

чения снизились на 30% и 48%. У больных циррозом печени на фоне лечения наблюдалось заметное уменьшение ИАПТВ и тенденция к нормализации МНО.

Таким образом, комплексная терапия хронического гепатита и цирроза печени, включающая «метаболическую коррекцию», приводит к значительным позитивным сдвигам лабораторных показателей в рамках основных «печеночных синдромов» и способствует лучшей социальной и медицинской адаптации пациентов с ХЗП. Наиболее существенная роль в мониторинге эффективности терапии принадлежит рационально подобранным комплексам лабораторных тестов.

Г.В. Тимашева, Э.Ф. Репина, В.А. Мышкин, А.Б. Бакиров, Р.Р. Галимова, А.Ж. Гильманов. **Уроканиназа как биохимический маркер гепатотоксичности.** ФБУН Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека, ГБОУ ВПО «Башкирский государственный медицинский университет» Минздрава РФ, Уфа

Согласно данным литературы, у каждого третьего работника химических производств в ходе исследований выявляются отклонения биохимических «печеночных» тестов от нормы при отсутствии симптомов заболевания печени. Ряд специалистов не склонен рассматривать эти отклонения как патологические, если результаты тестов менее чем вдвое отличаются от средних в соответствующих группах населения; но такой подход приводит к игнорированию начальных форм патологии. Другие причины диагностических ошибок – использование недостаточно специфических либо малочувствительных тестов, не выявляющих патологию.

Одним из высокоспецифичных биохимических маркеров поражений печени считается сывороточная активность уроканиназы (УрН) – митохондриального фермента гепатоцитов. У практически здоровых людей и у экспериментальных животных этот фермент в крови отсутствует. Сывороточная активность УрН обнаруживается при малейшей дисфункции печеночной ткани, в том числе в ответ на стрессы, гипоксию и другие экстремальные воздействия, и достигает значительных величин при токсическом или вирусном гепатите, коррелируя с выраженностью клинических проявлений. Фермент не выявляется как в крови, так и в печени при редком наследственном заболевании – уроканинемии. В доступной литературе обнаружилась лишь одна работа, в которой активность уроканина-

зы и гистидазы использовалась для выявления гепатотоксичности препарата 2,4-Д в эксперименте на крысах.

Целью нашего исследования была оценка УрН как биохимического маркера гепатотоксичности на модели интоксикации полихлорированными бифенилами (Совтол-1), тетрачлорметаном, дихлорэтаном, 2,4-дихлорфенолом, 4-хлорфенолом, трихлорметафосом. В эксперименте на крысах, которым внутривенно вводились указанные токсиканты, оценивалась информативность ряда биохимических маркеров, отражающих метаболизм и функцию печени: АЛТ, АСТ, ЛДГ, глутаматдегидрогеназы (ГлДГ), щелочной фосфатазы (ЩФ), а также уроканиназы. Для определения активности последней в сыворотке крови использовался спектрофотометрический метод, основанный на дезаминировании гистидаина под действием гистидазы (гистидин-дезаминазы); образующаяся в ходе реакции уроканиновая (имидазол-4-акриловая) кислота под действием УрН расщепляется на глутамат и ряд других продуктов. Активность фермента (скорость реакции) определялась по количеству уроканиновой кислоты до и после инкубации с сывороткой крови.

Полученные результаты показали, что активность УрН в сыворотке крови здоровых крыс составляет $0,89 \pm 0,05$ нмоль/с · л. В условиях повреждения печени производственными токсикантами активность УрН в сыворотке крови крыс многократно возрастает: при введении полихлорированных бифенилов и тетрачлорметана – до 50–60 раз; 2,4-дихлорфенола, 4-хлорфенола и трихлорметафоса – более чем в 10 раз, что указывает на развитие тяжелого токсического гепатита. При этом активность АЛТ, АСТ и ГлДГ в сыворотке крови при воздействии перечисленных токсикантов повышалась от 1,5 до 10 раз.

Результаты проведенных исследований установили высокую значимость определения активности УрН в сыворотке крови в качестве биохимического маркера гепатотоксичности. Фермент абсолютно гепатоспецифичен, стабилен при хранении биоматериала; тест прост в исполнении, обладает высокой чувствительностью и хорошей воспроизводимостью. Определение УрН может считаться одним из лучших энзиматических тестов в гепатологии; его широкое использование сдерживается лишь отсутствием коммерческих тест-систем.

ЛАБОРАТОРНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ ПРИ ЗАБОЛЕВАНИЯХ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

В.И. Ашкинази, И.В. Маянская, Н.И. Толкачева, Е.А. Васильева, В.С. Кропотов, О.А. Тутина, Е.В. Кулакова, О.В. Шумилова. **Растворимые молекулы адгезии в патогенезе болезни Крона у детей.** ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии» Минздрава России, Нижний Новгород

Цель исследования – изучить содержание молекул клеточной адгезии, опосредующих начальный (sP-селектин) и заключительный (sPECAM-1) этап миграции лейкоцитов в очаг воспаления, а также их взаимосвязь с некоторыми медиаторами воспаления у детей с болезнью Крона.

Проведено определение содержания растворимых молекул адгезии (sP-селектин и sPECAM-1) в сыворотке крови у 87 детей в возрасте 6–17 лет, страдающих болезнью Крона (БК). На момент исследования у 42 пациентов регистрировалось обострение заболевания, у 27 – клиническое улучшение, у 18 – клиническая ремиссия. Контрольную группу составили 15 условно-здоровых детей того же возраста. Уровень молекул адгезии определяли с использованием тест-систем «Bender Medsystems». Параллельно было изучено содержание цитокинов: ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ 6, ИЛ 8, ИФН- γ («Вектор-Бест», Россия), неоптерина («Neopterin ELISA», IBL) и маннансвязывающего лектина (МСЛ) («Human MBL ELISA», Nuncult

biotech). Кислородзависимый метаболизм нейтрофилов исследовали на хемилуминометре Luminoscan Ascent.

Установлено, что у пациентов с БК во все периоды заболевания sP-селектин и sPECAM-1 присутствуют в более высоких концентрациях, чем в контрольной группе, что оказывает влияние на процесс миграции лейкоцитов в очаг воспаления для реализации своего эффекторного потенциала. У обследованных больных это подтверждалось при гистологическом исследовании биоптатов слизистой оболочки толстого кишечника, где наблюдалась выраженная воспалительная инфильтрация с преобладанием лимфоцитов, и в меньшей степени нейтрофилов и активированных макрофагов. Одновременно отмечалось усиление кислородзависимого метаболизма нейтрофильных гранулоцитов (корреляция между спонтанной продукцией кислородных радикалов и уровнем sP-селектин: $R = 0,32$; $p = 0,047$), которое может быть инициировано такими агрессивными факторами (в том числе эндогенного происхождения), как элементы поврежденных эпителиоцитов и других клеток слизистой оболочки, а также компонентами клеточных стенок бактерий – пептидогликанами, липополисахаридами, мурамилпептидами. Установлена взаимосвязь между концентрацией sP-селектин и содержанием такого маркера воспаления, как неоптерин

($R = 0,34$; $p = 0,028$), уровень которого многократно увеличивается в результате активации клеточного звена иммунитета. Также зарегистрирована корреляционная зависимость ($R = 0,27$; $p = 0,046$) между sP-селектин и активностью МСЛ, который являясь острофазовым белком, вырабатывается в ответ на аварийную ситуацию по сигналу, подаваемому цитокинами, связывая углеводы поверхностных структур микробных клеток. МСЛ способен активировать лектиновый путь комплемента, либо непосредственно опсонизировать микроорганизмы, усиливая фагоцитоз. Важнейшую роль в экспрессии мембранных антигенов играют провоспалительные цитокины, в частности: ФНО α , ИЛ-1 β , ИЛ-6, ИЛ-8, ИФН- γ . Показано, что в период обострения и клинического улучшения имела место корреляция только между указанными адгезивными молекулами и ФНО- α ($R = 0,25$ – $0,36$; $p = 0,048$ – $0,003$). Выявленный факт не является случайным, поскольку известно, что при болезни Крона в слизистой оболочке кишечника отмечается накопление Т-лимфоцитов и активированных макрофагов, что приводит к повышенной продукции медиаторов воспаления – провоспалительных цитокинов, и в первую очередь ФНО α . Таким образом, увеличение концентрации sP-селектин и sPESAM-1 в сыворотке крови отражает их участие в патогенезе болезни Крона, что подтверждается взаимосвязями с такими воспалительными факторами, как ФНО α , свободные радикалы, неоптерин, маннан-связывающий лектин.

О.В. Завьялова, Н.Б. Захарова, Ю.М. Стиваковский. Фактор роста эндотелия сосудов при хронических воспалительных заболеваниях гастроэнтеральной зоны у детей. ГБОУ ВПО Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского Минздрава России

Хронические воспалительные заболевания гастроэнтеральной зоны (ГЗ) у детей по-прежнему остаются актуальной проблемой современной педиатрии. Это обусловлено их широкой распространенностью, склонностью к хроническому рецидивирующему течению, приводящему в дальнейшем к инвалидизации.

Существует множество факторов как экзогенного, так и эндогенного происхождения, влияющих на развитие и течение воспалительного процесса в слизистой оболочке желудка (СОЖ) и двенадцатиперстной кишки (ДПК). Несмотря на успехи, достигнутые в изучении формирования данных заболеваний, многие аспекты их патофизиологии недостаточно исследованы. Хроническое воспаление в СОЖ и ДПК характеризуется нарушением физиологической регенерации и местными нарушениями микроциркуляции. В результате создаются неблагоприятные условия для агрессивного воздействия кислотно-пептического фактора на ограниченном участке ГЗ с пониженной резистентностью.

В результате прогрессирования воспаления закономерно возникают повреждения эпителия посредством индукции апоптоза эпителиоцитов СОЖ или развития некрозов с образованием эрозий и язв на СОЖ или СО ДПК, опосредованных активными формами кислорода и оксидом азота нейтрофилов. В результате нарушения микроциркуляции возникающая локальная ишемия в слизистой оболочке желудка, стимулирует выработку различными типами клеток васкулоэндотелиального фактора роста (VEGF), который является ключевым фактором ангиогенеза. В настоящее время активно исследуется роль ангиогенеза в процессе воспаления.

Цель исследования – оценить изменения содержания VEGF в сыворотке крови у детей с хроническим гастроэнтеритом, язвенно-эрозивными поражениями ГЗ.

В исследование были включены 67 пациентов в возрасте от 9 до 16 лет, средний возраст составил $13 \pm 1,3$, находившиеся на стационарном обследовании и лечении в клинике госпитальной педиатрии клинической больницы им. С.Р. Миротворцева ГБОУ ВПО «Саратовский ГМУ им. В.И. Разумовского» Минздрава России в период 2011–2013 гг. В зависимости от установленного диагноза все больные ($n = 67$) были распределены на три группы. Первую группу состави-

ли дети с ЯБ ДПК ($n = 8$), вторую группу – дети с эрозивным гастроэнтеритом ($n = 12$), третью группу – дети с хроническим неатрофическим гастроэнтеритом ($n = 47$). Группу сравнения по показателям VEGF сыворотки крови составили 20 клинически здоровых детей.

Больным проводилось общеклиническое обследование, внутритрицеводная рН-метрия, эзофагогастроэнтероскопия. Концентрацию VEGF в сыворотке крови и желудочном соке определяли твердофазным иммуноферментным методом с использованием реагентов ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск) на иммуноферментном анализаторе «Stat-Fax 2010» (США). Результаты выражали в пг/л.

В период обострения заболевания наибольший уровень показателя VEGF выявлен в крови у детей с ЯБ ДПК (Me 670 пг/л, С25 302 пг/л, С75 1360 пг/л) и эрозивным гастроэнтеритом (Me 218 пг/л, С25 101 пг/л, С75 439 пг/л), что превысило аналогичные показатели группы условно здоровых детей (Me 132,2 пг/л, С25 78,9 пг/л, С75 169,7 пг/л) в 5 раз и в 1,6 раз соответственно ($p < 0,05$, $p = 0,001$ и $p = 0,015$). Сравнение показателей в зависимости от этиологии хронического гастроэнтерита выявило большую концентрацию VEGF в сыворотке крови при HP ассоциированном гастроэнтерите.

Проведенное исследование показало, что обострение ЯБ ДПК, эрозивного гастроэнтерита сопровождается увеличением концентрации VEGF в биологических жидкостях, что подтверждает роль VEGF в патогенезе развития язвенно-эрозивных поражений ГЗ. Локальная ишемия в слизистой оболочке желудка стимулирует выработку различными типами клеток VEGF. Можно предположить, что активация ангиогенеза имеет значение в репарации поврежденных структур СОЖ и СО ДПК. Репарация таких повреждений осуществляется в виде саморегуляции интенсивности воспалительных реакций и активности регенераторных процессов в поврежденной ткани.

В.С. Кропотов, Е.А. Васильева, И.В. Маянская, Л.В. Короташвили, С.А. Колесов. Активность дермальных фибробластов у детей с воспалительными заболеваниями кишечника. ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии» Минздрава России, Нижний Новгород

Фибробласты – активные продуценты большого количества биологически активных компонентов, оказывающих влияние на процессы воспаления и регенерации в тканях. Значимость исследований белкового спектра фибробластов и продуцируемых ими компонентов определяется возможностью применения новейших технологических платформ и биоинформационных подходов в диагностике различных заболеваний, выяснении закономерностей функционирования клеток и открытием новых молекулярных мишеней для лекарственных соединений.

Цель исследования – определить спектр биологически-активных компонентов, выделяемых дермальными фибробластами и исследовать их фенотип в ходе многократного пассирования у детей с хроническими воспалительными заболеваниями кишечника.

Объектом исследования были супернатанты (СН) четырех культур фибробластов, полученных из биоптатов кожи пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника и условно здоровых детей (от детей и их родителей было получено информированное согласие). Клетки культивировали согласно стандартному протоколу до 6 пассажей. СН каждого пассажа отбирали и анализировали методом масс-спектрометрического анализа MALDI-TOF (матричной лазерной десорбционно-ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии) на времяпролетном спектрометре Bruker Autoflex (США). Полученные масс-спектры от каждого пассажа были сгруппированы по молекулярным массам в несколько кластеров.

Фенотипирование клеток проводили на проточном цитофлуориметре BD FACS Cantu II (Becton, Dickinson and Company, США). Определялась экспрессия CD73, CD90,

CD105, CD44, CD13; в качестве негативного контроля использовались CD11b, CD19, CD34, CD45, HLA-DR.

По результатам фенотипирования фибробластов у больных детей по сравнению с условно здоровыми регистрировали увеличение экспрессии CD90 в первом пассаже в 1,5 раза, в остальных пассажах значимых различий не наблюдалось; экспрессия CD73 оставалась на одном уровне с условно здоровыми на всех пассажах. В экспрессии CD44 и CD13 была зарегистрирована сниженная экспрессия в 1,6 раза до 3 пассажа. С 4 пассажа значения статистически не отличались от показателей условно здоровых детей. Протеиновый спектр у больных детей значимо отличался от здоровых. В первом пассаже наиболее выделялась разница в кластере «от 0,8 кДа до 3,3 кДа» и в кластере «более 16,6 кДа» – более чем в два раза. Во втором пассаже – в кластере «от 3,3 кДа до 6,00 кДа» и в кластере «от 11 кДа до 16,6 кДа» в два раза; в кластере «от 6 кДа до 11 кДа» – в 3 раза. В третьем пассаже в кластере «от 0,8 кДа до 3,3 кДа» выявили различие в 2,6 раза, в кластере «от 3,3 кДа до 6,00 кДа» – 8 раз и в кластере «более 16,6 кДа» – в 1,94 раза. К 4 пассажиру разница была не столь существенна и сохраняла высокие значения только в кластере «от 3,3 кДа до 6,00 кДа» – в 5 раз. К 5 пассажиру она выражалась только в кластере «от 3,3 кДа до 6,00 кДа» – в 2 раза. В 6 пассаже различий в белковых спектрах больных и условно здоровых детей не выявлено.

Активность, которую мы наблюдали у дермальных фибробластов больных в виде повышенной секреции белковых молекул с различным молекулярным весом, может свидетельствовать о наличии воспалительного процесса в кишечнике.

Ж.Г. Симонова, А.К. Мартусевич, О.И. Шубина. Саливадиагностика в оценке эффективности эрадикационной терапии у пациентов с коморбидной патологией. ГБОУ ВПО Кировская ГМА Минздрава России; ФГБУ «ННИИТО» Минздрава России, Нижний Новгород

В настоящее время затруднительным является вопрос неинвазивного контроля эффективности эрадикации *Helicobacter pylori*, т. к. наиболее часто для этой цели в клинической практике применяется определение уровня антихеликобактерных антител, в то время как арсенал иных диагностических технологий включает лишь быстрый уреазный тест и некоторые др. Ранее нами показано, что кристаллогенные свойства биологических жидкостей при язвенной болезни существенно трансформируются, причем эти изменения касаются не только сыворотки крови, но и слюны пациентов, исследование которой служит базисом инновационной технологии – саливадиагностики. В связи с этим целью работы служило исследование преобразования характера дегидратационной структуризации слюны пациентов с ишемической болезнью сердца (ИБС) в сочетании с язвенной болезнью (ЯБ) в динамике эрадикационной терапии.

Под наблюдением находились 112 больных ИБС с сочетанием ЯБ (89 мужчин и 23 женщины; средний возраст – 57,2 ± 3,1 лет). Пациенты первой основной группы ($n = 81$) получали стандартную антихеликобактерную терапию первой линии в соответствии с Маастрихтским консенсусом-3 (2005). Пациенты второй основной группы ($n = 31$) получали только антисекреторную терапию (омез 20 мг 2 раза в день). Группу сравнения составили 20 практически здоровых людей, у которых было верифицировано отсутствие гастродуоденальной патологии. Образцы слюны исследовали согласно методике тизиокристаллоскопии (Мартусевич А.К., Гришина А.А., 2009). Статистическую обработку проводили с помощью программы Statistica 6.0.

Установлено, что до начала эрадикационной терапии фации слюны пациентов обеих основных групп характеризовались низким кристаллогенным потенциалом (кристаллизуемость – 0,48 ± 0,24 усл. ед., в норме – 2,16 ± 0,18 2,31 ± 0,24 усл. ед.; $p < 0,05$), преобладанием одиночно-кристаллических элементов (индекс структурности 1,13 ± 0,22 усл. ед., в норме – 2,31 ± 0,24 усл. ед.; $p < 0,05$), высокой степенью их деструкции и снижением четкости краевой белковой зоны по сравнению с практически здоровыми людьми. Это косвенно указы-

вает на значительные вариации физико-химических свойств изучаемой биожидкости при сочетанной патологии.

На основании проведенных исследований также выявлено, что проведение полноценной эрадикации способствовало нормализации кристаллогенной активности биожидкости, что нашло отражение в соответствующих преобразованиях ее свободного кристаллогенеза, сопровождаясь нарастанием количества дендритных элементов и снижением степени деструкции структур слюны ($p < 0,05$ по всем основным показателям). Использование только антисекреторной терапии демонстрирует аналогичные, но менее выраженные тенденции, что косвенно подтверждает наличие лишь частичного восстановления качественного и количественного состава биосубстрата при этом варианте лечения.

Аналогичные тенденции были выявлены и при исследовании инициированного кристаллогенеза ротовой жидкости пациентов. Так, проведение только антисекреторной терапии способствовало лишь частичной нормализации инициаторного потенциала изучаемого биологического субстрата, тогда как осуществление полноценной эрадикационной терапии приводило к максимальной оптимизации тезиграмм слюны. Это наиболее четко просматривается в отношении тезиграфического индекса, кристалличности фации биосреды и степени деструкции структурных элементов.

Таким образом, на основании проведенных исследований показана информативность кристаллосаливамониторинга при оценке эффективности медикаментозного лечения сочетанной патологии.

Н.И. Толкачева, И.В. Маянская, В.И. Ашкинази, И.Д. Успенская, Е.А. Васильева, О.А. Тутина, Г.В. Медянцева, В.С. Кропотов. Аутоантитела при патологии кишечника у детей. ФГБУ «Нижегородский научно-исследовательский институт детской гастроэнтерологии» Минздрава России, Нижний Новгород

Проведено исследование содержания циркулирующих в крови аутоиммунных компонентов: антинейтрофильные цитоплазматические антитела (ANCA-screen – антигены PR3, MPO) и антитела к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA) класса IgG и IgA у детей с хроническими воспалительными заболеваниями толстой кишки, а также антитела IgG и IgA к тканевой трансглутаминазе (tTG) у детей с патологией тонкой кишки.

Обследован 141 ребенок в возрасте от 3 до 17 лет, в том числе 64 пациента с язвенным колитом (ЯК), 32 – с болезнью Крона (БК), 45 – с целиакией. Уровень аутоантител определяли методом ИФА с использованием тест-систем «Orgentec» Германия.

У 39 детей из 64 с язвенным колитом (60,9%) выявлен повышенный уровень циркулирующих антинейтрофильных антител при средней концентрации коэффициента позитивности аутоантител $2,17 \pm 0,24$ в сравнении с таковым показателем у детей с болезнью Крона – $0,54 \pm 0,04$, $p < 0,001$. В отношении циркуляции антител к *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), наоборот, повышение концентрации отмечалось у детей с БК: IgG-ASCA – $46,97 \pm 9,23$ Ед/мл, IgA-ASCA – $50,49 \pm 2,9$ Ед/мл, у детей с ЯК соответственно – $3,97 \pm 0,34$ Ед/мл и $2,11 \pm 0,2$ Ед/мл, $p < 0,001$. При целиакии содержание специфических для этого заболевания аутоантител к тканевой трансглутаминазе составило в среднем: IgA-tTG – $87,94 \pm 16,9$ Ед/мл, IgG-tTG – $39,59 \pm 11,0$ Ед/мл (в норме < 10 Ед/мл). Максимальная концентрация аутоантител была 100–360 Ед/мл.

Таким образом, при язвенном колите на первом месте по количеству и частоте встречаемости (61%) регистрируются антинейтрофильные цитоплазматические антитела, при болезни Крона – антитела к *Saccharomyces cerevisiae* (71%), что подтверждает литературные данные о диагностической значимости ANCA и ASCA при воспалительных заболеваниях кишечника. Для целиакии характерна увеличенная концентрация антител к тканевой трансглутаминазе. Своевременное выявление циркулирующих патологических аутоантител способствует ранней диагностике аутоиммунных проявлений при патологии кишечника у детей.