

тромбин-III и протеина C), что связано с истощением их резервного потенциала. Данные изменения на фоне усиленной пристеночной и внутрисосудистой активации свертывания в условиях выраженного эндотелиоза определяют более выраженную степень тромбинемии, что подтверждается микротромбическими и реологическими сдвигами и способствует развитию атеротромботического ремоделирования сосудистой стенки.

Изменения в состоянии системного гемостаза при ВБ заключались в усилении нарушений контактной и пристеночной функции тромбоцитов (ТР) в сравнении с контрольными значениями на индукторах коллагена и фибрина. Увеличение агрегационной функции тромбоцитов обнаружено практически на все используемые в стандартных разведениях физиологические индукторы агрегации (АДФ, адреналин, коллаген, тромбин) по сравнению с контролем ($p < 0,05$). Кроме того, аналогичный сдвиг выявлен и при применении нефизиологического агониста агрегации – ристомидина/ристоцетина. Это можно объяснить активацией реакции генерации ффВ в эндотелиоцитах с закономерным усилением пристеночного (преэндотелиального) свертывания и развитием эндотелиоза. Гиперагрегация фибрином увеличивает суммарные реакции высвобождения из ТР, содержащее их гранул, за счет активации реакций дегрануляции. У больных ВБ в сочетании с АГ и АТ имеет место нарушение конечных этапов свертывания крови, выражающееся ускорением совокупных реакций фиброгенеза и фибриногенеза. При этом активность плазменных факторов изменена незначительно. Одновременно выявлено увеличение фактора фон Виллебранда в плазме крови, что в сочетании с указанными выше дефектами свидетельствует об изменении функциональной активности ТР у больных ВБ.

При ВБ в сочетании с АГ и АТ усиливается спонтанная агрегация ТР. При сочетании ВБ и АГ усилена тромбин-агрегация. Эти изменения более значимо выражены и сочетаются с активацией внутрисосудистого свертывания суммарной гиперкоагуляцией (АПТВ, АПВ), гиперфибринемией, системной тромбинемией. При ВБ в сочетании с АГ и АТ имеет место достоверное угнетение XII а-зависимого фибринолиза и увеличение ффВ, приводящее к гиперактивации, гиперагрегации и повышению адгезивного потенциала ТР, что наряду с биохимическими изменениями приводит к системному атеротромбозу. Вместе с тем реакции ауто- и гетерополимеризации фибрин-мономеров оказались ослабленными ($p < 0,05$), что с учетом диагностических возможностей этих методов позволяет определить в группе с сочетанным вариантом ВБ нарушения на конечном этапе свертывания крови в виде дисфибриногенемии. Наличие последней подтверждается удлинением по сравнению с контролем ацистродонового времени, характеризующего свертывание фибриногена под влиянием яда щитомордника обыкновенного, индуцирующего отщепление фибринопептидов А от зрелых α -цепей молекулы гликопротеида. Изменения конечного этапа свертывания крови, затронули лишь группу 3, что выражается в усилении продукции фибриногена и продукции мономеров фибрина (РФМК, Д-димеры), в развитии реактивной тромбинемии и ингибиторного угнетения свертывания крови (по данным антистродонового теста).

Заключение. У больных ВБ в сочетании с АГ и АТ выявлены нарушения системного гемостаза. Определена гиперактивация тромбоцитов и их функционального состояния. Гиперагрегация, нарушение плазменно-коагуляционного гемостаза заключались в удлинении ПТ времени, угнетении фибринолиза и снижении антикоагуляционных факторов (протеин С), повышении фактора фон Виллебранда. Кроме того, изменения в конечном этапе свертывания крови и фибринолизе, приводят к тенденции в активации образования фибрина и тромбина, активации коагуляционного тромбообразования в сосудистом микроциркуляторном бассейне, снижению выработки в эндотелиоцитах фактора Хагемана и тканевого активатора плазминогена. Умеренное угнетение коагуляционной фибринолитической активности плазмы ведет к усилению локального тромбообразования. В активации локального тромбообразования имеют значение изменения в конечном этапе свертывания крови, тенденция к развитию реактивной тромбофилии (увеличение РФМК в плазме, увеличение продуктов деградации фибрина и Д димеров), а также при ЭД возникает истощение антикоагулянтного резерва (снижение антитромбина III, протеина С), приводящее к развитию тромбофилических состояний в рамках атеросклероза на фоне системных ангиопатий при вибрационной болезни, что способствует прогрессированию

как основного заболевания, так и сопутствующей сердечно-сосудистой патологии.

Литература

1. Артамонова В.Г. и др. // Медицина труда и промышленная экология. – 2000. – №2. – С.1–4.
2. Баркаган З.С. и др. // Патология кровообращения и кардиохирургия. – 2002. – № 1. – С. 65–71.
3. Баркаган З.С. и др. Бюлл. СО РАМН. – 2002. – № 2(104). – С. 51–55.
4. Потеряева Е.Л. Вибрационные ангиопатии: патогенез, клинко-морфологические особенности и лечение (клинко-экспериментальное исследование): Автореф. дис...док. мед. наук. – Новосибирск, 2000. – 43 с.
5. Гогин Е.Е. Гипертоническая болезнь. – М., 1999. – 289 с.
6. Blackburn G.F. et al. // Clin.Chem. – 1999. – Vol.37. – P.534.
7. Ignarro L.J. et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2003. – Vol.84. – P.9265–9269.
8. Bautista A.P. et al. // Am. J. Physiol. – 2002. – Vol.261. – P.891–895.
9. Lefer D.J. et al. // Methods Findings in Experimental Clinical Pharmacol. – 2001. – Vol.15(9). – P.617–622.

УДК 616.596-002.892-097-08

АКТИВАЦИЯ КОМПОНЕНТОВ КОМПЛЕМЕНТА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ У БОЛЬНЫХ ОНИХОМИКОЗОМ НА ФОНЕ СОЧЕТАННОГО ПРИМЕНЕНИЯ АНТИМИКОТИКА И ИММУНОМОДУЛЯТОРА

С.М. АЛЕКСАНДРОВА, А.В. КАРПОВ, С.Г. ЛЫКОВА, Ю.В. НАЧАРОВ*

Актуальной проблемой микологии остается терапия пациентов, страдающих онихомикозами, заболеваемость которыми не имеет тенденции к снижению. Сложилась устойчивая тенденция к патогенетической значимости иммунологических нарушений при микотической инфекции. Методы специфической терапии предусматривают воздействие на этиологический фактор, но не всегда учитываются патогенетические механизмы заболевания, что нередко усугубляет течение микотического процесса и ослабляет иммунный ответ организма.

Цель работы – изучение роли комплемента, его вклада в системный воспалительный ответ в патогенезе микозов.

Воспалительная реакция, опосредуется активацией комплемента. Начинается активация комплемента по альтернативному пути. C3bBb закрепляется на поверхности антигена и расщепляет большие количества C3. Фрагмент C3a выделяется, а многочисленные молекулы C3b связываются с антигеном. Это активирует следующий этап с образованием C5a и МАК. Далее C3a и C5a способствуют высвобождению медиаторов из тучных клеток и вместе с ними вовлекают полиморфно-ядерные нейтрофилы и другие компоненты системы комплемента в очаг повреждения. Все это вызывает расслабление стенок артерий и ведет к усилению кровотока и расширению мелких сосудов, в то время как сокращение клеток эндотелия капилляров позволяет выходить белкам плазмы из сосудов. Нейтрофилы замедляют движение у стенок капилляров, проникают в отверстия между эндотелиальными клетками (диapedез) и перемещаются по градиенту концентрации хемотаксических факторов до тех пор, пока не окажутся лицом к лицу с антигеном, покрытым C3b. Далее происходит связывание антигена (поврежденных клеток) с C3b-рецепторами нейтрофила, C3a и C5a активируют клеточное дыхание [1, 6].

Система комплемента может действовать тремя способами: через хемотаксис – компоненты (факторы) комплемента могут привлекать иммунные клетки, которые атакуют бактерии или антиген и пожирают их (фагоцитируют); через лизис: компоненты комплемента присоединяются к бактериальным мембранам, из-за чего образуется отверстие в мембране и бактерия лизируется; через опсонизацию: компоненты комплемента присоединяются к антигену, образуется метка для узнавания фагоцитирующими клетками (например, макрофагами и лейкоцитами) имеющими рецепторы к компонентам комплемента [4–5].

* ГОУ ВПО Новосибирский ГМУ Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию, г. Новосибирск

Таблица

Содержание компонентов комплемента в сыворотке крови (мг/л) у больных онихомикозом на различных этапах лечения

Период наблюдения	Дистальная подногтевая форма		Тотальная дистрофическая форма	
	1А группа	1Б группа	2А группа	2Б группа
С3 компонент комплемента				
Доноры	6,3±0,68			
При первичном обращении	4,1±0,33 ¹			
Через 3 месяца лечения	5,9±0,46 ²	6,9±0,50 ²	3,9±0,34 ^{1,2,3}	8,9±0,47 ^{1,2,3}
Через 6 месяцев после лечения	6,4±0,58 ²	8,3±0,51 ^{1,2,3}	4,8±0,33 ^{1,2}	11,6±0,72 ^{1,2,3}
С4 компонент комплемента				
Доноры	2,97±0,32			
При первичном обращении	1,6±0,12 ¹			
Через 3 месяца лечения	3,5±0,31 ²	4,2±0,33 ^{1,2}	2,8±0,21 ²	3,9±0,27 ^{1,2}
Через 6 месяцев после лечения	4,1±0,30 ^{1,2}	6,7±0,58 ^{1,2,3}	3,9±0,32 ²	6,3±0,47 ^{1,2}

Примечание: 1 – обозначены значения, достоверно отличающиеся от показателей доноров; 2 – обозначены значения, достоверно отличающиеся от исходного уровня; 3 – обозначены значения, достоверно отличающиеся от показателей 1-й или 2-й А групп.

Содержание С3 и С4 компонентов комплемента в сыворотке крови у больных ОМ обеих групп был достоверно ниже соответствующих контрольных значений. Снижение их уровней может быть связано с нарушением функций печени, синтезирующей большинство компонентов. Возможно повышение потребления комплемента, которое обусловлено избыточным содержанием иммунных комплексов, аутоиммунными процессами [9, 7, 3, 8].

В последующие сроки исследования концентрация С3 в сыворотке крови у лиц 1-й группы, получавших системный антимикотик, не отличалась от контроля, но была достоверно выше исходного значения. В то же время у больных 2-й группы значение этого показателя оставалось ниже контроля и показателей в 1-й группе. Это может быть связано с повышенным потреблением данного компонента комплемента у больных с более выраженной активностью воспалительного процесса ОМ. В этот период исследования содержание С3 компонента оставалось достоверно ниже контроля и ниже значений в группах сравнения. Вероятно, это связано с меньшей функциональной активностью нейтрофилов у больных этих групп и снижением активации системы комплемента. При этом концентрация С4 компонента комплемента во всех группах оставалась ниже контроля.

Содержание С3 у больных обеими формами ОМ, получавших только антимикотик, почти не менялось: в 1-й группе оно не отличалось от контроля, но становилось выше исходного; во 2-й – оставалось ниже контроля и в 1-й группе. При этом концентрация С4 компонента в эти периоды исследования не отличалась от контроля (за исключением 1А группы через 6 месяцев после лечения), но превышала исходные значения.

На фоне применения иммуномодулятора содержание С3 и С4 компонентов комплемента в эти периоды исследования у больных 1-й и 2-й групп прогрессивно повышалось и через 6 месяцев после лечения было существенно выше контроля, соответствующего исходного значения и показателей групп сравнения. Одновременное определение С3с (активизированного С3) и С4 позволяет установить активацию комплемента по классическому или альтернативному пути, что имеет важное практическое значение. Уровень С3 и С4 отражает баланс между процессом связывания комплемента и иммунных комплексов, повышение их синтеза в ходе реакции острой фазы [2].

Литература

1. Назаров П.Г. Реактанты острой фазы воспаления. – СПб.: Наука, 2001. – 423с.
2. Abdelmoor A. et al // Clin. Molec. Allergy. – 2004. – Vol. 2. – P. 6.
3. Fosse E. et al // Injury. – 1998. – Vol. 29, № 7. – P. 509–514.
4. Freitas R.A. Nanomedicine. Volume IIA: Biocompatibility. – Landes Bioscience, Georgetown, TX. – 2003. – P. 579–582.
5. Gabay C. et al // N. Engl. J. Med. – 1999. – Vol. 340, № 6. – P. 448–454.
6. Kirschfink M. et al // Clin. Diagn. Lab. Immunol. – 2003. – Vol. 10. – № 6. – P. 982–989.
7. Ogle, C.K. et al // J. Trauma. – 1989. – Vol. 29, № 2. – P. 189.
8. Peng S.M. et al // Zhongguo. Zhong. Xi Yi Jie He Za Zhi. – 2002. – Vol. 22. – № 4. – P. 264–266.
9. Tennenberg, S. et al // Arch. Surg. – 1987. – Vol. 1, Issue 1. – P. 26–32.

Материал и методы исследования. Работа выполнена на кафедрах патофизиологии и дерматовенерологии лечебного факультета Новосибирского ГМУ. Был отобран 71 мужчина и 59 женщины с наиболее часто встречающимися формами онихомикоза: дистально-латеральной подногтевой и тотальной дистрофической. Были сформированы следующие группы, рандомизированные по возрасту и форме онихомикоза: 1А группа (42) – лица с дистально-латеральной подногтевой формой онихомикоза, получавшие терапию системным антимикотиком; 1Б группа (34) – лица с дистально-латеральной подногтевой формой онихомикоза, которые получали терапию системным антимикотиком и иммуномодулятором; 2А группа (30) – лица с тотальной дистрофической формой онихомикоза, получавшие терапию системным антимикотиком; 2Б группа (24) – лица с тотальной дистрофической формой онихомикоза, которые получали терапию системным антимикотиком и иммуномодулятором; 3 группа (30) – контроль, здоровые доноры.

Критерии включения: возраст 30–60 лет; онихомикоз подтвержден результатами микроскопии и культурального исследования; клиническая картина, соответствующая диапазону значений КИОТЭС 9–12 (при расчете по округленным показателям клинического и ростового индекса); лица, ранее не принимавшие системные антимикотики; информированное согласие.

Критерии исключения: беременность и лактация; тяжелые сопутствующие заболевания основных систем органов (респираторные, сердечно-сосудистые, желудочно-кишечные, эндокринные, иммунные, нервные, психические, заболевания крови) в стадии обострения; инфекции; наркомания, алкоголизм; аллергодерматозы; состояния, при которых имеются противопоказания к назначению системных антимикотиков и иммуномодуляторов.

Клинические проявления онихомикоза подтверждали с помощью микроскопического и бактериологического исследований.

После постановки клинического диагноза: «Онихомикоз» – на основании положительных результатов микроскопического исследования пациенты получали местную антимикотическую терапию 1% раствором «Экзодерила» (нафтифин).

Системная антимикотическая терапия проводилась итраконазолом («Орунгалом») по схеме пульс-терапии: по 1 капсуле (200мг) утром и вечером после приема пищи в суточной дозе 400 мг в течение 1 недели с последующим 3-недельным перерывом (всего 3 пульса). В качестве иммуномодулятора был выбран нуклеинат натрия, который назначался по 500 мг. 3 раза в день в течение 10 дней. Курс терапии проводился 3-кратно с интервалом в 3 недели.

Для получения тестируемых сывороток производился забор венозной крови по стандартной методике, давали свернуться в течение 2 часов при комнатной температуре, затем охлаждали и вращали на центрифуге ОПН-3 при 1500 об/мин в течение 10 мин. Сыворотку отсасывали, разливали по аликвотам и хранили в жидком азоте до изучения ее флорогенной активности, определения концентрации NO и содержания цитокинов.

Определение концентраций С3 и С4 компонентов комплемента в сыворотке крови. Для этого использовали иммунотурбидиметрический метод. Рассчитывали с применением калибровочной кривой, построенной по разведениям калибратора.

Буфер (реагент 1) готов к употреблению. Антисыворотка (реагент 2) разводится буфером перед определением в соотношении 1:41. Пробы и контроли разводят физраствором в соотношении 1:21. После инкубации в течение 10 минут при 37°С производится измерение при 340 нм против бланка по реагенту. Строится калибровочная кривая зависимости уровня компонентов комплемента от абсорбции. Определение производилось с помощью коммерческих наборов фирмы «SPINREACT» Испания. Измерение вели с помощью лабораторной системы MultiScan MC 340 (Финляндия). Содержание С3 и С4 выражалось в г/л.

Результаты исследования. Пациенты всех клинических групп находились под наблюдением в течение 9 месяцев.

Полное клинико-этиологическое выздоровление констатировано в группах 1А, 1Б и 2Б в 100% случаев, причем в 1Б и 2Б группах при дополнительном применении иммуномодулятора оно наступало раньше. У лиц с тотальной дистрофической формой онихомикоза (2А группа), которые принимали антимикотическую терапию, клинико-этиологическое выздоровление наблюдалось в 90% случаев, а у 10% лиц на фоне отрицательных результатов микроскопических и культуральных анализов оставались проявления онихомикоза.