК в крови животных).

К 10-м суткам эксперимента содержание лактата и пирувата у опытных животных снижалось до нормы, однако у крыс контрольной группы величина эксцесс-лактата оставалась положительной.

Таким образом, уже на ранних этапах гипоксии, обусловленной хроническим воздействием метгемоглобинообразователя, тиаминсукцин тормозил образование лактата, восстанавливая физиологические уровни лактата и пирувата (а отсюда и величину эксцесс-лактата) к 7-м суткам. Достижение физиологических величин лактата и пирувата под действием ГОМК задерживалось во времени, и лишь к 10-м суткам происходило восстановление их до нормы.

Выводы

Воздействие тиаминсукцина на тканевое дыхание сводится к ранней активации процессов гликолиза, в результате чего тормозится образование избытка молочной кислоты.

Стимулирующее действие тиаминсукцина на тканевое дыхание аналогично действию натрия оксидбутирата (ГОМК).

Список литературы

1. Зиновьев Ю.В., Подгорная Е.Ю., Кардовский А.Г. Повышение устойчивости организма к гипоксии под влиянием длительного голодания. Патол., физиол. и эксперим. терапия 1986; 4: 63–65.
2. Кордей Э., Свон Х.Дж.К. Инфаркт миокарда; Пер. с англ. М.: Медицина, 1989: 20–35.

ФАРМАКОЛОГІЧНА ДІЯ ТІАМІНСУКЦИНУ НА ТКАНІННИЙ ПОДИХ

М.Є. Березнякова

Установлено, що тиамінсукцин стимулює тканинний подих, активізуючи процеси гліколізу, гальмує утворення надлишку молочної кислоти на ранній стадії гіпоксії.

Ключові слова: тиамінсукцин, тканинний подих, гліколіз, лактат, піруват.

PHARMACOLOGICAL OPERATION TIAMINSUKCINI ON THE TISSUE RESPIRATION

M.Y. Bereznyakova

It was established that tiaminosukcini stimulates of tissue respiration, actualizes of processes of glycolysis and brakes of excess of lactic acid on early stage of hypoxia.

Key words: tiaminosukcini, tissue respiration, glycolysis, lactate, pyruvate.

ГИПЕРЭСТРОГЕНИЯ В ПРЕПУБЕРТАТЕ КАК ФАКТОР РАЗВИТИЯ НЕКОТОРЫХ ФОРМ БЕСПЛОДИЯ САМОК

Л.Б. Литвинова, И.В. Никитина

Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского

АМН Украины, г. Харьков

Харьковский государственный медицинский университет

Установлено, что отдаленными последствиями эстрогенизации женского организма в критический период онтогенеза (в пубертате) были нарушение фазовой структуры эстрального цикла или (в 62,5–75,0 % случаев) ацикличность, ановуляция, недостаточность лютеиновой фазы овариального цикла, гипогонадизм, нарушение гормональной рецепции в органах-мишенях (матке, влагалище). Предполагается, что гиперэстрогения в период полового созревания является патогенетическим фактором в развитии эндокринного бесплодия самок крыс.

Ключевые слова: гиперэстрогения, репродуктивная функция самок.

Характерной особенностью функционирования женской репродуктивной системы является цикличность. В результате нарушения циклических процессов в яичниках замедляется созревание фолликулов, развивается ановуляция или неполноценная функция желтого тела, приводящие к бесплодию [1, 2]. Частота женского бесплодия эндокринного происхождения составляет 35–45 % [3]. Несмотря на многочисленные исследования, посвященные выяснению этиологии и патогенеза эндокринного бесплодия, причины, лежащие в его основе, отличаются большой вариабельностью. У 51,3 % женщин, страдающих первичным (гормональным) бесплодием, в анамнезе отмечают патологию пубертатного периода [4]. Изменения стероидного, в частности эстрогенного, фона в критический период онтогенеза, как следствие влияния неблагоприятных факторов или стимуляции полового созревания с помощью экзогенных эстрогенов [5], могут служить предпосылкой нарушений репродуктивной функции, а возможно, и бесплодия в половозрелом возрасте.

Целью данного исследования было изучение функциональной активности репродуктивной системы взрослых самок крыс, отягощенных в препубертате избытком эстрогенов.

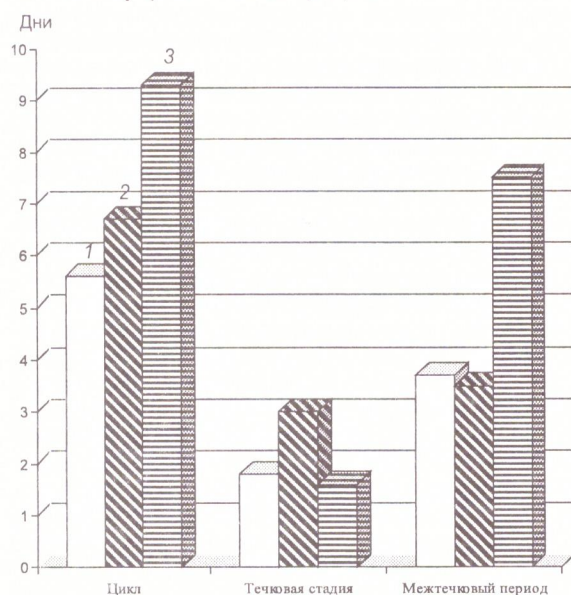
Материал и методы. Исследование выполнено на 46 самках крыс популяции Вистар. Животным в препубертате (на 35-е сутки жизни) вводили одноразово внутримышечно в масляном растворе эстрадиол (E_2) в дозах 3 или 100 мкг на 100 г массы тела. Контрольные самки получали по 0,2 мл растворителя (косточковое масло) в таких же условиях. Контрольных и подопытных крыс содержали в виварии до половозрелого (4-мес) возраста. У взрослых животных изучали продолжительность и фазовую структуру эстрального цикла по цитологии ежедневных вагинальных мазков в течение 16-дневного периода. После забоя самок в стадии диэструс радиоиммунологическим методом определяли уровни половых гормонов в крови: прогестерона (Δ^4P), тестостерона (Тс) и E_2 . В гомогенатах гипофизов изучали содержание суммарных гонадотропинов методом биологического тестирования [6] и выражали их в условных единицах. На серийных гистологических срезах яичников подсчитывали растущие (преантральные, много- и однополостные) фолликулы, желтые и атретические

тела. Определяли массу тела и репродуктивных органов (матки и яичников).

Результаты и их обсуждение. В половозрелом возрасте все самки крыс контрольной группы имели регулярный эстральный цикл. В фазовой структуре цикла продолжительность межтечкового (метаэструс + диэструс) периода была достоверно больше течковой (проэструс + эструс) стадии (рисунок). В группах подопытных крыс, эстрогенизированных в препубертате, снижалось количество циклирующих самок до 37,5 % (3 мкг E_2) и 25 % (100 мкг E_2). У крыс с сохранным циклированием наблюдалась тенденция к удлинению цикла на 1 сут (3 мкг E_2) или 3,7 сут (100 мкг E_2). В фазовой структуре цикла самок, которым E_2 инъецировали в меньшей дозе, увеличивалась продолжительность течковой фазы на 63 %, что косвенно свидетельствовало о высоком уровне эстрогенов в крови [6]. У крыс, обработанных 100 мкг E_2 , на 102,7 % увеличивалась продолжительность межтечкового периода. Это могло быть следствием угнетения фолликулогенеза или пролонгации функции постовуляторных желтых тел.

В яичниках циклирующих крыс, которым вводили 3 мкг E_2 , наблюдалась стимуляция овариального фолликулогенеза на ранних его стадиях: количество преантральных и многополостных фолликулов возрастало соответственно в 9,3 и 2,3 раза. Количество однополостных фолликулов, напротив, снижалось на 50 % по сравнению с данными, имеющими место в контроле. Наряду с этим, в гонадах подопытных самок появлялись фолликулярные кисты. Количество желтых тел от предыдущих овуляций у подопытных крыс достоверно снижалось на 26,8 %. Увеличение числа преантральных фолликулов давало возможность предположить повышение уровня эстрогенов в крови, которые стимулируют фолликулогенез на ранних стадиях [7]. Появление антральных фолликулов, скорее всего, было следствием нормальной регуляции фолликулогенеза со стороны ФСГ, который контролирует образование фолликулярной полости [8, 9]. Уменьшение количества однополостных фолликулов и желтых тел свидетельствовало в пользу недостаточной секреции ЛГ, поскольку последний отвечает за созревание фолликулов на завершающих стадиях фолликулогенеза и овуляцию [10, 11].

У подопытных самок (3 мкг E_2) с отсутствием вагинального цикла в яичниках число растущих фолликулов увеличивалось в меньшей степени, чем у циклирующих крыс этой группы. При этом количество многополостных фолликулов у нециклирующих самок ($3,60 \pm 0,50$) было значительно меньше, чем у циклирующих ($8,05 \pm 0,55$). Желтые тела в гонадах нециклирующих самок не обнаружены, что подтверждает не только ациклический, но и ановуляторный характер функционирования репродуктивной системы. Отсутствие желтых тел, вероятно, вызывало уменьшение массы яичников (таблица). Угнетение овариального фолликулогенеза (снижение числа полостных фолликулов) и ановуляция (отсутствие желтых тел) свидетельствовали о нарушении гонадотропной (ФСГ и ЛГ) регуляции генеративной функции яичников. Содержание гонадотропинов в гипофизах этих самок увеличивалось (таблица), что давало основание полагать о супрессии их секреции.



Структура эстрального цикла эстрогенизированных в препубертате опытных крыс (1), с введением E_2 в дозе 3 (2) и 100 (3) мкг/100 г

В периферической крови подопытных крыс достоверно уменьшался уровень Δ^4P , особенно у самок с отсутствием эстрального цикла и постовуляторных желтых тел в гонадах (таблица). Концентрация тестостерона в крови подопытных самок, независимо от характера функционирования их репродуктивной системы, снижалась более чем в шесть раз по сравнению с контролем. Уменьшение уровня андрогенов и прогестин в крови подтверждало наше предположение о снижении базальной и циклической секреции ЛГ гипофизом, поскольку биосинтез указанных стероидов регулируется именно этим гонадотропином [1, 10]. У циклирующих крыс угнетение секреции ЛГ и прогестин являлось признаком недостаточности лютеиновой фазы овариального цикла, что может стать причиной снижения плодovitости или бесплодия [2].

Уровень E_2 в крови подопытных крыс зависел от степени эстрогенизации в препубертате. Использование экзогенного гормона в дозе 100 мкг угнетало эндокринную функцию яичников, в том числе и секрецию E_2 (таблица). Гипофункция яичников, особенно подавление синтеза и секреции эстрогенов, и отсутствие циклическости являются признаками развития гипогонадизма [12]. Применение E_2 в меньшей дозе в препубертате приводило к увеличению уровня эстрогенов в крови и сдвигу соотношения стероидов в сторону преобладания E_2 в половозрелом возрасте. Эстрогенизация самок способствовала удлинению течкового периода цикла (рисунок) и быстрому лизису желтых тел, поскольку эстрогены обладают лютеолитическим действием, что давало возможность прогнозировать недостаточность лютеиновой фазы овариального цикла. Характерно, что увеличение уровня эстрогенов (после введения 3 мкг E_2) наблюдалось как у циклирующих, так и нециклирующих самок (таблица). Констатация последнего факта требует пояснений, поскольку известно, что эстрогены вызывают пролиферацию верхних слоев вагинального эпителия и появление в мазках клеток, характерных для течковой стадии цикла [6]. Учитывая изложенное, мы могли ожидать у подопытных самок персистентный эструс, а не хронический диэструс, который имел место в нашем эксперименте. Повышение уровня эстрогенов и отсутствие их

Отдаленные последствия препубертатной эстрогенизации самок крыс ($M \pm m$)

Показатель	Контроль (n=13)	E_2 , 3 мкг		E_2 , 100 мкг
		циклирующие крысы	нециклирующие крысы	
Гормоны				
Δ^4P , нмоль/л	52,50±6,09	34,20±6,61 ¹⁾	8,92±3,19 ^{1,2)}	7,41±1,47 ^{1,2)}
T, нмоль/л	2,45±0,37	0,38±0,01 ¹⁾	0,39±0,01 ¹⁾	0,48±0,04 ^{1,2,3)}
E_2 , нмоль/л	0,64±0,10	1,12±0,12 ¹⁾	1,07±0,11 ¹⁾	0,20±0,04 ^{1,2,3)}
$E_2/\Delta^4P \times 10^{-2}$	1,88±0,88	3,27±0,77	23,47±9,15 ^{1,2)}	4,13±1,23 ³⁾
T/ E_2	4,00±0,53	0,34±0,08 ¹⁾	0,37±0,03 ¹⁾	2,21±0,45 ^{1,2,3)}
гонадотропины, усл. ед.	1,11±0,09	1,49±0,52	1,88±0,22 ¹⁾	1,27±0,10 ³⁾
Масса				
тела, г	143,29±6,19	141,67±4,79	113,10±2,16 ^{1,2)}	103,00±6,28 ^{1,2)}
матки, мг/100 г	70,40±8,58	110,10±18,1 ¹⁾	56,40±5,09 ²⁾	88,13±3,60 ³⁾
яичников, мг/100 г	30,61±2,59	33,20±5,23	18,25±0,49 ^{1,2)}	22,42±1,75 ^{1,2)}

Примечание. Достоверность различий $p < 0,05-0,001$:

1) — между контролем и опытными группами;

2) — между циклирующими и нециклирующими крысами;

3) — между нециклирующими крысами после введения E_2 в дозах 3 и 100 мкг.

рыс дос-
но у са-
стовляю-
центра-
ок, неза-
х репро-
в шесть
ие уров-
вержда-
льной и
скольку
ы имен-
ких крыс
ось при-
и овари-
нижения

зависел
ате. Ис-
100 мкг
з, в том
дия яич-
екреции
зляются
Пример-
иводи-
и сдви-
облада-
низация
о перио-
тых тел,
ическим
нозиро-
ариаль-
уровня
одалось
х самок
а требу-
трогены
иналь-
с, харак-
тивная
тных са-
жий ди-
аримент-
ствие их

мкг

47^{1,2}

04^{1,2,3}

04^{1,2,3}

23³

45^{1,2,3}

10³

28^{1,2}

60³

75^{1,2}

эффекта во влагалище, возможно, были вызваны нарушением гормональной рецепции в органах-мишенях подопытных самок. Подтверждением данного предположения служила реакция матки. У циклирующих подопытных крыс она увеличивалась на 56,4 % (таблица) в ответ на повышение уровня E_2 в крови (введение 3 мкг E_3). У нециклирующих самок этой группы увеличение концентрации эстрогенов в крови не вызывало утеротропной реакции. Уменьшение количества рецепторов в органах-мишенях, в частности в матке, имеет важное значение в период зачатия и беременности и может быть одной из причин бесплодия [2].

Выводы

1. Повышение уровня эстрогенов в пубертате приводило в репродуктивном возрасте к нарушению или полному подавлению (62,5–75,0 %) цикличности (хронический вагинальный дизэструс) и ановуляции (отсутствие постовуляторных желтых тел в гонадах). У подопытных крыс с сохраненным эстральным циклом особенности изменений его фазовой структуры зависели от степени эстрогенизации в пубертате. Экзогенный E_2 в низкой дозе (3 мкг) вызывал удлинение течковой стадии цикла, а в высокой дозе (100 мкг) — пролонгацию межтечкового периода.

2. В яичниках подопытных крыс наблюдалась стимуляция начальных стадий фолликулогенеза, наиболее выраженная у самок с регулярным цик-

лированием. Угнетение завершающих стадий фолликулогенеза (снижение числа однополостных фолликулов) было следствием недостаточной базальной секреции ЛГ гипофизом.

3. На фоне угнетения секреции ЛГ развивалась гипоандрогения (снижение уровня тестостерона в крови) и недостаточность лютеиновой фазы овариального цикла циклирующих самок (уменьшение количества желтых тел в яичниках и снижение уровня прогестерона в крови).

4. После введения 3 мкг E_2 в препубертате у взрослых крыс, независимо от наличия цикличности, наблюдалось повышение уровня эстрогенов в крови. У нециклирующих самок эстрогенизация не сопровождалась реакцией репродуктивных органов (отсутствие увеличения массы матки и хронический дизэструс), что давало основание предположить о нарушении гормональной рецепции в органах-мишенях. Результатом введения 100 мкг E_2 до полового созревания было развитие эндокринной недостаточности яичников в репродуктивном возрасте.

5. Отдаленными последствиями эстрогенизации женского организма в критический период онтогенеза (в пубертате) являются ацикличность, ановуляция, недостаточность лютеиновой стадии овариального цикла, гипогонадизм. Это дает основание полагать, что гиперэстрогения — патогенетический фактор в развитии эндокринного бесплодия.

Список литературы

1. Бабичев В.Н. Нейроэндокринология репродуктивной системы. Пробл. эндокринол. 1998; 44, 1: 3–12.
2. Вихляева Е.М. Руководство по эндокринной гинекологии. М.: Медицина, 1997. 85 с.
3. Гилязутдинова З.Ш. Нейроэндокринная патология в гинекологии. Казань: Изд-во Казанск. ун-та, 1982. 127 с.
4. Патология полового развития девочек и девушек; Под ред. Ю.А. Крупко-Большовой, А.И. Корниловой. К.: Здоров'я, 1990. 232 с.
5. Літвінова Л.Б. Роль естрогенів у регуляції статевого дозрівання самиць щурів. Фізіол. журн. 2000; 46, 5: 14–18.
6. Кабак Я.М. Практикум по эндокринологии. Основные методы экспериментально-эндокринологических исследований. М.: Изд-во МГУ, 1968. 275 с.
7. Китаев Э.М. Характер фолликуло- и гематогенеза при различных формах нарушений репродуктивной функции. Акуш. и гинекол. 1982; 4: 3–6.
8. Хиршенблатт А.Н., Шмидт В.А. Кинетические аспекты развития фолликулов у крыс. Онтогенез 1989; 20, 1: 5–27.
9. Eppig J., O'Brien M. Development in vitro of mouse oocytes from primordial follicles. Biol. Reprod. 1996; 54: 197–207.
10. Боярский К.Ю. Овариальная стимуляция и фолликулогенез в конце 90-х годов: на пороге будущего. Пробл. репродук. 1997; 3, 4: 61–68.
11. Hiller S. Paraclinal regulation of follicular E_2 synthesis. Reprod. Endocrinol. 1991; 9: 332–440.
12. Нарушение полового развития; Под. ред. М.А. Жуковского, Н.Б. Лебедь, Т.В. Семичевой и др. М.: Медицина, 1989. 272 с.

ГІПЕРЕСТРОГЕНІЯ В ПРЕПУБЕРТАТІ ЯК ФАКТОР РОЗВИТКУ ДЕЯКИХ ФОРМ БЕЗПЛІДДА САМОК

Л.Б. Літвінова, І.В. Нікітіна

Встановлено, що віддаленими наслідками естрогенизації жіночого організму в критичний період онтогенезу (у пубертаті) було порушення фазової структури естрального циклу або (у 62,5–75,0 % випадках) ацикличність, ановуляція, недостатність лютеїнової фази овариального циклу, гіпогонадизм, порушення гормональної рецепції в органах-мішенях (матці, піхві). Вважається, що гіперестрогения у період статевого дозрівання є патогенетичним фактором у розвитку ендокринного безпліддя самок щурів.

Ключові слова: гіперестрогения, репродуктивна функція самок.

HYPERESTROGENIA IN PREPUBERTY AS FACTOR OF DEVELOPMENT OF SOME FORMS OF FEMALE STERILITY

L.B. Litvinova, I.V. Nikitina

It has been established the hyperestrogenization of female rats is puberty that is the critical period of ontogenesis has resulted in the disorder of the phase structure of estrous cycle or uncyclity, unovulation, luteal lack, hypogonadism, disturbance of hormonal reception in target organs (uterus, vagina) in distant period. It has been believed the hyperestrogenia in puberty is pathogenetic factor in the development of the endocrine sterility of female rats.

Key words: hyperestrogenia, female reproductive function.

ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ И РАЗВИТИЯ АЛКОГОЛИЗМА У ПОТОМКОВ СТРЕССИРОВАННЫХ МАТЕРЕЙ

Л.Ю. Сергиенко, О.В. Картавцева, Е.В. Онищенко

Институт проблем эндокринной патологии им. В.Я. Данилевского
АМН Украины, г. Харьков

В экспериментах на крысах исследованы особенности формирования алкогольной зависимости у потомков матерей, стрессированных на ранних этапах беременности. Путем учета среднесуточного потребления этанола и воды, количественной оценки реакций животных на отмену этанола показано, что формирование потребности в экзогенном этаноле у потомков стрессированных матерей происходит значительно быстрее, а физическая зависимость от алкоголя имеет более выраженный характер. Полученные данные позволяют рассматривать стресс матерей на ранних этапах беременности как этиопатогенетический фактор развития алкоголизма у потомков.

Ключевые слова: экспериментальный алкоголизм, стресс беременных, потомки.

Алкоголизм является одной из наиболее острых медико-социальных проблем современности, поскольку распространенность этого негативного явления среди всех слоев общества неуклонно возрастает. Особую обеспокоенность медицинской общественности вызывает тот факт, что жертвами алкоголизма становится все больший процент молодежи и даже подростков и детей обоего пола. И хотя проблеме алкоголизма уделяется все больше внимания как со стороны практической медицины, так и научных исследований, на вопросы, в результате чего и когда формируется склонность индивидуума к алкоголю, как определить принадлежность человека к группе риска в преморбидном периоде, можно ли предупредить клиническую манифестацию заболевания путем применения лекарственных средств, а не только через антиалкогольную пропаганду и санацию социального окружения, до настоящего времени нет исчерпывающих ответов.

Материалы многих исследований свидетельствуют о том, что начало злоупотребления алкоголем приходится на период полового созревания, для которого характерны резкие колебания в психоэмоциональной сфере, перестройки в системах защиты и адаптации [1]. В то же время отмечено, что возраст, в котором происходит знакомство с алкоголем, сам по себе не может служить основным обстоятельством для развития алкоголизма [2]. Наиболее существенным является присутствие в пре- или пубертатном периоде у лица, знакомящегося с алкоголем, проявлений психопатической личности. Однако до сих пор не ясно, на каком этапе индивидуального развития и через какие патофизиологические или патобиохимические механизмы происходит формирование «преалкогольной» личности.

В качестве рабочей гипотезы было выдвинуто предположение, что причиной стремления к алкоголю определенного числа детей и подростков является эмоциональный (чаще всего социального происхождения) стресс их матерей в те периоды беременности, которые совпадают с закладкой и началом функционирования нервной и эндокринной систем плода, что и обуславливает повышенную реакцию этих систем на стресс в постнатальном онтогенезе.

Целью данного исследования явилось изучение формирования потребности и оценка физиче-

ской зависимости от алкоголя у потомков матерей, стрессированных на ранних этапах беременности, сопоставление показателей алкоголизации с гормональным статусом потомков.

Материал и методы исследований. Работа выполнена на крысах популяции Вистар, содержащихся в стандартных условиях вивария на рекомендованной диете. Для получения потомства половозрелых самок, имеющих нормальный эстральный цикл, спаривали с сексуально активными самцами (1 самец — 1 самка). Первым днем беременности считали день нахождения сперматозоидов в вагинальном мазке. Исползованная модель формирования социально-эмоционального стресса на почве нарушения иерархии взаимоотношений в сообществе [3] заключалась в следующем: ежедневно, начиная с 1-го по 7-й день беременности подопытную самку подсаживали на 10 ч в клетку с 25 интактными половозрелыми особями того же пола, при этом состав стада, куда помещали беременную крысу, каждый раз менялся. Остальное время суток, как и весь последующий период беременности вплоть до родов, самка находилась в отдельной клетке.

Группу подопытных животных составили 36 самцов, потомков первого поколения стрессированных самок; контролем служили 40 самцов из пометов интактных крыс. Начиная с 50-дневного возраста животные подвергались алкоголизации. При этом использовали комбинированную схему формирования алкогольной зависимости: 20%-ный раствор этанола (из расчета 3 г/кг массы тела) вводили крысам в желудок 1 раз на протяжении 10 суток. Одновременно с этим контрольные крысы получали 3 мл дистиллированной воды *per os*. В последующие 30 дней (5 недель по 6 дней) животные имели круглосуточный свободный доступ к поилкам с 15%-ным раствором этанола и водой. Учет потребляемого объема алкоголя и воды производили начиная с 15-го дня алкоголизации. На 31-е сутки эксперимента животные получали только воду. Оценку реакции отмены алкоголя начинали через 10 ч после последнего контакта крыс с этанолом и проводили ежедневно в течение 7 ч на протяжении 7 дней. Через неделю, вновь установив поилки с 15%-ным этанолом, определяли процент животных, предпочитающих алкоголь, в подопытной и контрольной группах. Определение уровня кортикостерона в плазме крови животных

проведено на спектрофлюориметре фірми «Хітачі» [4]. Для визначення рівня полових гормонів — тестостерона і естрадіола — використовували радіоімуннологічні набори (Беларусь, г. Мінськ).

Всі дані оброблені статистично по методу Ст'юдента-Фішера [5].

Результати досліджень. Середнесуточне споживання етанолу і води мишами — потомками інтактних (1-я група) і стресированих (2-я група) матерей в тесті вільного доступу до поїлки представлено в табл. 1.

Таблиця 1. Середнесуточне споживання етанолу і води мишами різних груп, (M±m) г/кг

Срок спостереження, нед	1-я група (n=40)		2-я група (n=30)	
	етанол	вода	етанол	вода
1	1,9±0,1	82,2±4,0	7,6±0,8*	80,0±2,0
2	1,6±0,3	80,4±3,6	7,4±1,0*	81,2±3,4
3	2,0±0,4	78,0±2,5	8,2±0,6*	84,3±2,0
4	2,8±0,4	78,2±1,6	7,4±0,5*	78,4±2,0
5	3,0±0,5	83,2±2,0	6,9±0,9*	81,4±2,4

* p<0,05.

Як видно з даних табл. 1, уже з 1-ї тижня після завершення внутрішньочеревного введення етанолу кількість алкоголю, споживаного мишами підопитної (2-ї) групи, значно перевищує аналогічний показник контрольної (1-ї) групи, при цьому в підопитній групі обсяг споживаного алкоголю практично стабільний. Навпаки, у мишів контрольної групи помічається, хоча і незначительне, зростання вживаного розчину етанолу. При цьому середній показник споживання етанолу за період спостереження у потомків стресированих матерей становив (7,5±0,6) г/кг маси тіла в добу, тоді як у потомків інтактних мишів ця величина дорівнювала (2,26±0,4) г/кг маси тіла в добу. В той же час за обсягом вживаної води між тваринами обох груп не було різниці.

Оцінка реакції відмови етанолу за відсотком тварин з проявами фізичної залежності від алкоголю (табл. 2) показала, що синдром відмови у підопитних тварин виражений досить сильно, о чому свідчать високі (частіше досягають до 100) відсотки наявності у них окремих ознак алкогольної депривації і наявність

Таблиця 2. Оцінка реакції відмови етанолу у мишів — потомків інтактних (1-я група) і стресированих (2-я група) матерей

Признак реакції відмови	% тварин з наявністю ознаки	
	1-я група (n=40)	2-я група (n=30)
Пилозрекция	—	100
«Скандированность» рухів	25	80
Каталепсія	—	60
Загальний тремор	10	100
Дрижання голови	—	100
Спонтанна вокалізація	16,6	80
Пароксизми стукаючих зубами	—	100
Пароксизми бігу	50	100
Судоги спонтанні	—	60
Гибель	—	15

серед них особей, загинувших в результаті вживання 15%-ного етанолу.

Дослідження рівня кортикостерона в крові мишів до початку алкоголізації показало, що у підопитних тварин він був в середньому в 1,5 рази вище, ніж в контрольній: (0,91±0,05) нмоль/л проти (0,60±0,07) нмоль/л, p<0,05. Дослідження рівня кортикостерона у тварин після алкоголізації показало, що хронічне вживання алкоголю в організм, практично не впливає на рівень гормону у контрольних мишів, достовірно знижує його концентрацію в крові під-

опитних тварин: (0,63±0,08) нмоль/л — контроль, (0,52±0,04) нмоль/л — дослід, p<0,05. Що стосується полових стероїдів, то у тварин з високим рівнем кортикостерона концентрація тестостерона була значно знижена: (6,47±0,53) нмоль/л — контроль, (2,81±0,61) нмоль/л — дослід, p<0,05, а естрадіола підвищена: (0,32±0,05) нмоль/л — контроль, (0,67±0,9) нмоль/л — дослід, p<0,05.

Автором [6] показано, що в умовах фізіологічної норми рівня кортикостерона у самок вище, ніж у самців, що пояснюється стимулюючим впливом естрогенів на секрецію кортикотропін-рилізінг-гормону, а реакція на гострий стрес у самок має більш виражений характер.

Отримані нами дані про підвищення рівня естрадіола з одночасним підвищенням рівня кортикостерона у самців — потомків матерей, стресированих на ранніх етапах вагітності, свідчать, з нашої точки зору, про «жінський тип» секреції АКТГ і адренокортикального відгуку на стрес-реакцію у цих самців. Легко виявляється і стабільно спостережуване вліччє: к етанолу, швидко переходяче в фізичну залежність, а також зниження рівня кортикостерона під впливом алкоголю є ознакою наявності у стресированих на ранніх етапах ембріонального розвитку особей антенатально сформованої потреби в алкоголі, як регуляторі підвищеної стрес-реактивності даних тварин.

Висновки

1. У особей чоловічої статі — потомків матерей, перенеслих емоційний стрес на ранніх етапах вагітності, звикання до алкоголю відбувається швидше, а ступінь фізичної залежності від нього глибше, ніж у особей від інтактних матерей.

2. У самців — потомків матерей, стресированих на ранніх етапах вагітності, алкоголь є регулятором підвищеної адренокортикальної реакції на стрес.

3. Стрес матерей на ранніх етапах розвитку плоду є фактором ризику розвитку алкоголізму у потомків.

Список литературы

1. Артемчук А.Ф. Алкоголизм у лиц молодого возраста. К.: Здоров'я, 1985. 128 с.
2. Ураков И.Г., Куликов В.В. Хронический алкоголизм. М.: Медицина, 1977. 167 с.
3. Pollard I., Dyer S.L. Effects of stress administered during pregnancy on the development of fetal testes and their subsequent function in the adult rat. J. Endocrinol. 1985; 107: 241–245.
4. Балашов Ю.Г. Флюориметрический микрометод оценивания кортикостероидов. Физиол. журн. 1990; 76, 2: 280–283.
5. Лакин Г.Ф. Биометрия. М.: Высшая школа, 1990. 352 с.
6. Носенко Н.Д. Механізми гормон-медіаторного імпринтингу нейроендокринної регуляції репродукції та стрес-реактивності. Автореф. дис. ... докт. мед. наук. К., 1999. 34 с.

**ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ ТА РОЗВИТКУ АЛКОГОЛІЗМУ У НАЩАДКІВ СТРЕСОВАНИХ МАТЕРІВ
Л.Ю. Сергієнко, О.В. Картавцева, О.В. Онищенко**

В експериментах на щурах досліджені особливості формування алкогольної залежності у нащадків матерів, стресованих на ранніх термінах вагітності. Шляхом визначення середньодобового споживання етанолу та води, кількісної оцінки реакцій тварин на відміну етанолу було показано, що формування потреби в екзогенному етанолі у нащадків стресованих матерів відбувається значно швидче, а фізична залежність від алкоголю має більш виражений характер. Отримані результати дозволяють розглядати стрес матерів на ранніх етапах вагітності як етіопатогенетичний фактор розвитку алкоголізму у нащадків.

Ключові слова: експериментальний алкоголізм, стрес вагітних, нащадки.

**PECULIARITIES OF FORMATION AND PROGRESS OF ALCOHOL DEPENDENCE IN STRESSED MOTHERS
OFFSPRING**

L. Yu. Sergienko, O. V. Kartavceva, H. V. Onischenko

The peculiarities of formation of alcohol dependence in offspring, which mothers underwent the impact of social stress in the early pregnancy terms have been investigated in the experiments on the rats. It is shown that formation of necessity in exogenous alcohol in the stressed mothers offspring arose of rapid and physical dependence from alcohol is greater expressive, thoroughly of discounting of ethanol's and water's consumption, quantitative estimate of animals reactions on alcohol abolition. The obtained results convincingly witness that the stress of mothers in the early terms of pregnancy is a etiopathogenetic factor of offspring alcoholism.

Key words: experimental alcoholism, stress of pregnant, offspring.

ТЕРАПІЯ

ЗМІНИ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСУ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ БЕЗКАМ'ЯНИЙ ХОЛЕЦИСТИТ У ДИНАМІЦІ ЛІКУВАННЯ

В.М. Хворостінка, К.В. Вовк

Харківський державний медичний університет

Обстежено 87 хворих на хронічний безкам'яний холецистит (ХБХ) з різними варіантами дискінезій жовчного міхура. Виявлено накопичення МДА у сироватці крові і мембранах еритроцитів і зниження активності ферментів каталази та пероксидази. Зміни більш виражені у хворих із супутньою гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура. Рівень кортизолу значно підвищений у пацієнтів з гіпертонічно-гіперкінетичною дискінезією жовчного міхура внаслідок компенсаторного підвищення функції наднирників. Ці пацієнти мали низький рівень інсуліну в крові внаслідок хронічного процесу в жовчному міхурі. Виявлено порушення балансу тиреоїдних гормонів — відносний дефіцит вільного T_3 , збільшення показника T_3/T_4 , підвищення рівня ТТГ. Зміни більш виражені у хворих на ХБХ із супутньою гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура. Застосування дієтотерапії, холагогуму, церукалу, бускопану не викликає корекції цих змін. Холе-гран у середньотерапевтичних дозах усуває порушення балансу гормонів у хворих на ХБХ та коригує показники ПОЛ.

Ключові слова: хронічний безкам'яний холецистит, кортизол, інсулін, тиреоїдні гормони, холе-гран.

Гормональна система відіграє важливу роль в регуляції функціонування біліарного тракту. Дослідженнями останніх років виявлено, що нейроендокринні порушення мають неабияке значення в розвитку хронічного безкам'яного холециститу (ХБХ) — викликають розвиток дискінезій жовчовивідної системи та сприяють застою жовчі й дистрофічним змінам стінки жовчного міхура. Причиною дискінезій жовчного міхура та жовчовивідних шляхів є порушення координації нейрогормональних механізмів регуляції [1]. З'ясування конкретних нейрогормональних механізмів формування дискінезійних варіантів ХБХ є надзвичайно важливим.

Метою дослідження було визначення стану гормонального балансу у хворих на ХБХ і можливість його корекції.

Матеріал і методи. Дослідження виконувалися на базі гастроентерологічного відділення Харківської обласної клінічної лікарні. Було обстежено 87 хворих на ХБХ у віці 18–50 років, співвідношення чоловіків і жінок становило 1:5. До групи контролю увійшло 12 практично здорових осіб, розподіл за віком і статтю був аналогічний. Всі параметри досліджувалися в динаміці лікування загальноприйнятим способом протягом 14 діб. Діагноз ХБХ уточнювався на основі сукупності клініко-лабораторних, біохімічних та інструментальних методів. Досліджувалися вміст основних ферментів у сироватці крові: амінотрансфераз (АСТ і АЛТ), лактатдегідрогенази загальної (ЛДГ) та ЛДГ₅, гамма-глутаматтранспептидази (ГГТП) і лужної фосфатази (ЛФ). Визначали у сироватці крові рівень загальних ліпідів, загального і вільного холестерину, загальних фосфоліпідів, бета-ліпопротеїдів, основні показники гомеостазу глюкози (глікемічний профіль, пероральний глюкозотолерантний тест). Визначали вміст основного продукту перекисного

окиснення ліпідів (ПОЛ) — малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові та мембранах еритроцитів за методом М.С. Гончаренко і А.М. Латінової в реакції з 2-тіобарбітуровою кислотою. Оцінювали рівень основних ферментів системи антиокисного захисту (АОЗ) — пероксидази крові за методом Т.П. Попова, Л.П. Нейкової та каталази в еритроцитах крові за методом Баха. Досліджували біохімічні властивості жовчі, отриманої при дуоденальному зондуванні. У міхуровій та печінковій порціях жовчі визначали вміст білірубіну, холестерину, сумарну концентрацію жовчних кислот, холатохолестериновий коефіцієнт і ліпідний комплекс, а також рівень індикаторів запалення: С-реактивного протеїну і сіалових кислот. Функціональні та інструментальні методи дослідження включали багатомomentне дуоденальне зондування (БМДЗ), ультрасонографічне дослідження щитоподібної залози, жовчного міхура і печінки, динамічну ехосонографію з жовчогінною пробою. У всіх хворих проводилося дослідження гормонального статусу. Вміст кортизолу і гастрину оцінювали імуноферментним методом із застосуванням набору реактивів фірми «Алкор Біо», інсулін визначали радіоімунним методом з використанням стандартних наборів Інституту біофізичної хімії (Білорусь). Визначали вміст у сироватці крові вільного тироксину (vT_4), вільного трийодтироніну (vT_3), тиреотропного гормону (ТТГ) і антитіл до тиреоглобуліну (АТ-ТГ) і антитіл до тиреопероксидази (АТ-ТПО) імунолюмінесцентним методом за допомогою тест-систем BRAHMS (Henning Berlin GmbH).

Отримані результати були статистично оброблені.

Результати дослідження та їх обговорення. За результатами комплексного обстеження всі хворі на ХБХ були поділені на дві групи: до групи I

(35 чол.) увійшли хворі з гіпертонічно-гіперкінетичною дискінезією жовчного міхура; до групи II (52 пацієнти) — ті, що мали супутню гіпотонічно-гіпокінетичну дискінезію жовчного міхура.

У хворих групи I домінуючими були больовий синдром (раптові коліки у правому підребер'ї, інтенсивні, з іррадіацією у праве плече або лопатку) і нейровегетативний (пітливість, тахікардія). Пацієнти групи II скаржились переважно на тупі, постійні ниючі болі без чіткої локалізації у правому підребер'ї та виражені диспепсичні явища (нудоту, гіркоту у роті, здуття живота, запори).

У хворих групи I при БМДЗ виявлено скорочення тривалості IV фази та зменшення об'єму жовчі, що виділялась під час неї. Мала місце підвищена реактивність біліарного тракту: вже в I фазу спостерігалось збільшення виділення жовчі. Тонус сфінктера Одді був знижений, про що свідчило зменшення тривалості II фази БМДЗ. Додаткові скорочення жовчного міхура у V фазі супроводжувались збільшенням сумарного об'єму жовчі, яка виділилась у цій фазі. У хворих групи II під час БМДЗ мало місце збільшення тривалості та об'єму IV фази. Латентний період жовчного міхура значно подовжувався, нерідко доводилось додатково вводити холекінетики. Гіпертонія сфінктера Одді поєднувалась з гіпертонією сфінктера Люткенса з подовженням III фази БМДЗ. Тривалість V фази значно збільшувалась, бо тривало подальше випорожнення жовчного міхура.

У пацієнтів групи I спостерігалась активація процесів ПОЛ: підвищувався рівень МДА в мембранах еритроцитів, також виявлено зниження активності каталази та пероксидази. У хворих групи II мало місце більш виражене напруження процесів пероксидації ліпідів порівняно з хворими групи I: вміст МДА у сироватці крові та еритроцитах був достовірно вищим. Більш вираженим у хворих групи II було пригнічення активності пероксидази.

ня в міхуровій порції жовчі (С-реактивного протеїну і сіалових кислот).

Вміст антитіл до деяких антигенів щитоподібної залози у хворих на ХБХ достовірно не відрізнявся від контрольних значень. Не було виявлено порушення ультразвукової структури та розмірів щитоподібної залози.

У всіх хворих на ХБХ виявлено суттєву гіпергастринемію. Пацієнти групи II мали достовірно більш високий рівень гастрину у сироватці крові, ніж хворі групи I (табл. 1). Також у хворих на ХБХ мала місце гіперкортизолемія, більш виражена у пацієнтів групи I. Зміна рівня інсуліну у сироватці крові хворих мала інший характер: вміст інсуліну був знижений у всіх хворих, у пацієнтів групи I гіпоінсулінемія була достовірно більше вираженою.

Рівень v_{T_3} у хворих на ХБХ групи I не відрізнявся від контрольних значень. У хворих групи II спостерігалось незначне, але достовірне зниження рівня v_{T_3} у сироватці крові. Рівень v_{T_4} у сироватці крові хворих перевищував контрольні значення, але різниця була недостовірною. Показник v_{T_4}/v_{T_3} у всіх хворих на ХБХ був більший, ніж у групі контролю. У пацієнтів групи II величина даного показника була достовірно більшою, ніж у хворих групи I. Рівень ТТГ був достовірно підвищений у хворих групи II.

В залежності від застосованого способу лікування кожна група хворих була поділена на дві підгрупи, репрезентативні за основними характеристиками. Загальновідому терапію отримували 17 пацієнтів з ХБХ та гіпертонічно-гіперкінетичною дискінезією жовчного міхура (1-ша підгрупа групи I) — лікувальне харчування (стіл № 5), церукал по 10 мг тричі на день, спазмолітики та антибіотики (за показаннями); 25 пацієнтів з ХБХ та гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура (1-ша підгрупа групи II) — лікувальне харчування (стіл № 5), холагогум по 1 капсулі тричі на день, антибіотики (за показаннями). Лікування запропонованим

Таблиця 1. Показники гормонального балансу у хворих на ХБХ, ($M \pm m$)

Показник	Контроль (n=12)	Хворі на ХБХ		p ₁	p ₂	p ₃
		група I (n=35)	група II (n=52)			
Гастрин, нг/л	54,22±3,62	71,52±1,14	81,18±1,99	<0,01	<0,01	<0,05
Кортизол, нмоль/л	328,15±5,82	478,39±0,62	398,18±2,40	<0,05	<0,05	<0,05
Інсулін, пмоль/л	68,56±4,16	23,45±1,51	33,79±1,02	<0,05	<0,05	<0,05
v_{T_3} , пмоль/л	4,62±0,28	4,33±0,11	3,65±0,12	>0,5	<0,05	<0,05
v_{T_4} , пмоль/л	14,45±2,21	17,46±0,29	18,89±0,61	>0,5	>0,5	>0,5
v_{T_4}/v_{T_3}	3,21±0,07	4,07±0,09	5,27±0,11	<0,05	<0,05	<0,05
ТТГ, нмоль/л	3,31±0,44	3,75±0,39	5,48±0,31	>0,5	<0,05	<0,05
АТ-ТГ, нмоль/л	0,92±0,05	0,87±0,06	0,85±0,07	>0,5	>0,5	>0,5
АТ-ТПО, нмоль/л	0,57±0,07	0,60±0,08	0,64±0,10	>0,5	>0,5	>0,5

Примітка. p₁ — достовірність відмінності при порівнянні групи I з контролем; p₂ — групи II з контролем; p₃ — груп I та II.

У всіх обстежених хворих показники вуглеводного обміну не відрізнялись від контрольних значень, толерантність до глюкози була збережена. Негативними були й результати скринінгу відносно наявності аутоімунного тиреоїдиту або інших захворювань щитоподібної залози: рівень антитіл до її антигенів, а саме АТ-ТГ і АТ-ТПО, не був підвищений, відхилень у розмірах і структурі щитоподібної залози при її ультразвуковому скануванні не було виявлено. Наявність стадії загострення запального процесу в жовчному міхурі підтверджувалась підвищенням рівня індикаторів запален-

способом отримали 18 хворих на ХБХ з гіпертонічно-гіперкінетичною дискінезією жовчного міхура (2-га підгрупа групи I) і 27 пацієнтів з ХБХ та гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура (2-га підгрупа групи II): призначали гомеопатичний препарат «Холе-гран» у середньотерапевтичній дозі по 5 гранул тричі на день за 20 хв до їжі замість церукалу і холагогуму.

У підгрупах, де застосовувався холе-гран, по завершенні двотижневого курсу лікування прояви більшого та диспепсичного синдромів зберігалися у меншого числа пацієнтів, ніж у підгрупах, які лі-

кувалися загальновідомим способом. Холе-гран також усував мікросимптоми гіпотиреоїдного синдрому у хворих на ХБХ групи II (табл. 2).

Базисна терапія у пацієнтів групи I мала тенденцію до збільшення об'єму та тривалості IV фази БМДЗ. Тривалість II фази не збільшувалась. Терапія холе-граном супроводжувалась збільшенням тривалості II фази та більш вираженим зростанням показників IV фази. Базисна терапія у пацієнтів групи II мала лише тенденцію до зменшення тривалості IV та V фази БМДЗ та об'єму жовчі, що виділяється під час них. Тривалість II та III фази змінювалась несуттєво. Терапія із застосуванням холе-грану спричиняла більш виражене зменшення показників IV і V фази та тривалість II і III фази.

Базисна терапія не має достатнього антиоксидантного ефекту. Застосування холе-грану у хворих на ХБХ групи I викликає повну нормалізацію вмісту МДА у сироватці крові та еритроцитах і нормалізацію активності ферментів АОЗ каталази і пероксидази. Використання холе-грану у стандартних дозах у хворих на ХБХ групи II викликає вира-

жений антиоксидантний ефект, але повної нормалізації показників не відбувається.

У хворих на ХБХ груп I та II лікування загальновідомим способом не спричиняло достовірного зниження рівня гастрину у сироватці крові. Залучення до лікувального комплексу холе-грану дозволило нормалізувати рівень гастрину у пацієнтів групи I та суттєво знизити його у пацієнтів групи II, хоча контрольних значень і не було досягнуто (табл. 3). Проведене базисне лікування хворих груп I та II сприяло зменшенню рівня кортизолемії, але нормалізації показника не відбувалось. Терапія холе-граном дозволила досягти контрольних значень кортизолемії у пацієнтів групи I і близьких до нормальних величин — у хворих групи II.

Після базисного лікування у хворих групи I рівень інсуліну недостовірно підвищувався, залишаючись суттєво нижчим, ніж у здорових; у пацієнтів групи II — достовірно збільшувався, але все одно залишався достовірно меншим, ніж у контролі. По закінченні курсу терапії холе-граном у хворих групи I рівень інсуліну різко збільшувався, практич-

Таблиця 2. Частота наявності мікросимптомів гіпотиреоїдного синдрому у хворих на ХБХ в динаміці лікування

Симптоми	Група I (n=35)				Група II (n=52)			
	1-ша підгрупа (n=17)		2-га підгрупа (n=18)		1-ша підгрупа (n=25)		2-га підгрупа (n=27)	
	до лікув.	після лікув.	до лікув.	після лікув.	до лікув.	після лікув.	до лікув.	після лікув.
Запори	1	—	—	—	23	17	25	3
Стомлюваність	4	2	3	—	22	9	24	2
Зниження активності	2	1	2	—	24	12	26	—

Таблиця 3. Показники гормонального балансу у хворих на ХБХ в динаміці лікування, (M±m)

Показник	Період	Група I (n=35)		Група II (n=52)		P
		1-ша підгрупа (n=17)	2-га підгрупа (n=18)	1-ша підгрупа (n=25)	2-га підгрупа (n=27)	
Гастрин, нг/л	До лікув.	71,35±1,23	70,66±0,99	81,44±1,56	81,04±1,17	p ₁ <0,05; p ₂ <0,05
	Після лікув.	70,27±1,14 p _n >0,5	59,28±1,33 p _n <0,05	75,78±2,32 p _n >0,5	66,64±1,24 p _n <0,05	
Кортизол, нмоль/л	До лікув.	477,69±0,95	483,22±0,96	399,06±2,12	385,35±1,82	p ₁ <0,05; p ₂ <0,05
	Після лікув.	452,75±1,89 p _n <0,05	326,12±2,64 p _n <0,05	369,81±1,64 p _n <0,05	344,8±3,05 p _n <0,05	
Інсулін, пмоль/л	До лікув.	23,14±1,32	22,95±1,14	33,46±1,08	33,11±1,32	p ₁ <0,05; p ₂ >0,5
	Після лікув.	29,27±1,59 p _n >0,5	59,82±3,62 p _n <0,05	48,40±0,46 p _n <0,05	48,28±1,24 p _n <0,05	
вТ ₃ , пмоль/л	До лікув.	4,28±0,13	4,42±0,14	3,66±0,10	3,54±0,15	p ₁ >0,5; p ₂ <0,05
	Після лікув.	4,30±0,11 p _n >0,5	4,27±0,17 p _n >0,5	3,97±0,13 p _n >0,5	4,34±0,10 p _n <0,05	
вТ ₄ , пмоль/л	До лікув.	17,23±0,36	17,96±0,56	19,39±0,72	18,81±0,92	p ₁ >0,5; p ₂ <0,05
	Після лікув.	17,04±0,31 p _n >0,5	17,01±0,29 p _n >0,5	19,00±0,58 p _n >0,5	15,12±0,77 p _n <0,05	
вТ ₄ /вТ ₃	До лікув.	4,06±0,10	4,13±0,11	5,28±0,18	5,35±0,22	p ₁ >0,5; p ₂ <0,05
	Після лікув.	3,99±0,09 p _n >0,5	3,62±0,12 p _n >0,5	4,94±0,13 p _n >0,5	4,00±0,15 p _n <0,05	
ТТГ, нмоль/л	До лікув.	3,69±0,42	3,77±0,46	5,54±0,37	5,50±0,33	p ₁ >0,5; p ₂ <0,05
	Після лікув.	3,54±0,40 p _n >0,5	3,43±0,38 p _n >0,5	5,21±0,42 p _n >0,5	3,62±0,40 p _n <0,05	

Примітка. p_n — достовірність відмінності при порівнянні до та після лікування в кожній підгрупі; p₁ — при порівнянні показників після лікування між підгрупами у групі I; p₂ — при порівнянні показників після лікування між підгрупами у групі II.

но досягаючи контрольних значень, але у хворих групи II, як і при базисній терапії, вміст інсуліну збільшувався, але залишався меншим за контрольні цифри.

Застосування стандартного варіанту терапії у хворих на ХБХ групи II, де було виявлено зниження рівня vT_3 , не призвело до суттєвих змін даного показника. Лікування із застосуванням холеграну дозволило збільшити вміст vT_3 у сироватці крові. Загальновідомий варіант лікування достовірно не позначився на рівні vT_4 у хворих на ХБХ групи II. Використання холеграну викликало достовірне зниження вмісту vT_4 , хоча коливання числових значень відбувались у межах фізіологічної норми.

Базисна терапія не спричиняла достовірних змін показника vT_4/vT_3 у хворих на ХБХ ні в групі I, ні в групі II. Застосування холеграну у пацієнтів групи I супроводжувалося тенденцією (але недостовірною) до зменшення даного показника. У хворих групи II виявлено достовірне зменшення показника vT_4/vT_3 , хоча його нормалізації досягнуто не було.

Лікування хворих на ХБХ групи II загальновідомим способом не усуває підвищення рівня ТТГ. Терапія з використанням холеграну забезпечує достовірне зниження рівня ТТГ до контрольних значень. Достовірної динаміки вмісту АТ-ТГ і АТ-ТПО внаслідок лікування загальновідомим способом або із застосуванням холеграну виявлено не було.

Підвищення рівня гастрину у сироватці крові можна розцінити як компенсаторну реакцію організму, спрямовану на збільшення інтенсивності кровообігу і метаболічних процесів у гепатобіліарній зоні. Підвищення рівня кортизолу є захисною реакцією цілісного організму на локальний запальний процес. Загальновідомо про анаболічний вплив глюкокортикоїдів на печінку з посиленням глюконеогенезу, синтезу РНК і білка, активацією різних ферментних систем у гепатоцитах. Але тривала гіперкортизолемія з адаптаційного фактора перетворюється на патогенний. Надлишок ендogenous кортикостероїдів в організмі спричиняє розслаблюючу дію на гладенькі м'язи внутрішніх органів, викликає зниження їх моторики, тиску в ділянці сфінктерів і скорочення амплітуди. Гіперкортизолемія може викликати гіпокінезію жовчовивідних шляхів, застій жовчі, дисхолію та, можливо, сприяє утворенню жовчних каменів. Крім того, кортизол уповільнює перебіг запальних процесів, гальмує імунні реакції, що сприяє хронізації запального процесу в жовчовивідних шляхах [2].

Інсулін здійснює універсальний анаболічний ефект на більшість тканин організму. Він не тільки стимулює засвоєння глюкози клітинами інсулінзалежних тканин, але й посилює транспорт у клітини амінокислот, калію, стимулює синтез білка [3]. За безпосереднім впливом на трофіку тканин інсулін і кортизол є гормонами-антагоністами. Секреція інсуліну знаходиться під подвійним контролем: паравентрикуловогусним і трансгіпофізарним через систему «АКТГ-глюкокортикоїди». У міжтравний період глюкокортикоїди здатні гальмувати секрецію інсуліну [4]. Відносний дефіцит інсуліну в міжтравний період викликає гальмування трофічних процесів у тканинах, знижує репаративний потенціал, що сприяє хронізації запального процесу в жовчному міхурі та збільшує ризик літогенезу.

Фізіологічні концентрації антитіл до ТГ та ТПО в обстежених хворих дозволяють виключити супутнє аутоімунне ураження щитоподібної залози, що підтверджується відсутністю змін розмірів і ехоструктури її при ультразвуковому скануванні. Таким чином, порушення балансу тиреоїдних гормонів має нетиреоїдні причини.

У хворих на ХБХ групи II виявлено зниження рівня vT_3 на фоні нормальних концентрацій T_4 . Оскільки основним маркером гормоноутворюючої активності щитоподібної залози є рівень T_4 , можна вважати, що причиною тиреоїдного дисбалансу є не ураження щитоподібної залози, а порушення перетворення T_4 у T_3 . Причиною порушення співвідношення T_3 і T_4 може бути зміна процесу конвертації T_4 в периферичних тканинах, переважно в печінці.

Близько 20 % T_4 інактивується в печінці глюкоуроною та сірчаною кислотами з утворенням глюконатів і сульфатів, які потім виділяються у жовч. Можливо, дефіцит глюкуронової кислоти або порушення процесу кон'югації уповільнює інактивацію T_4 та сприяє збільшенню його кількості відносно рівня T_3 [5]. Збільшення продукції ТТГ можна розглядати як захисну реакцію гіпоталамо-гіпофізарної системи на зниження рівня T_3 .

Використання холеграну у хворих на ХБХ впливає на показники тиреоїдного балансу, усуваючи відносний дефіцит vT_3 і гіперпродукцію ТТГ.

Висновки та узагальнення. ХБХ супроводжується накопиченням МДА у сироватці крові і мембранах еритроцитів і зниженням активності ферментів АОЗ каталази та пероксидази. Дані зміни більш виражені у хворих на ХБХ з супутньою гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура.

Холегран у середньотерапевтичних дозах повністю нормалізує стан ПОЛ і АОЗ у хворих на ХБХ з гіпертонічно-гіперкінетичною дискінезією жовчного міхура. У хворих на ХБХ з гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура холегран у середньотерапевтичних дозах викликає достовірну антиоксидантну дію, але повної нормалізації показників ПОЛ і АОЗ не відбувається.

Підвищений рівень гастрину у сироватці крові, більш виражений у хворих на ХБХ із супутньою гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура.

У хворих на ХБХ виявлено гіперкортизолемію, більш значну при супутній гіпертонічно-гіперкінетичній дискінезії жовчного міхура, що можна вважати адаптаційним фактором.

У пацієнтів з ХБХ і гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією гіперкортизолемія виражена менше внаслідок виснаження компенсаторних можливостей наднирників.

У хворих на ХБХ знижений рівень інсулінемії натщесерце, що не приводить до порушення гомеостазу глюкози, але знижує репаративний потенціал тканин, сприяє хронізації запального процесу у жовчному міхурі.

У хворих на ХБХ із супутньою гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура виявлено зниження рівня vT_3 на фоні нормальних концентрацій вільного T_4 і збільшення показника T_3/T_4 .

Підвищений рівень ТТГ більш виражений у хворих на ХБХ із супутньою гіпотонічно-гіпокінетичною дискінезією жовчного міхура.

Холегран ефективно покращує показники гормонального балансу у хворих на ХБХ.

Список літератури

1. Масюк А.И. Гормональная регуляция желчеотделения: феноменология, возможные молекулярные механизмы. Успехи соврем. биологии 1993; 3, 1: 48–57.
2. Насонов Е.Л. Общая характеристика и механизмы действия глюкокортикоидов РМЖ 1992; 7, 8: 54–61.
3. Reaven G.M., Sauter G.P., Veveera U.F. Pathophysiology of insulin resistance in human disease. *Physiological reviews* 1995; 75: 3: 473–486.
4. Акмаев И.Г. Паравентрикуловагусный путь регуляции углеводного гомеостаза — перспективная биологическая модель в исследовании нейроиммуноэндокринных взаимодействий. Бюл. эксперим. биологии и медицины 1999; 127, 2: 124–128.
5. Jensen D. The principles of physiology. Apleton-Century-Crofts. New-York, 1990. 1027 p.

ИЗМЕНЕНИЯ ГОРМОНАЛЬНОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ БЕСКАМЕННЫМ ХОЛЕЦИСТИТОМ В ДИНАМИКЕ ЛЕЧЕНИЯ

В.Н. Хворостинка, К.В. Вовк

Обследовано 87 больных хроническим бескаменным холециститом (ХБХ) с разными вариантами дискинезий желчного пузыря. Выявлено накопление МДА в сыворотке крови и мембранах эритроцитов и снижение активности ферментов каталазы и пероксидазы. Изменения более выражены у больных с сопутствующей гипотонически-гиперкинетической дискинезией желчного пузыря. Уровень кортизола существенно повышен у пациентов с гипертонически-гиперкинетической дискинезией желчного пузыря вследствие компенсаторного повышения функции надпочечников. Эти пациенты имели сниженный уровень инсулина в крови вследствие хронического процесса в желчном пузыре. Выявлено нарушение баланса тиреоидных гормонов — относительный дефицит свободного T_3 , увеличение показателя T_3/T_4 , повышение уровня ТТГ. Изменения были более выраженными у больных ХБХ с сопутствующей гипотонически-гипокинетической дискинезией желчного пузыря. Применение диетотерапии, холагогума, церукала, бускопана не вызывало коррекции этих нарушений. Холе-гран в среднетерапевтических дозах устраняет нарушения баланса гормонов у больных ХБХ и корректирует показатели ПОЛ.

Ключевые слова: хронический бескаменный холецистит, кортизол, инсулин, тиреоидные гормоны, холе-гран.

INFLUENCE CHOLE-GRAN IN THE STATUS OF HORMONE IN PATIENTS WITH CHRONIC NONCALCULOUSIS CHOLECISTITIS

V.M. Chvorostinka, K.V. Vovk

87 patients with various dyskinesia of gall bladder chronic noncalculousis cholecistitis (CNC) were studied. It was established that MDA in blood and membranes of erythrocytes activation, activity of katalaza and peroxidaza — depressions. Changes are most demonstrated in patients with hypotonic-hypokinetic dyskinesia gall bladder. Level of cortisole was a very high in patients with hypertonic-hyperkinetic dyskinesia of gall bladder as a result of insufficiency of compensatory function of adrenal glands. Those was present low level of insulin in the blood as factor of chronic process in gallbladder. Changes of thyreoid balance are examined — deficiency free T_3 , higher T_3/T_4 and level of TTG. They are most demonstrated in patients with hypotonic-hypokinetic dyskinesia gall bladder. Used dietotherapy, chologogum, cerucal, buscopan in not corrected this changes. Chole-gran in mediumtherapeutic doses are normalization balance of hormones in patients with CNC and correction of level peroxidation.

Key words: chronic noncalculousis cholecistitis; thyreoid hormones; cortisol; insulin; Chole-gran.

ДЕЯКІ ОСОБЛИВОСТІ ПЕРЕБІГУ ХРОНІЧНОГО ХОЛЕЦИСТИТУ І ХОЛЕЛІТІАЗУ, АСОЦІЙОВАНИХ ІЗ ВНУТРІШНЬОКЛІТИННИМИ ІНФЕКЦІЯМИ ТА ЇХ ЛІКУВАННЯ

**Ю.І. Решетілов, Н.М. Проценко, Л.П. Кузнєцова, О.І. Токаренко,
М.М. Сурмило, О.О. Кремзер, О.Ю. Клавдієва**

Запорізький інститут удосконалення лікарів

Хворим із хронічним холециститом і холелітазом у сполученні з хронічним гастродуоденітом, виразковою хворобою дванадцятипалої кишки і внутрішньоклітинною інфекцією призначалося лікування, що вело до зміни функціонального стану жовчного міхура, зниженню літогенності жовчі і перериванню процесу каменеутворення. Проводилася базисна терапія і лікування імуномодуючим препаратом (циклофероном). Дози і схеми лікування залежали від активності процесу, титру антитіл.

Ключові слова: хронічний холецистит, холелітаз, внутрішньоклітинні інфекції, супутня патологія гастродуоденальної зони, циклоферон.

Виявлена чітка залежність виникнення дискинезій, хронічного холециститу (ХХ) та холелітазу (ХЛ) від перенесених гострих інфекційних захворювань (вірусний гепатит, сальмонельоз, дизентерія та інші), хронічних інфекцій (хронічний аднексит, тонзиліт, гайморит тощо), порушень біоценозу в кишечнику, алергічних реакцій, нервових розладів, зайвої маси тіла і гіперхолестеринемії [1–3]. Важливу роль у розвитку захворювань жовчного

міхура займають сенсibilізація організму до автомікрофлори, застій жовчі, зміни її фізико-біохімічних властивостей, порушення ентерогепатичної циркуляції жовчних кислот, рівень холестерину, фосфоліпідів; зміни індексу літогенності жовчі та процесу перекисного окиснення ліпідів і антиоксидантного захисту [2, 3].

Зростання числа хворих на ХЛ, кількості холецистектомій і неефективність їх у 7–20 % випадків