

© ВИННИК Ю.С., АКСЮТЕНКО А.Н., ТЯПКИН С.И., ТЕПЛЯКОВА О.В.

УДК 616.381-002-085:612.223.12

ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ МЕТОДИК ЛОКАЛЬНОЙ И СИСТЕМНОЙ ОЗОНОТЕРАПИИ В ЛЕЧЕНИИ РАСПРОСТРАНЕННОГО ПЕРИТОНИТА

Ю.С.Винник, А.Н. Аксютенко, С.И. Тяпкин, О.В.Теплякова

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.

Войно-Ясенецкого, ректор – д.м.н., проф. И.П. Артюхов;

кафедра общей хирургии, зав. – д.м.н., проф. Ю.С. Винник.

***Резюме.** В работе представлены современные сведения, касающиеся основных механизмов действия и биологических эффектов медицинского озона, локального и системного применения методов озонотерапии в комплексном лечении больных с распространенным перитонитом. Описаны конкретные методики озонотерапии, их эффективность, подтвержденная как на экспериментальных животных, так и результатами внедрения в клиническую практику.*

***Ключевые слова:** озон, перитонит, озонированный физиологический раствор, локальная озонотерапия, системная озонотерапия.*

Винник Юрий Семенович – акад. РАЕН, д.м.н., проф., зав. каф. общей хирургии КрасГМУ; тел. 8 (391) 2623039.

Аксютенко Анна Николаевна – клинический ординатор каф. общей хирургии КрасГМУ; e-mail: aksjutenko@rambler.ru.

Тяпкин Сергей Игнатьевич – зав. отделением гнойной хирургии МУЗ Городская клиническая больница №6 им. Н.С. Карповича, Красноярск; тел. 8(391)2469407.

Несмотря на постоянное совершенствование методов хирургического лечения и интенсивной терапии, внедрение в клиническую практику новейших технологий и современных лекарственных препаратов, распространенный перитонит до настоящего времени остается одним из самых частых и грозных осложнений в абдоминальной хирургии [1, 4, 5, 8, 13, 16, 19]. Средние показатели летальности при распространенном перитоните удерживаются на уровне 20-30%, достигая при наиболее тяжелых его формах 50-70%, и не имеют существенной тенденции к снижению на протяжении последних десятилетий [10, 13, 14, 17, 22]. В связи с этим, проблема разработки и внедрения в клиническую практику новых подходов к решению вопросов по улучшению результатов лечения перитонита сохраняет свою актуальность.

Перспективным в этом направлении является применение методик локального и системного использования озонотерапии. Благодаря широкому диапазону лечебных свойств озона, проявляющихся в антиоксидантном, антигипоксанта, бактерицидном, противовоспалительном, иммуномодулирующем и анальгезирующем воздействии, озонотерапия заслуженно получает все большее распространение в лечении острой хирургической патологии, в частности, больных с перитонитом [10, 20, 27, 30, 36].

Известно, что ключевая роль в метаболической перестройке организма при распространенном гнойном перитоните принадлежит системной клеточной гипоксии, приводящей к развитию выраженного энергодифицита и генерации свободнорадикальных процессов в тканях различных органов и систем. Свободные радикалы обладают ярко выраженным свойством клеточной альтерации и, распространяясь через систему кровообращения далеко за пределы первичного очага деструкции, приводят к повреждению клеточных мембран с последующим цитолизом в жизненно важных органах и системах и развитием их функциональной недостаточности [17, 20].

Вступая в реакции с многочисленными липидными компонентами цельной крови и плазматических мембран клеток, озон способствует увеличению активности клеточных ферментов, заинтересованных в метаболизме кислорода и ослабляющих перекисное окисление липидов: глутатионпероксидазы, глутатионредуктазы, супероксиддисмутазы, каталазы, глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы [6, 7, 8]. При этом снижается кислородное голодание тканей, повышается метаболическая активность форменных элементов крови и тканевых клеток, что сопровождается возрастанием активности ферментов дыхательной цепи и окислительного фосфорилирования, приводя к восстановлению энергообразования [17, 19, 30, 37].

Антигипоксический эффект озона сопровождается улучшением кислородотранспортной функции крови, ее реологических свойств и активацией биоэнергетических процессов за счет увеличения концентрации кислорода в плазме [6, 10, 12, 17]. В результате озонолиза фосфолипидов мембран эритроцитов повышается их резистентность и деформабельность, что способствует увеличению парциального давления кислорода крови и восстановлению микроциркуляции. Уменьшается количество деструктивно измененных форменных элементов. Важным является усиление процессов утилизации глюкозы эритроцитами [7, 10, 19, 28, 32].

В процессе взаимодействия озона с клетками крови отмечено смещение pH среды в щелочную сторону. Это происходит за счет взаимодействия озона с карбонатным буфером, изменения ионного состава форменных элементов крови, а также реакции озона с белковым буфером. При этом отмечается снижение скорости оседания эритроцитов, уменьшение лейкоцитоза и лейкоцитарного индекса интоксикации [6, 16, 17].

Благодаря оптимизации периферического кровообращения, озонкислородная смесь способствует снижению тонуса артериол, раскрытию нефункционирующих капилляров и улучшению работы компенсаторных коллатеральных анастомозов с пролонгированным

эффектом. В результате налаживается полноценное кислородное обеспечение ишемизированных тканей, улучшается энергетический обмен, и, в конечном итоге, в очаге воспаления усиливаются процессы синтеза [8, 11, 29, 30].

Повышение окислительного потенциала крови индуцирует метаболические процессы в печени, что проявляется улучшением её детоксикационной функции, катаболизма стероидных гормонов, изменением чувствительности к инсулину [3, 7, 17]. При различных гипоксических состояниях защитное действие озона характеризуется уменьшением степени выраженности дистрофических изменений в гепатоцитах и сохранением в печени нормальных уровней глюкозы, глюкозы-6-фосфата, пирувата, а также гликогена, обладающего антиоксидантными свойствами посредством образующейся из него глюкуроновой кислоты [12]. Кроме того, озон способствует увеличению количества неизмененных митохондрий, сохранению обычного строения эндоплазматического ретикулума, росту численности лизосом и гранул гликогена. Благодаря стимуляции механизмов преобразования жировых энергетических субстратов в легко утилизируемые углеводные, применение озона существенно снижает вероятность развития жировой дистрофии и преобразования жирных кислот в токсические кетоновые продукты [20, 28, 29, 33].

Основной реакцией детоксикации в печени является реакция окисления токсинов на цитохроме P-450, действующем в составе окислительно-восстановительной ферментной цепи. Биохимические исследования показали, что в результате системного применения медицинского озона содержание цитохрома P-450 в печени возрастает [3, 7, 37].

Таким образом, под влиянием озонотерапии происходит активация внутриклеточных механизмов пластической, гликолитической и антиоксидантной функции гепатоцитов. Взаимосвязанное функционирование этих механизмов лежит в основе улучшения многих сторон деятельности печени, в том числе и антитоксической [31].

В литературе имеются сведения, подтверждающие иммуномодулирующее действие медицинского озона [6, 7, 12, 22, 25, 28]. В частности, под влиянием методик озонотерапии активируется процесс фагоцитоза, который в значительной степени зависит от концентрации кислорода в периферической крови, а также от его доступа в ране. При длительно незаживающих ранах морфологически отмечается изменение клеточного состава воспалительного инфильтрата с преобладанием процессов регенерации над процессами распада [1, 8, 38].

Антибактериальное действие озона может быть реализовано и путем прямого окислительного эффекта [9]. Локальная активность в отношении микроорганизмов связана с нарушением их оболочки вследствие окисления фосфолипидов и липопротеинов, повреждения полипептидных цепей. Минимальные дозы озона вызывают местные повреждения мембран, прекращая процесс деления бактериальных клеток. Более высокие дозы вызывают повреждения ряда ферментативных, транспортных и рецепторных систем, обеспечивающих жизнедеятельность бактериальной клетки, приводя к ее гибели в результате поражения дыхания и возрастания проницаемости цитоплазматической мембраны [2, 39].

Согласно литературным сведениям, медицинский озон способен инактивировать микроорганизмы, обладающие факторами лекарственной устойчивости. Отмечено, что концентрация озона, равная 4 мг/л, полностью подавляет рост стафилококка, кишечной палочки, протей и клебсиеллы в количестве до 10^4 КОЕ/г ткани. При более высокой степени обсемененности ткани происходит неполная инактивация микроорганизмов с одновременным повышением их чувствительности к антибактериальным препаратам [6, 21].

Важно иметь в виду, что для медицинского озона присущи и анальгезирующие свойства. Местный обезболивающий эффект (к примеру, при озонировании брюшной полости) принято связывать как с уменьшением воздействия бактерий и их токсинов на нервные окончания париетальной и висцеральной брюшины, так и с блокирующим влиянием озона на

периферические нервные окончания [24, 25]. Обезболивающий эффект системной озонотерапии связан с непосредственным окислением белково-алгопептидов, которые образуются в месте повреждения тканей и принимают участие в передаче болевых импульсов в головной мозг [12]. Клинически анальгезирующее действие озона выражается в уменьшении потребности в наркотических препаратах и наиболее выражено при реинфузии озонированной аутокрови [10].

При экспериментальном перитоните местное применение озона уменьшает интенсивность процесса спайкообразования [27]. Таким образом, озонотерапия оказывает положительное воздействие на основные этиологические и патогенетические звенья распространенного перитонита.

Распространенными в клинической практике методиками локальной озонотерапии при перитоните являются интраоперационная санация брюшной полости и послеоперационный перитонеальный лаваж, метод пристеночно-полостной санации кишечника, а также введение внутрь озонированной дистиллированной воды [4, 18, 23, 26, 34, 35].

Интраоперационная перитонеальная санация включает тщательное промывание брюшной полости озонированным физиологическим раствором в объеме четырех-пяти литров с концентрацией 4-5 мг/л после устранения источника перитонита. Послеоперационный перитонеальный лаваж осуществляется путем введения в брюшную полость через дренажные трубки озонированного хлорида натрия с концентрацией озона 4 мг/л [15].

Эффективным энтеральным методом озонотерапии в комплексном лечении острого распространенного перитонита является метод пристеночно-полостной санации кишечника [4, 7, 14, 18, 21]. Для его проведения разработан специальный зонд со спирально закрепленными на нем полыми трубками, имеющими щелевидные клапаны для подачи лекарственных растворов. Результаты эксперимента и клинической апробации метода свидетельствовали о его наибольшей эффективности в сочетании с санацией брюшной полости. Так, у больных распространенным перитонитом в ранние

сроки происходило купирование синдрома эндогенной интоксикации и ликвидация пареза кишечника, отмечалась более низкая частота инфекционных осложнений, что способствовало снижению летальности на 9,5% [4].

В местной озонотерапии распространенного перитонита, наряду с использованием озонированного физиологического раствора и озонокислородной смеси, изучается эффективность экспериментального использования озонированного перфторана [5]. Показано, что озонированный перфторан оказывает более выраженное протекторное влияние на факторы неспецифического иммунитета по сравнению с другими растворами.

Немаловажное значение среди методик местного применения озонотерапии в комплексном лечении перитонита играют программированные видеолaparоскопические озоновые санации брюшной полости. По данным А.С. Снигоренко и А.К. Мартынова [26], эта методика применялась у 116 больных с распространенным перитонитом. Всем пациентам после устранения источника перитонита проводились санация и дренирование брюшной полости, интубация кишечника. Больным основной группы на передней брюшной стенке в мезогастррии оставляли два лапаропорта, через которые проводились сеансы программированных видеолaparоскопических озоновых санаций спустя 12-24 часа после операции и далее ежедневно по показаниям. Санации брюшной полости с удалением токсического выпота сочетали с дезинтеграцией рыхлых спаек под визуальным контролем. По результатам наблюдений в основной группе отмечено достоверное, по сравнению с контрольной, снижение маркеров эндогенной интоксикации: лейкоцитоза, лейкоцитарного индекса интоксикации, концентрации молекул средней массы уже к третьим суткам от начала лечения. К пятым суткам отмечалось разрешение пареза кишечника, подтвержденное данными периферической полиэлектрографии и фоноэнтерографии. На третьи сутки у 81,3% больных основной группы

отмечено отсутствие роста микрофлоры в промывной жидкости, на пятые – результаты посевов у всех больных были отрицательными.

Программированные видеолaparоскопические озоновые санации брюшной полости позволили в 100% случаев добиться хорошего функционирования дренажей, в то время как несостоятельность дренажей брюшной полости в контрольной группе отмечена в 23,1% [23, 26] .

Методика ректальной инсуффляции газообразной озонкислородной смеси сочетает в себе местное противовоспалительное и антибактериальное действие, а также системное воздействие на организм пациента. Ряд авторов рассматривает ректальную инсуффляцию как методику общей озонотерапии, являющейся альтернативой внутривенному введению озонированного физиологического раствора или большой аутогемотерапии [21, 31]. Ректальные инсуффляции с озоном при распространенном перитоните применяют с целью борьбы с токсемией и для стимуляции моторики кишечника. Методика осуществляется при помощи шприца Жане со специальным пластмассовым наконечником со вторых-третьих суток послеоперационного периода через день. Время введения озона составляет от 0,5 до 5-10 минут. Важными критериями эффективности проводимого лечения являются тяжесть эндотоксикоза и состояние микроциркуляции крови в кишечной стенке, данные электро- и фоноэнтерографии [14, 35].

К парентеральному применению медицинского озона относятся такие методики, как внутривенное, в том числе регионарное введение озонированного физиологического раствора и большая аутогемотерапия с озоном [7, 8, 15, 34].

Эффективность использования внутривенного введения озонированного физиологического раствора при распространенном перитоните доказана в работе А.А. Рябова [22]. Больным в основной группе, наряду с санацией брюшной полости, озонированный физиологический раствор вводился внутривенно. Исследование позволило сделать вывод о том, что внутривенная озонотерапия обладает выраженным детоксикационным и

стресс-протекторным воздействием, способствует деблокированию системы микроциркуляции и улучшает перфузию тканей [22].

Одним из парентеральных методов применения медицинского озона в лечении перитонита является большая аутогемоозонотерапия [10]. Методика предусматривает интраоперационную нормоволемическую гемодилюцию с реинфузией озонированной аутокрови. Возврат озонированной аутокрови больному осуществляется во время операции до ушивания передней брюшной стенки. Под воздействием методики у больных распространенным перитонитом уменьшалось количество послеоперационных осложнений на фоне ограничения количества потребляемых антибиотиков и анальгетиков [10].

В.В. Новомлинский [7] в эксперименте разработал способ антигипоксической защиты печени путем внутривенного введения озонированного физиологического раствора. Автором сделан вывод об отсутствии прооксидантного действия у озонированного физиологического раствора в терапевтическом диапазоне. Отмечено, что применение озонированного физиологического раствора позволяет предотвратить развитие тяжелой печеночной недостаточности и получить высокий процент выживаемости при длительных сроках выключения печени из кровообращения [7].

Таким образом, полинаправленность патогенетических эффектов в сочетании с разнообразием методик системного и локального использования медицинского озона свидетельствуют об эффективности его использования и перспективах дальнейшего совершенствования комплексной интенсивной терапии распространенного перитонита.

METHODS OF LOCAL AND SYSTEM OZONE THERAPY FOR DIFFUSE PERITONITIS TREATMENT

Yu.S.Vinnik, A.N.Aksyutenko, S.I. Tyapkin, O.V. Teplyakova

Abstract. The paper presents modern data on main mechanisms and biological effects of medical ozone. Local and system applications of ozone in complex treatment of diffuse peritonitis are also discussed. The methods of ozone therapy and their efficiency proved on experimental animals as well as their application in clinical practice are described.

Key words: ozone, peritonitis, ozonized physiological solution, local ozone therapy, system ozone therapy.

Литература

1. Белобородов В.А., Борисов Р.Н. Современные принципы и перспективы хирургии тяжелых форм перитонита // Сиб. мед. обозрение. – 2008. – №3. – С. 3-7.
2. Буянов В.М., Лаберко Л.А., Родоман Г.В. и др. Оптимизация выбора антисептических препаратов для интраоперационной санации брюшной полости при распространенном перитоните // Вестн. РГМУ. – 2000. – № 3. – С. 7-14.
3. Векслер Н.Ю., Частов В.П., Германова Т.А. и др. Озонотерапия в комплексной детоксикации у больных с заболеваниями брюшной полости // Озон и методы эфферентной терапии в медицине. – 2000. – №4. – С. 71-72.
4. Глухов А.А., Жданов А.И., Андреев А.А. Метод пристеночно-полостной санации кишечника в комплексном лечении острого распространенного перитонита // Вестн. хирургии. – 2004. – Т. 163, № 2. – С.41-45.

5. Голубев А. М., Рагимов Р. М., Манасова З. Ш. и др. Острый перитонит и факторы неспецифической резистентности при введении озонированного перфторана (экспериментальное исследование) // Общая реаниматология. – 2007. – № 5-6. – С. 68-70.

6. Гульман М.И., Винник Ю.С., Каспаров Э.В. и др. Озонотерапия. – Красноярск: ГУПП «Сибирь», 2001. – 62 с.

7. Гульман М.И., Винник Ю.С., Миллер С.В. и др. Коррекция гомеостаза при остром панкреатите методом озонотерапии. – Красноярск: Знак, 2003. – 178 с.

8. Гульман М.И., Винник Ю.С., Якимов С.В. и др. Применение озона в хирургической клинике (обзор литературы) // Сиб. мед. обозрение. – 2003. – №4. – С. 84-86.

9. Даулбаева А.А., Байзакова Г.Т. Влияние озона на чувствительность микроорганизмов к антибиотикам // Стоматология. – 2003. – №2. – С. 36-38.

10. Канцалиев Н.Б., Теуов А.А., Базиев А.М. Применение кровесберегающих технологий в абдоминальной хирургии // Хирургия. – 2007. – №2. – С. 38-41.

11. Конторщикова К.Н. Лабораторные алгоритмы для оценки безопасности и эффективности озонотерапии // Клинич. лабораторная диагностика. – 2001. – № 10. – С.42.

12. Конторщикова К.Н., Перетягин С.П. Закономерность формирования адапционно-приспособительных механизмов гомеостаза при системном воздействии низкими дозами озона // Нижегородский мед. журн. (озонотерапия). – 2005. – № 2. – С. 17-18.

13. Лаберко Л.А., Кузнецов Н. А., Родоман Г. В. и др. Индивидуальный прогноз тяжести течения послеоперационного периода и исхода распространенного перитонита // Хирургия. – 2005. – №2. – С. 29-33.

14. Лаберко Л. А., Кузнецов Н. А., Аронов Л.С. Коррекция проявлений синдрома энтеральной недостаточности при распространенном перитоните // Хирургия. – 2004. – №9. – С. 25-28.

15. Макаов А.Х., Теуов А.А., Базиев А.М. Медицинский озон в лечении острого перитонита // Озон в биологии и медицине: матер. первой украинско-русской науч.-практич. конф. – Одесса, 2003. – С. 80-82.

16. Мумладзе Р.Б., Васильев И.Т., Якушин В.И. Актуальные вопросы диагностики и лечения послеоперационного перитонита и их решение в условиях современной клиники // Анналы хирургии. – 2008. – №5. – С. 46-52.

17. Мумладзе Р.Б., Васильев И.Т., Яковлев В.Н. Озонотерапия в коррекции свободнорадикальной и ферментной активности у больных перитонитом // Клиническая анестезиология и реаниматология. – 2009. – Т. 6, №1. – С.12-19.

18. Пархисенко Ю.А., Глухов А.А., Андреев А.А. Применение методов пристеночно-полостной озоновой санации кишечника в комплексном лечении абдоминального сепсиса // Нижегородский мед. журн. (озонотерапия). – 2005. – № 2. – С. 154-155.

19. Пыргарь Б.П., Таку В.И., Басараб Е.С. Применение озонированного физиологического раствора в составе комплексной инфузионной терапии при разлитом перитоните // Озон в биологии и медицине: матер. первой украинско-русской науч.-практич. конф. – Одесса, 2003. – С. 82-83.

20. Родоман Г.В., Лаберко Л.А., Оболенский В.Н., и др. Озонотерапия в лечении больных с хирургической инфекцией // Рос. мед. журн. – 1999. – №4. – С. 32-36.

21. Родоман Г.В., Лаберко Л.А., Оболенский В.Н. и др. Способы повышения эффективности методов озонотерапии в клинике хирургических болезней // Современные проблемы практической хирургии: сб. трудов научно-практич. конф. – М., 2000. – С. 32-38.

22. Рябов А.А. Применение комбинированной озонотерапии в комплексном лечении распространенного гнойного перитонита: автореферат диссертации на соискание ученой степени кандидата медицинских наук. – Красноярск, 2004. – 25 с.

23. Седов В.М., Избасаров Р.Ж., Стрижелецкий В.В. и др. Программированная санационная лапароскопия в лечении перитонита // Вестн. хирургии им. И.И.Грекова. – 2008. – №1. – С. 88-91.

24. Семенов С.В., Снигоренко А.С., Кудрявцев Б.П. Озонотерапия общего перитонита // Озон и методы эфферентной терапии в медицине. – 2000. – №5. – С. 72-73.

25. Семенов С.В., Казаков Н.Т. Озонотерапия в интенсивной терапии разлитого перитонита // Нижегородский мед. журн. (озонотерапия). – 2003. – № 3. – С. 166-167.

26. Снигоренко А.С., Мартынов А.К. Программные видеолапароскопические озоновые санации брюшной полости в комплексном лечении общего перитонита // Эндоскопическая хирургия. – 2009. – №1. – С.93-94.

27. Шамсиев М.А., Атакулов Д.О., Юсупов Ш.А. и др. Экспериментальное изучение влияния озона на течение перитонита и спайкообразование // Детская хирургия. – 2000. – №6. – С. 22-25.

28. Adrie C., Pinsky M.R. The inflammatory balance in human sepsis // Intensive Care Med. – 2000. – Vol. 26, №4. – P. 364-375.

29. Bocci V., Luzzi E., Corradeschi F. et al. Studies on the biological effects of ozone: evaluation of immunological parameters and tolerability in normal volunteers receiving ambulatory autohaemotherapy // Biotherapy. – 1994. – Vol.7, № 2. – P. 83-90.

30. Bocci V. Ozonotherapy today // Ozone in Medicine: Proceedings of the 12th World Congress of international Ozone Association. – 1995. – Vol.3. – P.13-27.
31. Calandra T., Cohn J. The international sepsis forum consensus conference on definitions of infection in the intensive care unit // Critical Care Medicine. – 2005. – Vol. 33. – P. 1538-1548.
32. Cataldo F., Gentilini L. Chemical kinetics measurements on the reaction between blood and ozone. // Int. J. Biol. Macromol. – 2005. – Vol. 1-2. – P. 62-65.
33. Groeneveld A.B., Tacx A.N., Rossin R. et al. Circulating inflammatory mediators predict shock, and mortality in febrile patients with microbial infection // Clin. Immunol. – 2003. – Vol. 106, №2. – P. 106-112.
34. Koperna T., Schulz F. Relaparotomy in peritonitis: prognosis and treatment of patients // World J. Surg. – 2000. – Vol. 24, №1. – P. 32-37.
35. Koulaouzidis A., Bhat S., Karagiannidis A. et al. Spontaneous bacterial peritonitis // Postgraduate Medical Journal. – 2007. – Vol. 7, №4-6. – P.39-43.
36. Madej P., Antoszewski Z., Madej J.A. Ozonotherapy // Mater. Med. Pol. – 1995. – Vol. 8, №5. – P. 379-383;
37. Marshall J.C., Vincent J.L., Fink M.P. et al. Measures, markers, and mediators: toward a staging for clinical sepsis. A report of the Fifth Toronto Sepsis Roundtable // Crit. Care Med. – 2003. – Vol. 31. – P. 1560-1567.
38. Meisel C., Schefold J.C., Pschowski R. et al. Granulocyte-Macrophage Colony-stimulating Factor to Reverse Sepsis-associated Immunosuppression // Am. J. of Respiratory and Critical Care Medicine. – 2009. – Vol. 180. – P. 640-648.

39. Wilson S.E. Impact an anatomical site on bacteriological and clinical outcome in the management of intra-abdominal infections // Am. Surg. – 1998. – Vol. 64, №5. – P. 402-407.

© ДРЫГАНОВА М.Б., МАРТЫНОВА Г.П., КУРТАСОВА Л.М.

УДК 616.988.55-02-053.2:578.825.13

ИНФЕКЦИОННЫЙ МОНОНУКЛЕОЗ, ВЫЗВАННЫЙ ВИРУСОМ ЭПШТЕЙНА-БАРР У ДЕТЕЙ: КЛИНИКО-ИММУНОЛОГИЧЕСКИЕ ПАРАЛЛЕЛИ

М.Б. Дрыганова, Г.П. Мартынова, Л.М. Куртасова

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого, ректор – д.м.н., проф. И. П. Артюхов; кафедра детских инфекционных болезней с курсом ПО, зав. – д.м.н., проф. Г. П. Мартынова, кафедра клинической иммунологии, зав. – д.м.н., проф. Н. И. Камзалакова.

***Резюме.** В обзоре представлены современные сведения об иммунологических особенностях инфекционного мононуклеоза ВЭБ-этиологии у детей. Установлена взаимосвязь клинических проявлений заболевания и иммунологических механизмов реагирования при инфекционном процессе.*

***Ключевые слова:** инфекционный мононуклеоз, иммунитет, вирус Эпштейн-Барр.*

Дрыганова Мария Борисовна – ассистент каф. детских инфекционных болезней с курсом ПО; тел. 8(391)2243295.

Мартынова Галина Павловна – д.м.н., проф. зав. каф. детских инфекционных болезней с курсом ПО; тел. 8(391)2243295.

Куртасова Людмила Михайловна – д.м.н., проф. каф. клинической иммунологии; тел. 8(391) 2201552.

На современном этапе развития медицинской науки инфекционный мононуклеоз (ИМ) продолжает оставаться актуальной проблемой педиатрической практики [1, 2, 4, 6]. Это обусловлено, в первую очередь, влиянием ВЭБ-инфекции на иммунную систему [4, 5, 7, 10]. Установлена способность вируса Эпштейн-Барр (ВЭБ) блокировать и обходить многие уровни иммунной защиты и успешно модифицировать иммунный ответ

человека [8, 10, 13]. Учитывая эволюционно сложившийся тропизм герпесвирусов, в том числе ВЭБ, к иммунокомпетентным клеткам и эпителию слизистой оболочки респираторного тракта, можно полагать, что инфицирование ими может снижать активность иммунокомпетентных клеток, факторов местной иммунной защиты дыхательных путей, а это способствовать развитию рецидивов и неблагоприятных исходов заболевания [1, 7, 13, 17, 19, 25].

Данные многих исследований свидетельствуют, что перенесенная ВЭБ-инфекция является одним из факторов риска нарушения иммунологической реактивности [4, 5, 7, 13, 15, 16, 18, 20, 21, 23].

До недавнего времени ИМ, вызванный ВЭБ, считался самоограничивающимся заболеванием, так как основным клинико-патогенетическим проявлением этой инфекции является доброкачественный лимфопролиферативный процесс [2, 3, 6, 9, 14, 18, 24]

Однако на современном этапе иммунологами накоплен достаточный материал, освещающий вопросы иммунопатологии и иммунорегуляции при ВЭБ-инфекции, что заставило пересмотреть отношение к этому заболеванию, как к абсолютно доброкачественному и доказать возможность его затяжного и хронического течения [4, 5, 7, 8, 10, 11, 12, 15, 16, 18, 25].

Предположение о доброкачественности ИМ, обусловленного ВЭБ, которая признается преобладающим большинством исследователей, основано на том, что острый период заболевания в большинстве случаев заканчивается клинически благополучно [1, 2, 6, 14, 16, 18]. Как правило, регистрируется обратное развитие основных клинических симптомов: завершение ангинозного периода, купирование признаков инфекционного токсикоза, таких как бледность кожных покровов, вялость, рвота, снижение аппетита, нормализуется температурная реакция. По завершении стационарного лечения у большинства детей значительно уменьшаются проявления поражения лимфоидного аппарата – шейный лимфаденит, полиадения, изменения со стороны носоглотки, гепатолиенальный синдром, отмечается

относительная нормализация гематологических изменений. И, тем не менее, по данным Л. А. Гульман с соавт. [6], около двух третей больных на момент выписки из стационара имеют остаточные проявления заболевания, которые касаются чаще всего изменений со стороны лимфатической системы и печени. Умеренное увеличение лимфоузлов шейной группы отмечается практически у всех реконвалесцентов ИМ, а около 20 % больных, по данным В.В. Фомина с соавт. [24], к концу года имеют объективное увеличение печени, не связанное с какой-либо иной гастроэнтерологической патологией. Ряд авторов определяют поражение печени при ИМ как специфический вирусный гепатит, выдвигая необходимость длительной диспансеризации для определения значения этого заболевания в формировании хронического гепатита [22, 26, 28, 29, 31, 34, 38, 42, 45]. Сведения об остаточных явлениях в виде астенического синдрома, учащения острых респираторных вирусных инфекций, переход детей после перенесенного ИМ в группу часто болеющих встречаются еще в литературе 80-х годов XX века [24], однако объяснить, какие механизмы способствуют самоограничению болезни, как осуществляется иммунологический контроль над заболеванием, стало возможным только с введением в клиническую практику современных методов иммунологического обследования [4, 8, 12, 15, 16, 17, 20].

На современном этапе схему иммунопатогенеза ИМ, вызванного ВЭБ, можно представить следующим образом. Вирус Эпштейна-Барр, обработанный фагоцитарными клетками, адсорбируется на В-лимфоцитах, не разрушая инфицированные клетки, а вызывая их размножение. Основным механизмом уничтожения инфицированных В-лимфоцитов – это образование специфических цитотоксических клеток, способных распознавать инфицированные лимфоциты. Однако этот механизм отнюдь не совершенен; он, со своей стороны, вызывает значительные иммунопатологические изменения. Во-первых, при интенсивном распаде В-лимфоцитов выделяются липопротеиды, обладающие выраженными пирогенными свойствами и оказывающие токсическое действие на печень, во-вторых, из разрушенных

клеток выделяется в кровоток значительное количество антигена вируса, и происходит новое заражение незадействованных в патологическом процессе В-лимфоцитов [24, 27, 30, 35, 39, 40, 41, 44]. В остром периоде ИМ в крови больных значительно возрастает количество Т-лимфоцитов, обладающих супрессорными свойствами, по сравнению с Т-хелперами [4, 12, 15, 16, 17]. Супрессорное воздействие Т-лимфоцитов распространяется на В-лимфоциты: таким образом, происходит торможение индуцированной ВЭБ пролиферации лимфоцитов. Возможно их подавляющее воздействие и на Т-хелперное звено иммунитета, что объясняет снижение количества последних в остром периоде болезни. Результатом процентного снижения Т-хелперов, является значительное снижение индекса дифференцировки Тх/Тс [4, 12, 17]. Особенностью иммунологических реакций при ИМ является склонность их к системному поражению, нарушение процессов дифференцировки, дисрегуляция, что определяет иммунорегуляторный дисбаланс острого периода болезни [9]. CD8⁺ – лимфоциты распознают и разрушают инфицированные вирусом клетки, что способствует ограничению заболевания и в конечном итоге клиническому выздоровлению. Низкие количества CD8⁺ – лимфоцитов при ИМ косвенно свидетельствуют об изменении характера реагирования иммунной системы, а у больных регистрируется вялое, затяжное течение болезни с длительным периодом реконвалесценции и осложнениями [12, 15, 17]. Зачастую в субпопуляциях Т-лимфоцитов происходит нарастание абсолютного количества цитотоксических клеток, однако при увеличении супрессорной активности не происходило снижения уровня Т-лимфоцитов с хелперной активностью. Подобная разбалансированность в регуляции иммунного ответа приводит к длительным иммунологическим нарушениям и способствует затяжному, негладкому течению заболевания [9, 12, 15].

В остром периоде ИМ в результате антигенного раздражения развивается лимфопролиферативный процесс, отражением которого является увеличение размеров иммунокомпетентных органов и числа Т-лимфоцитов [32, 33].

Таким образом, отмечается параллелизм между формой тяжести заболевания и гематологической картиной, представленной в основном воспалительными изменениями с наличием атипичных мононуклеаров, которые и представляют собой В-лимфоциты, иммортилизованные ВЭБ. Чем тяжелее форма болезни, тем значительнее выражены изменения крови [24]. Принято считать гематологическим признаком заболевания увеличение числа атипичных мононуклеаров в лейкограмме свыше 10 %. По современным представлениям, особенностью ИМ у детей дошкольного возраста в последние годы является умеренная выраженность общей мононуклеарной реакции по анализам периферической крови, при этом количество атипичных мононуклеаров может составлять менее 10 %. [2]. Однако в данном случае может иметь значение позднее поступление больного в стационар, а также частота и кратность взятия анализов крови на исследование [24].

Симптоматика ИМ по сути, представляет собой неспецифическую клинически манифестную реакцию ретикулоэндотелиальной системы на инфекционный процесс, развивающуюся при взаимодействии макроорганизма с различными патогенами [9]. В. Ф. Фомин с соавт. отмечают прямо пропорциональную зависимость между числом Т-лимфоцитов и степенью увеличения лимфатических узлов и паренхиматозных органов. Этот факт убедительно свидетельствует о единстве механизмов поражения лимфоидно-ретикулоэндотелиальной системы при ИМ, в том числе, и лимфоидно-ретикулярной системы печени. Гепатомегалия является одним из характерных симптомов ИМ, однако единого мнения о характере поражения печени и длительности этих изменений нет. По данным Л. А. Гульман с соавт. [6], у преобладающего большинства больных ИМ наблюдается гепатолиенальный синдром с преимущественным увеличением печени, нежели селезенки.

Поражение печени, вызванное ВЭБ, представлено широким спектром гистологических и клинических проявлений от гепатита до лимфопролиферативных поражений и даже лимфомы [38]. С помощью

гибридизации «in situ», иммуноблотинга и ПЦР в гепатоцитах доказана роль ВЭБ в формировании ВЭБ-ассоциированных заболеваний печени [36, 37, 42, 43]. Есть мнение, что ВЭБ не обладает прямым цитопатическим действием на печень, однако разрушение гепатоцитов вызывается токсическим действием свободных радикалов, участвующих в перекисном окислении липидов. У пациентов с ИМ обнаруживаются аутоантитела к ферменту супероксид-дисмутазе, нейтрализующее их антиоксидантное действие. В результате свободные радикалы аккумулируются в гепатоцитах, вызывая деструкцию клеток и развитие холестаза [22]. Не менее значимы иммунологические механизмы в формировании реактивных гепатитов при ИМ. Существенное значение имеет нарушение количества иммунокомпетентных клеток, а именно, Т-хелперов, при этом аутоиммунный механизм поражения печени не является ведущим, что подтверждается высоким уровнем Т-супрессорной популяции лимфоцитов [24]. Установлено, что при желтушных формах ВЭБ-гепатита ДНК возбудителя выявляется преимущественно в CD3+, CD4+ и CD8+ - лимфоцитах, тогда как при инфекционном мононуклеозе у пациентов без желтухи в основном инфицированы В-лимфоциты периферической крови, что указывает на возможное участие Т-лимфоцитов в развитии тяжелых форм острого ВЭБ-гепатита [29, 31].

Таким образом, несмотря на то, что желтушные формы ВЭБ-инфекции встречаются редко, а лабораторные изменения при среднетяжелой форме ИМ характеризуются, как правило, повышением аминотрансфераз при нормальном содержании фракций билирубина, морфологические изменения в ткани печени характеризуются изменениями, типичными для острого гепатита и могут сопровождаться холангитом и эндотелиитом [22, 38]. Можно сказать, что регистрируемые в клинической практике объективные изменения печени при ИМ представляют собой лишь вершину айсберга, а воздействие ВЭБ на печень не ограничивается самолимитирующимся процессом [22].

Итак, инфицирование В-клеток в остром периоде ИМ влечет за собой нарушение баланса клеточной популяции лимфоцитов. Однако иммунные нарушения при ИМ носят комплексный характер, они касаются как клеточного, так и гуморального звеньев иммунитета [9, 12, 13, 15]. Поражение В-клеток приводит и нарушению формирования гуморального иммунитета. При этом антитела являются преимущественно лишь свидетелями иммунного ответа на вирус, а как вируснейтрализующие работают только в случае, когда вирус в результате литического варианта его репродукции (при гибели инфицированной клетки) распространяется от одной клетки к другой. В большинстве же случаев герпесвирусам удается распространяться из клетки в клетку по цитоплазматическим мостикам и избегать действия нейтрализующих антител [13]. Нам встретились сведения о незначительности изменений показателей гуморального иммунитета у больных ИМ, в связи с тем, что именно состояние клеточного иммунитета определяет как исход первичного инфицирования, так и частоту и направленность рецидивов заболевания [15]. Однако по другим данным, при ИМ повышается уровень иммуноглобулинов всех пяти классов, причем отмечается поликлональная природа активации их синтеза в остром периоде болезни [24]. Выявлено, что пик повышения антител регистрируется после пика гематологических и клинических признаков инфекционного мононуклеоза. В состав иммунных комплексов, образовавшихся в результате взаимодействия антиген-антитело входит IgM, что затрудняет их фагоцитоз; этому способствует наличие крупномолекулярных белков в их составе и низкий уровень гранулоцитов в периферической крови. Следствием этого является нарушение элиминации их из кровяного русла, а дальнейшая их циркуляция влечет за собой выделение антигена и компенсаторное увеличение лимфоцитов, что поддерживает персистенцию инфекции и предполагает возможность хронического течения заболевания [24, 43]. Особенность течения ИМ заключается не только в длительности периода реконвалесценции и наличии остаточных явлений, но и возможность

затяжных, рецидивирующих и хронических форм болезни. Клиническое выздоровление детей в периоде реконвалесценции не сопровождается восстановлением иммунного баланса в течение длительного времени, отмечено, что у детей, перенесших ИМ, не отмечается полного восстановления соотношения гранулоцитарных и мононуклеарных клеток и основных субпопуляций лимфоцитов. У пациентов, с вышеописанными изменениями в иммунном статусе, в клинической картине отмечаются умеренные симптомы интоксикации, лимфаденопатия шейных лимфоузлов, генерализованный лимфаденит, гипертрофия небных миндалин, повышается частота острых респираторных вирусных заболеваний [24].

Таким образом, изменение показателей гуморального и клеточного звеньев иммунитета в остром периоде ИМ, пожизненная персистенция ВЭБ в организме человека, приводит в катамнезе к значительному снижению уровня Т-лимфоцитов за счет их хелперной популяции, вторичному нарушению гуморального иммунитета, что наряду с нейтропенией влечет за собой учащение бактериальных и вирусных инфекций и отражает суть заболевания как болезни иммунной системы [24, 36] .

На современном этапе новые терапевтические подходы к лечению ИМ обусловлены иммунологическими нарушениями, характерными для данного заболевания. Наличие нарушений со стороны иммунной системы требует назначения дифференцированной иммунокоррекции в зависимости от ведущих механизмов их формирования [3, 4, 5].

INFECTIOUS MONONUCLEOSIS CAUSED BY THE EPSTEIN-BARR VIRUS IN CHILDREN: CLINICAL AND IMMUNOLOGICAL PARALLELS

M.B. Dryganova, G.P. Martynova, L.M. Kurtasova

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky

Abstract. The review presents the data about immunological peculiarities of EBV mononucleosis in children. The relationship between clinical symptoms and immunological mechanism of reaction during infectious processes is revealed.

Key words: infectious mononucleosis, immunity, Epstein-Barr virus.

Литература

1. Авдеева М.Г., Намитокоев Х. А., Полянский А. В. и др. Особенности современного течения инфекционного мононуклеоза у взрослых // Инфекционные болезни. – 2009. – Т. 7, № 2. – С. 22-25.
2. Белан Ю.Б., Михайлова Т. А. Значение клинических и лабораторных данных в дифференциальной диагностике инфекционного мононуклеоза // Детские инфекции. – 2008. – №1. – С. 32-35.
3. Боковой А.Г. Инфекционный мононуклеоз – болезнь или синдром? // Детские инфекции. – 2003. – №1. – С. 66-68.
4. Боковой А.Г., Домрачева М.Е. Клиническое значение иммунологических показателей при инфекционном мононуклеозе у детей // Детские инфекции. – 2006. – №3. – С. 18-22.
5. Боковой, А.Г. Роль герпесвирусных инфекций в формировании контингента часто болеющих детей // Детские инфекции. – 2007. – №3. – С. 3-7.
6. Гульман Л.А., Куртасова Л.М., Андреева А.А. Клинико-серологические критерии инфекционного мононуклеоза у детей // Детские инфекции. – 2004. – №3. – С.27-30.
7. Егорова Н.Ю., Гусева Л.Н., Гусева Н.А. и др. Значение маркеров герпетических вирусов для оценки состояния здоровья детей // Детские инфекции. – 2008. – №2. – С. 16-21.
8. Железникова Г.Ф. Иммунологический прогноз течения ВЭБ-инфекции у детей // Rus. J. Immunol. – 2004. – Vol. 9, № 1. – Р. 188.

9. Зайцева И.А., Хмилевская С.А., Бережнова И.А. Инфекционный мононуклеоз у детей // Детские инфекции. – 2004. – №3. – С. 65 – 68.

10. Иванова В.В., Родионова О.В., Аксенов О.А. и др. Инфекционный мононуклеоз: клиника, патогенез, новое в диагностике и терапии // Инфекционные болезни. – 2004. – Т.2, №4. – С.5-12.

11. Иванова В.В., Шилова И.В., Симованьян Э.Н. Новые данные об инфекционном мононуклеозе. // Рос. вестн. перинатологии и педиатрии. – 2006. – № 6. – С. 44-51.

12. Иванова В.В., Железникова Г.Ф., Шилова И.В. Состояние клеточного и гуморального иммунитета при инфекциях у детей и его регуляция с помощью иммуномодуляторов // Противовирусная терапия инфекционных болезней детского возраста / под редакцией М.Г. Романцова, Т.В. Сологуб. – М., 2006. – С. 4-18.

13. Канн Н.Ю. Значение персистирующей герпесвирусной инфекции в формировании вторичного иммунодефицита у часто болеющих детей/ Детские инфекции. – 2008. – №2. – С. 64-66.

14. Кашуба Э.А. Дифференциальная диагностика мононуклеозоподобного синдрома при инфекционных заболеваниях у детей // Детские инфекции. – 2006.- №4. – С. 70-73.

15. Кельцев В.А., Петрова Е.В., Санталова Г.В. Состояние иммунной системы у детей с инфекционным мононуклеозом и обоснование иммунокорригирующей терапии // Детские инфекции. – 2004. – №3. – С.15-20.

16. Кельцев В.А., Гребенкина Л.И., Петрова Е.В. Функциональное состояние и взаимосвязь иммунной и эндокринной систем у больных Эпштейн-Барр вирусным мононуклеозом // Детские инфекции. – 2005. – №1 – С.29-32.

17. Корсакова И. И. Основные параметры иммунного статуса у лиц с герпетической и цитомегаловирусной инфекциями // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2004. – № 3. – С. 32-34.

18. Краснов В.В., Шиленок А.И., Кузенкова Л.А. Инфекционный мононуклеоз. Клиника, диагностика, современные принципы лечения / пособие для врачей. – СПб., Нижний Новгород, 2003. – 44 с.
19. Кудряшова И.А., Галимзянов Х.М., Полунина О.С. Клинико-иммунологические особенности течения внебольничной пневмонии на фоне скрытых герпес-вирусных инфекций // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2008. – № 5. – С. 54-58.
20. Левина А.С., Железникова Г.В., Иванова В.В. и др. Эффективность иммунокорригирующей терапии при инфекционном мононуклеозе у детей // Детские инфекции. – 2009. – № 1. – С. 60-63.
21. Симованьян Э.Н., Денисенко В.Б., Григорян А.В. Часто болеющие дети: оптимизация программы лечения // Педиатрия. – 2007. – Т. 86. – № 4. – С. 79-85.
22. Смирнов А.В., Чуелов С.Б., Россина А.Л. Современное представление о гепатитах, вызванных вирусами семейства герпеса // Детские инфекции. – 2008. – №3. – С. 3-13.
23. Феклисова Л.В., Савицкая Н.А., Каражас Н.В. Клинико-лабораторная оценка обнаружения маркеров оппортунистических инфекций у детей, больных ОРЗ с обструкцией дыхательных путей // Детские инфекции. – 2008. – №4. – С. 13-17.
24. Фомин В.В. Клиническая иммунология детских инфекций / Свердловск: Изд-во Урал. ун-та, 1988. – 336 с.
25. Харламова Ф.С., Егорова Н.Ю., Гусева Л.Н. и др. Вирусы семейства герпеса и иммунитет // Детские инфекции. – 2006. – Т. 5, №3. – С. 3-10
26. Ader F. Fulminant Epstein-Barr virus (EBV) hepatitis in a young immunocompetent subject // Med. Mal. Infect. – 2006. – Vol. 36, №7. – P. 396-398.
27. Amoli M. EBV Immortalization of human B lymphocytes separated from small volumes of cryo-preserved whole blood // International Journal of Epidemiology. – 2008. – Vol. 37, № 1. – P. 141.

28. Chiba T. Fatal chronic active Epstein-Barr virus infection mimicking autoimmune hepatitis // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* – 2004. – Vol. 16, № 2. – P. 225-228.
29. Crum N. F. Epstein-Barr virus hepatitis: case series and review // *South. Med. J.* – 2006. – Vol.5. – P.74-76.
30. Dong N. Cloning and expression of two human recombinant monoclonal Fab fragments specific for EBV viral capsid antigen // *International Immunology.* – 2007. – Vol. 19, № 3. – P. 331.
31. Dumortier J. EBV-induced fulminant hepatic failure: favorable outcome after liver transplantation // *Gastroenterol. Clin. Biol.* – 2007. – Vol. 31. – P. 725-728.
32. Glenna B. W. Mononucleosis and Epstein-Barr Virus Infection // Last Updated. – 2003. – Vol. 8. – P. 489-497.
33. Grotto I. Clinical and laboratory presentation of EBV positive infectious mononucleosis in young adults // *Epidemiology and Infection.* – 2003. – Vol. 131, № 1. – P. 683-689.
34. Hinedi T.B., Koff R.S. Cholestatic hepatitis induced by Epstein-Barr virus infection in an adult // *Dig. Dis. Sci.* – 2003. – Vol. 48. – P. 539-541.
35. Huang J. Regulation of EBV lytic replication in epithelial cells. // *Dissertation Abstracts International.* – 2004. – Vol. 66, № 4. – P. 1896.
36. Kawa K. EBV associated diseases in humans // *Int. J. Hematol.* – 2000. – Vol. 71. – P. 108-117.
37. Li W. Epstein-Barr virus in hepatocellular carcinogenesis // *World J. Gastroenterol.* – 2004. – Vol. 10, №23. – P. 3409-3413.
38. Mendez-Sanchez N., Aguilar-Dominguez C., Chavez-Tapia N.C. Hepatic manifestations of Epstein-Barr viral infection // *Ann. Hepatol.* – 2005. – Vol. 4, №3. – P. 205-209.
39. Molesworth S.J. EBV gH is essential for penetration of B cells but also plays a role in attachment of virus to epithelial cells // *J. Virology.* – 2000. – Vol. 74. – P. 6324-6332.

40. Mrazek H. Subtractive hybridization identifies novel differentially expressed ncRNA species in EBV-infected human B cells // Nucleic Acids Research. – 2007. – Vol. 35, № 10. – P. 73.
41. Prot A.E. The crystal structure of human CD21: implications for EBV and C3d binding // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. – 2002. – Vol. 99. – P. 10641-10646.
42. Si M.W. Hepatocellular lymphogipitheipma-like carcinoma associated with Epstein-barr virus: a hitherto unrecognized entity // Diagn. Mol. Pathol. – 2004. – Vol. 13, №3. – P. 183-189.
43. Wakiguchi L. Overview of Epstein-Barr virus-associated diseases in Japan // H. Crit Rev Oncol Hematol. – 2002. Dec. – Vol. 44, №3. – P. 193-202.
44. Xue A. Complexities associated with expression of Epstein-Barr virus (EBV) lytic origins of DNA replication // Nucleic Acids Research. – 2007. – Vol. 35, № 10. – P. 3391.
45. Yuge A. Persistent hepatitis associated with chronic active Epstein-Barr virus infection // Pediatr. Infect. Dis. J. – 2004. – Vol. 23. – P. 74-76.

© ЧЕРНОВ В. Н., ШАРАЙКИНА Е. П., МАНАШЕВ Г. Г.

УДК 616.314.17..612.181

МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОЕ РУСЛО ПАРОДОНТА

В. Н. Чернов, Е. П. Шарайкина, Г. Г. Манашев

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В. Ф.

Войно-Ясенецкого, ректор – д.м.н., проф. И.П. Артюхов;

кафедра анатомии человека, зав. – д.м.н., проф. В. Г. Николаев, кафедра

ортопедической стоматологии, зав. – д.м.н., проф. Г. Г. Манашев.

Резюме. В обзоре представлены современные исследования по использованию лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ), ее роль в оценке витальности пульпы при травме зубов, реваскуляризации при реплантации зубов, для оценки воздействия на кровообращение в пульпе ортодонтических сил и некоторых материалов, используемых в клинике для покрытия пульпы. Однако, несмотря на многочисленные литературные данные, практически отсутствует информация о различиях микроциркуляторного русла у мужчин и у женщин и при зубочелюстных аномалиях.

Ключевые слова: лазерная доплеровская флоуметрия, пародонт, микроциркуляторное русло.

Чернов Владимир Николаевич – ассистент каф. ортопедической стоматологии КрасГМУ; e-mail: chernovortstom@mail.ru.

Шарайкина Евгения Павловна – д.м.н., проф. кафедры анатомии человека КрасГМУ; тел. 8(391) 2201409.

Манашев Георгий Геннадьевич – д.м.н., проф., зав. каф. ортопедической стоматологии КрасГМУ; e-mail: manashev1@ya.ru.

Заболевания пародонта являются одной из наиболее важных проблем современной стоматологии [1]. Ведущими пусковыми механизмами

заболеваний пародонта являются сосудистые сдвиги в виде нарушений микроциркулярного русла пародонта и развитие иммунопатологических реакций в его тканях [5]. По данным экспертов ВОЗ (1990) - у лиц в возрасте от 35 до 44 лет уровень заболеваний пародонта составляет от 65 до 98%, а в возрасте 13 – 19 лет - от 55 до 95%.

Впервые в 1940 году обосновал сосудистую концепцию патогенеза пародонтоза А. И. Евдокимов [2]. На современном этапе данная концепция обогатилась обширным фактическим материалом, полученным с помощью таких методов исследования сосудистого русла, как реография, фотоплетизмография, полярография, радиоизотопные методы. В последние десятилетия микроциркуляцию сосудов пародонта изучают методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) [3, 6, 9, 37, 54].

ЛДФ, основанная на измерении доплеровской компоненты в спектре отраженного лазерного сигнала, рассеянного на движущихся эритроцитах, позволяет неинвазивно измерять величину перфузии ткани кровью, то есть определять величину потока эритроцитов в зондируемом лазерным излучением объеме ткани [1, 2, 38].

В дополнение к амплитудно-частотному анализу ритмов кровотока проведение различных функциональных тестов позволяет более точно выявить нарушение микроциркуляции [53, 46, 47].

Результаты ЛДФ основаны на измерении скорости потока жидкости с помощью гелий-неонового лазерного спектрометра, анализ которых провели Yeh и Cummins в 1964 г., но научное обоснование частотной составляющей сигнала дали F. Durst и J. H. Whitelaw в 1971 году [28]. Основной целью применения ЛДФ стала оценка возможности проведения неинвазивной диагностики витальности пульпы при травме зубов, состояния их кровоснабжения после остеотомии верхней челюсти по *Le Fort 1* и изучение механизмов регуляции кровотока в пульпе. В своих исследованиях в 2004 году по оценке витальности пульпы при травме постоянных верхних резцов у 52 детей R. Emshoff с соавт. пришли к выводу, что диагностика достоверна, если

различие в результатах ЛДФ травмированного зуба и интактного у того же пациента будет не менее 3 перфузионных единиц [17].

Отечественные ученые использовали метод ЛДФ в оценке микроциркуляторных изменений в пульпе зуба при жевательных нагрузках [7, 8]. В 2002 году В. В. Белокопытова разработала критерии оценки степени микроциркуляторных нарушений при заболеваниях пародонта [4].

Использование ЛДФ в эксперименте на собаках при реплантации зубов [52] и в клинике [29] при травме позволило наблюдать реваскуляризацию пульпы, что дало основание говорить о возможности диагностики гибели пульпы в 95% случаев. С помощью ЛДФ А. L. Ritter с соавт. [39] в 2004 году в эксперименте оценивали эффективность антибиотикотерапии на реваскуляризацию пульпы после реплантации зубов, а в 2003 году Н. Strobl с соавт. [45] в клинике убедились в том, что потеря чувствительности реплантированных зубов делает ЛДФ важным клиническим диагностическим методом.

Ряд авторов использовали ЛДФ при остеотомии верхней челюсти, чтобы оценить ее влияние на кровообращение в пульпе верхних резцов и их витальность. D. S. Ramsay с соавт. [34] сравнивали результаты, связанные с состоянием кровоснабжения пульпы в нижнем клыке, и нашли существенные различия. Подобные изменения наблюдали и другие авторы [15, 21, 32]. При этом изменения в кровоснабжении пульпы сопровождались позитивными сдвигами в данных электроодонтодиагностики [42]. При аналогичных условиях J. G. Buckley с соавт. [13] оценивали методические ошибки при проведении ЛДФ с помощью ручного держателя датчика и с помощью шины.

В Китае о первых опытах по использованию ЛДФ было сообщено в 2000 году Х. Ху и Y. Li. Авторы заключили, что ЛДФ обладает большими потенциальными возможностями в изучении кровотока в пульпе зуба [50].

Большое количество работ было посвящено изучению достоверности результатов ЛДФ. R. D. Fratkin с соавт. [19] проводили ЛДФ первого резца у детей до и после пульпэктомии и нашли существенные отличия, которые позволили заключить, что с помощью ЛДФ можно определять наличие или

отсутствие кровотока в пульпе. А. Е. Ingolfsson с соавт. [25] применяли ЛДФ на интактных передних зубах и с некрозом пульпы и пришли к выводу, что чем меньше диаметр стекловолокна, тем метод более чувствителен к наличию некротизированной пульпы. Наряду с испытанием различного по диаметру стекловолокна, Е. М. Roebuck с соавторами [35] оценивали информативность метода ЛДФ при диагностике витальности пульпы передних зубов при различной длине волны (633 и 780 нм), а также при различных частотах фильтра (3, 15 и 22 кГц). На добровольцах 23-28 лет также испытывались различные положения ЛДФ-датчика на зубе: в верхней трети, в центре и в пришеечной области [41].

S. Mesaros с соавт. [30] оценивали возможности в диагностике витальности зуба двух лазерных доплеровских флоуметров — DRT4 (Moog

Instruments Ltd) и Laserflo BPM2 (Vasamedics). Оба прибора показали, что существуют значительные различия в величине ЛДФ-сигнала между живыми

и неживыми зубами, а также до и после проведения местной анестезии. Чувствительность метода к изменениям кровоснабжения пульпы изучалась с помощью температурных проб у добровольцев. Было отмечено слабое уменьшение кровотока в пульпе при снижении прикладываемой к зубу температуры — от 33 до 5 градусов С [11]. Yamaguchi с соавт. [51] повышали температуру в зубе с помощью их облучения неодим-иттербий-алюминий-гранатовым лазером (Nd:YAG) и одновременно наблюдали усиление кровотока в пульпе на ЛДФ-граммах, получаемых с помощью низкоинтенсивного лазера. В другом исследовании было установлено, что охлаждение зуба уменьшает кровообращение в пульпе, но не останавливает его [20]. Подтверждением тому явились результаты измерения температуры на поверхности и внутри зуба, проведенные в 2004 году Е. Smith с соавт. [43] в условиях эксперимента.

Исходя из того, что ЛДФ является неинвазивной электрооптической техникой, которая позволяет полуколичественно зарегистрировать кровоток в пульпе. D. Evans с соавт. [18] использовали ЛДФ в диагностике витальности пульпы В. Norer и соавторы [31] задались целью выявить индивидуальные и

межиндивидуальные различия кровотока в пульпе, определяемые с помощью ЛДФ. Достоверное уменьшение величины ЛДФ-сигнала, которое происходит с возрастом, нашли М. Ikawa с соавторами [24] при исследовании центральных интактных резцов у лиц в возрасте от 8 до 75 лет.

Для изучения рассеивания света, проходящего через зуб при ЛДФ, М. Ikawa с соавт. [22] на удаленных первых верхних резцах размещали 2 световода. Измерения показали, что рассеивание света происходит довольно широко на обратной стороне зуба, при этом прошедший через зуб световой сигнал несет информацию о кровотоке в окружающих тканях. Исследования S. Soomro с соавт. [44] и S. Polat с соавт. [33] проводились на пациентах. Было установлено, что наложение коффердама достоверно и существенно уменьшает (на 73%) регистрируемый сигнал в интактном зубе.

В 2002 году изоляцию десны с помощью коффердама проводили Y. Sano и соавторы [40] для оценки воздействия на кровообращение в пульпе ортодонтических сил. Было установлено, что длительное воздействие ортодонтических сил значительно уменьшает кровоток в пульпе. К такому же выводу пришли М. Ikawa с соавт. [23].

Большой интерес представляют исследования, специально посвященные оценке влияния десны на результаты ЛДФ пульпы. При фиксации датчика в акриловой шине, его располагали на зубе в пришеечной области. При этом было соблюдено 3 условия: десна ничем не покрывалась, на нее накладывали светонепроницаемую пасту с вестибулярной поверхности, с небной и с двух сторон одновременно. Было установлено, что, когда паста находится на вестибулярной поверхности десны, уровень ЛДФ-сигнала с зуба уменьшается на 46%, когда на небной поверхности — на 10%, когда на обеих сторонах — на 63% [10]. По данным F. Csempešz и соавторов [14], кровоток в десне влияет на сигнал с пульпы зуба значительно меньше при ручной фиксации ЛДФ-датчика, чем при фиксировании его в специальном манипуляторе.

Интересные результаты были получены Т. Justus с соавт. [27] при регистрации ЛДФ-граммы с десны и пульпы верхних фронтальных зубов

между 1-й и 3-й неделями после остеотомии верхней челюсти. Оказалось, что значительное увеличение кровотока в пульпе не было связано с кровотоком в десне. К такому же выводу пришли S. Vandenwijngaert и K. Vanlerberghe, оценивая влияние заболеваний пародонта и их лечения на витальность пульпы [48]. Взаимосвязь кровотока в мягких тканях десны с кровотоком в пульпе изучали G. M. Verdickt и P. V. Abbott [49] при проводниковой и местной анестезии.

Другая группа авторов под руководством S. Polat [23] проводила ЛДФ 36 зубов у 12 пациентов, которым после местной анестезии интактные зубы депульпировали, пломбировали канал и восстанавливали зуб пломбой. Было установлено, что через 10 минут после местной анестезии уровень кровотока в пульпе снижается на 30%.

Так же с помощью ЛДФ изучались нервные механизмы регуляции кровотока. По увеличению уровня ЛДФ-сигнала при тепловом раздражении пульпы и полученной вазодилатации была подтверждена вероятность передачи раздражения с чувствительных волокон на вазомоторные по аксон-рефлексу [12].

При введении вазоактивных медиаторов была зарегистрирована с помощью ЛДФ в пульпе вазоконстрикция, степень которой зависела от дозы медиатора и вводимых затем блокаторов [45].

При использовании чувствительной и симпатической денервации было доказано, что в пульпе зуба существует вазодилатация сенсорного происхождения [16]. Введение антагонистов сенсорных нейропептидов вызывает вазодилатацию при раздражении пульпы [26]. H. Roeykens оценил с помощью ЛДФ микроциркуляцию пульпы зуба [36]. Доказано, что основными потребителями кислорода в пульпе являются одонтобласты [55, 56].

Микроциркуляторное русло в области пародонта у юношей было изучено С. Л. Бакшеевой, которая установила особенности микроциркуляции в области прикрепленной и маргинальной десны в зависимости от конституции индивида

[2]. Достоинства применения ЛДФ в стоматологической практике были оценены В. В. Алямовским и С. А. Нарыковой [1].

Таким образом, к настоящему времени ЛДФ широко используется в стоматологической практике для исследования сосудистых реакций на различные воздействия в области пародонта. Однако, несмотря на многочисленные литературные данные, практически отсутствует информация о различиях микроциркуляторного русла при аномалиях зубочелюстной системы в зависимости от пола.

BLOOD MICROCIRCULATION IN PARADENTIUM

V.N. Chernov, E.P. Sharaikina, G.G. Manashev

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky

Abstract. The review presents the modern studies on application of laser Doppler fluorimetry (LDF). The paper discusses the role of LDF in: estimation of pulp vitality after teeth trauma, revascularization after teeth reimplantation, the influence of orthodontic forces and some materials used for covering of pulp on blood circulation in pulp. Despite a large amount of literature data there is practically no information about the differences of blood microcirculation in men and women with tooth and jaw abnormalities.

Key words: laser Doppler fluorimetry, paradentium, blood microcirculation.

Литература:

1. Алямовский В. В., Нарыкова С. А. Опыт применения лазерной доплеровской флоуметрии в стоматологической практике // Актуальные вопросы стоматологии. – Красноярск, 2001. – С. 75-77.
2. Бакшеева С. Л., Алямовский В. В., Нарыкова С. А. Состояние микроциркуляции в десне у юношей в зависимости от особенностей

конституции // Матер. науч.-практ. конф. российских ученых «Актуальные вопросы лазерной медицины». – Москва-Калуга, 2002. – С. 196-197.

3. Барковский В. С. Биомикроскопический метод оценки морфо-функционального состояния микроциркуляторного русла пародонта // Функциональная диагностика в стоматологии: Тр. ЦНИИС. – М., 1984. – Т. 14. – С. 30-32.

4. Белокопытова В. В. Критерии оценки степени микроциркуляторных нарушений при заболеваниях пародонта: дис. ... канд. мед. наук. – М., 2002. – 126 с.

5. Киричук В. Ф., Широков В. Ю. Тромборезистентность эндотелия сосудистой стенки у больных хроническим генерализованным пародонтитом и ее динамика при комбинированной КВЧ-терапии // Стоматология. – 2004. – №4. – С. 26-29.

6. Козлов В. А. Ультразвуковая доплерография сосудов макро- и микроциркуляторного русла тканей полости рта, лица и шеи. – СПб.: Минимакс, 1999. – 22 с.

7. Колесова Н. А., Политун А. М. Значение изменения отдельных звеньев микроциркуляторного русла околозубных тканей в патогенезе пародонтоза // Терапевт. стом. – 1981. – Вып. 16. – С. 28-32.

8. Логинова Н. К., Ермольев С. Н., Троицкая Т. В. Лазерная доплерография в оценке микроциркуляторных изменений в пульпе зуба при жевательных нагрузках // Стоматология. – №1 (21). – 2007. – С. 100-101.

9. Логинова Н. К., Воложин А. И. Патофизиология пародонта (теория и практика) / Уч. - метод. пособие. – 2 -е изд. – М., 1994. – 108 с.

10. Akpınar K. E., Er K., Polat S. et al. Effect of gingiva on laserdoppler pulpal blood flow measurements // J. Endod. – 2004. – Vol. 30, № 3. – P. 138-178.

11. Andersen E., Aars H., Brodin P. Effects of cooling and heating of the tooth on pulpal blood flow // Endod-Dent-Traumatol. – 1994. – Vol. 10, №6. – P. 256-265.

12. Andrew D., Matthews B. Properties of single nerve fibres that evoke blood flow changes in cat dental pulp // J. Physiol. – 2002. – Vol. 542 (Pt 3). – P. 921-929.
13. Buckley J. G., Jones M. L., Hill M. et al. An evaluation of the changes in maxillary pulpal blood flow associated with orthognathic surgery // Br. J. Orthod. 1999. – Vol. 26. – № 1. – P. 39-84.
14. Csempesz F., Vag J., Keremi B. et al. A szajuregi kepletek keringesének vizsgalata lezer Doppler-aramlasmerovel human egyedekben [Blood flow measurements in human oral tissues with laser Doppler flowmetry] // Fogorv-Sz. – 2000. – Vol. 93, № 4. – P. 115-135.
15. Emshoff R., Kranewitter R., Norer B. Effect of Le Fort I osteotomy on maxillary tooth-type-related pulpal blood-flow characteristics // Oral Surg. – 2000. – Vol. 89, № 1. – P. 88-178.
16. Emshoff R., Kranewitter R., Gerhard S. et al. Effect of segmental Le Fort I osteotomy on maxillary tooth type-related pulpal blood-flow characteristics // Oral Surg. 2000. – Vol. 89, № 6. – P. 749-801.
17. Emshoff R., Emshoff I., Moschen I. et al. Laser Doppler flow measurements of pulpal blood flow and severity of dental injury // Int. Endod. J. – 2004. – Vol. 37, № 7. – P. 463-470.
18. Evans D., Reid J., Strang R. et al. A comparison of laser Doppler flowmetry with other methods of assessing the vitality of traumatized anterior teeth // Endod. Dent Traumatol. – 1999. – Vol. 15, № 6. – P. 284-374.
19. Fratkin R. D., Kenny D. J., Johnston D. H. Evaluation of a laser Doppler flowmeter to assess blood flow in human primary incisor teeth // Pediatr. Dent. – 1999. – Vol. 21, № 1. – P. 53-59.
20. Goodis H. E., Winthrop V., White J. M. Pulpal responses to cooling tooth temperatures // J. Endod. – 2000. – Vol. 26, № 5. – P. 263-270.
21. Harada K., Sato M., Omura K. Blood-flow and neurosensory changes in the maxillary dental pulp after differing Le Fort I osteotomies // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2004. – Vol. 97. – № 1. – P. 12-19.

22. Ikawa M., Vongsavan N., Horiuchi H. Scattering of laser light directed onto the labial surface of extracted human upper central incisors // J. Endod. – 1999. – Vol. 25. – № 7. – P. 483-490.
23. Ikawa M., Fujiwara M., Horiuchi H. et al. The effect of shortterm tooth intrusion on human pulpal blood flow measured by laser Doppler flowmetry // Arch. Oral Biol. – 2001. – Vol. 46, № 9. – P. 781-788.
24. Ikawa M., Komatsu H., Ikawa K. et al. Age-related changes in the pulpal blood flow measured by laser Doppler flowmetry // Dent. Traumatol. – 2003. – Vol. 19, № 1. – P. 36-40.
25. Ingolfsson A. R., Tronstad L., Hersh E. V. et al. Efficacy of laser Doppler flowmetry in determining pulp vitality of human teeth // Endod. Dent. Traumatol. – 1994. – Vol. 10, № 2. – P. 83-90.
26. Ingolfsson A. R., Tronstad L., Riva C. E. Reliability of laser Doppler flowmetry in testing vitality of human teeth // Endod. Dent. Traumatol. – 1994. – Vol. 10, № 4. – P. 185-192.
27. Justus T., Chang B. L., Bloomquist D. et al. Human gingival and pulpal blood flow during healing after Le Fort I osteotomy // J. Oral Maxillofac. Surg. – 2001. – Vol. 59, № 1. – P. 2-9.
28. Kimura Y., Wilder-Smith P., Matsumoto K. Lasers in endodontics: a review // Int. Endod. J. – 2000. – Vol. 33, № 3. – P. 173-258.
29. Lee J. Y., Yanpiset K., Sigurdsson A. et al. Laser Doppler flowmetry for monitoring traumatized teeth // Dent. Traumatol. – 2001. – Vol. 17, № 5. – P. 231-236.
30. Mesaros S., Trope M., Maixner W. Comparison of two laser Doppler system on the measurement of blood flow of premolar teeth under different pulpal conditions // Int. Endod. J. – 1997. – Vol. 30, № 3. – P. 167-241.
31. Norer B., Kranewitter R., Emshoff R. Pulpal blood-flow characteristics of maxillary tooth morphotypes as assessed with laser Doppler flowmetry // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 1999. – Vol. 87, № 1. – P. 88-180.

32. Ozturk M., Doruk C., Ozec I. et al. Pulpal blood flow: effects of corticotomy and midline osteotomy in surgically assisted rapid palatal expansion // J. Craniomaxillofac. Surg. – 2003. – Vol. 31, № 2. – P. 97-197.
33. Polat S., Er K., Akpinar K.E. et al. The sources of laser Doppler blood-flow signals recorded from vital and root canal treated teeth // Arch. Oral Biol. – 2004. – Vol. 49 – P. 53-60.
34. Ramsay D.S., Artun J., Bloomquist D. Orthognathic surgery and pulpal blood flow a pilot study using laser Doppler flowmetry // J. Oral Maxillofac. Surg. – 1991. – Vol. 49, № 6. – P. 564-634.
35. Roebuck E.M., Evans D.J., Stirrups D. et al. The effect of wavelength, bandwidth, and probe design and assessing the vitality of anterior teeth with laser Doppler flowmetry // Int. J. Paediatr. Dent. – 2000. – Vol. 10, № 3. – P. 213-223.
36. Roeykens H., Van-Maele G., De Moor R. et al. Reliability of laser Doppler flowmetry in a 2-probe assessment of pulpal blood flow // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 1999. – Vol. 87, № 6. – P. 742-750.
37. Roeykens H., Van-Maele G., Martens L. et al. A two-probe laser Doppler flowmetry assessment as an exclusive diagnostic device in a long-term follow-up of traumatized teeth: a case report // Dent. Traumatol. – 2002. – Vol. 18, № 2. – P. 86-177.
38. Riethmuller M.L., Boutier A. Laser Doppler velocimetry 40 years of history // Oral Surg. 2000. – Vol. 89, № 6. P. 367-371.
39. Ritter A.L., Ritter A.V., Murrah V. et al. Pulp revascularization of replanted immature dog teeth after treatment with minocycline and doxycycline assessed by laser Doppler flowmetry, radiography, and histology // Dent. Traumatol. – 2004. – Vol. 20, № 2. – P. 75-159.
40. Sano Y., Ikawa M., Sugawara J. et al. The effect of continuous intrusive force on human pulpal blood flow // Eur. J. Orthod. – 2002. – Vol. 24, № 2. – P. 159-225.

41. Sasano T., Nakajima I., Shoji S. et al. Possible application of transmitted laser light for the assessment of human pulpal vitality // Endod. Dent. Traumatol. – 1997. – Vol. 13, № 2. – P. 88-179.
42. Sato M., Harada K., Okada Y. et al. Blood-flow change and recovery of sensibility in the maxillary dental pulp after a singlesegment Le Fort I osteotomy // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2003. – Vol. 95, № 6. – P. 660-664.
43. Smith E., Dickson M., Evans A.L. et al. An evaluation of the use of tooth temperature to assess human pulp vitality // Int. Ebdod. J. – 2004. – Vol. 37, № 6. – P. 374-454.
44. Soo-ampon S., Vongsavan N., Soo-ampon M. et al. The sources of laser Doppler blood-flow signals recorded from human teeth // Arch. Oral Biol. – 2003. – Vol. 48, № 5. – P. 353-413.
45. Strobl H., Gojer G., Norer B. et al. Assessing revascularization of avulsed permanent maxillary incisors by laser Doppler // J. Am. Dent. Assoc. – 2003. – Vol. 134, № 12. – P. 1597-2200.
46. Strobl H., Haas M., Norer B. et al. Evaluation of pulpal blood flow after tooth splinting of luxated permanent maxillary incisors // Dent. Traumatol. – 2004. – Vol. 20, № 1. – P. 36-77.
47. Strobl H., Emshoff I., Bertram S. et al. Laser Doppler flow investigation of fractured permanent maxillary incisors // J. Oral. Rehabil. – 2004. – Vol. 31, № 1. – P. 23-31.
48. Vandenwijngaert S., Vanlerberghe K. Influence de la maladie parodontale et de son traitement sur l'état de la pulpe // Rev. Belge Med. Dent. – 2000. – Vol. 55, № 4. – P. 313-320.
49. Verdickt G.M., Abbott P.V. Blood flow changes in human dental pulps when capsaicin is applied to the adjacent gingival mucosa // Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod. – 2001. – Vol. 92, № 5. – P. 561-566.

50. Xu X., Li Y. A preliminary study of laser Doppler technique in determining dental pulpal blood flow // *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi, China.* – 2000. – Vol. 35, № 2. – P. 129-131.
51. Yamaguchi H., Kobayashi K., Sato Y. Nd:YAG laser irradiation of human dental pulp: implications as a predictor of pulp hemodynamics // *Lasers Surg. Med.* – 2000. – Vol. 26, № 3. – P. 270-276.
52. Yanpiset K., Vongsavan N., Sigurdsson A. et al. Efficacy of laser Doppler flowmetry for the diagnosis of revascularization of reimplanted immature dog teeth // *Dent. Traumatol.* – 2001. – Vol. 17, № 2. – P. 63-133.
53. Yu C.Y., Boyd N.M., Cringle S.J. et al. Agonist-induced vasoactive responses in isolated perfused porcine dental pulpal arterioles // *Arch. Oral Biol.* – 2002. – Vol. 47, № 2. – P. 99-107.
54. Yu C.Y., Boyd N.M., Cringle S.J. et al. Tissue oxygen tension and blood-flow changes in rat incisor pulp with graded systemic hyperoxia // *Arch. Oral Biol.* – 2002. – Vol. 47, № 3. – P. 239-285.
55. Yu C.Y., Boyd N.M., Cringle S.J. et al. Oxygen distribution and consumption in rat lower incisor pulp // *Arch. Oral Biol.* – 2002. – Vol. 47, № 7. – P. 529-565.
56. Yu C.Y., Boyd N.M., Cringle S.J. et al. An in vivo and in vitro comparison of the effects of vasoactive mediators on pulpal blood vessels in rat incisors // *Arch. Oral Biol.* – 2002. – Vol. 47, № 10. – P. 723-755.

ОРИГИНАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

© ЕРЕМЕЕВ А.В., СВЕТЛАКОВ А.В., БОЛЬШАКОВ И.Н., ШЕИНА Ю.И.,
НЕКЛЮДОВА О.Д.

УДК 616.12:616-018:547.995.12

ВОЗМОЖНОСТЬ КАРДИОМИОЦИТАРНОЙ ДИФФЕРЕНЦИРОВКИ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК ЧЕЛОВЕКА, ПРЕДВАРИТЕЛЬНО КУЛЬТИВИРУЕМЫХ В СРЕДЕ mTeSR

А.В. Еремеев, А.В. Светлаков, И.Н. Большаков, Ю.И. Шеина, О.Д.
Неклюдова

Центр репродуктивной медицины, Красноярск, рук. – к.м.н. А.В. Светлаков;
Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.
Войно-Ясенецкого, ректор – д.м.н., проф. И.П.Артюхов; кафедра оперативной
хирургии с топографической анатомией, зав. – д.м.н., проф. П.А.Самотесов;
лаборатория клеточных технологий КрасГМУ, руководитель – к.б.н. А.В.
Еремеев; Институт общей генетики им. Вавилова РАН, Москва; директор –
член-корр. РАН Н.К. Янковский; лаборатория генетических основ клеточных
технологий, руководитель – С.Л. Киселев.

Резюме. В представленной работе рассматривается возможность дифференцировки культивируемых на среде mTeSR стволовых эмбриональных клеток человека, пассируемых в кондиционированной среде в кардиомиоцитарном направлении.

Ключевые слова: плюрипотентные клетки, маркеры плюрипотентности, кардиомиоцитарная дифференцировка, кондиционированная среда.

Еремеев Артем Валерьевич – к.б.н., руководитель лаборатории клеточных технологий КрасГМУ; e-mail: art-eremeev@yandex.ru, тел. 8 (391)2640892.

Светлаков Анатолий Владимирович – к.м.н., руководитель Центра репродуктивной медицины, Красноярск; e-mail: krasivf@kcrm.ru.

Большаков Игорь Николаевич – д.м.н., проф. каф. оперативной хирургии с топографической анатомии КрасГМУ; тел. 8(391)2200412.

Растущие потребности в клеточных технологиях диктуются возрастающим уровнем патологий сердечно-сосудистой системы и недостатком материала для трансплантации. Идеальной моделью для трансплантации являются кардиомиоциты благодаря их физиологическим и электрохимическим свойствам. Однако получение взрослых кардиомиоцитов в достаточном количестве для эффективной трансплантации невозможно в силу ограниченных количеств этих клеток, а также их возможности к пролиферации на терминальной стадии дифференцировки. Решением этой проблемы может стать трансплантация эмбриональных стволовых клеток (ЭСК), которые способны замещать нефункциональные, склерозированные клетки сердечной ткани. Трансплантация недифференцированных ЭСК может приводить к образованию тератом, в этой связи целесообразно использование коммитированных в кардиомиоциты дериватов ЭСК. Хотя, эмбриональные клетки способны к спонтанной дифференцировке в кардиомиоциты при переводе их в суспензию и росте в виде эмбриональных телец [3, 4, 5], условия культивирования, а, возможно, и индивидуальные особенности линий ЭСК существенно влияют на их способность к дифференцировке в конкретный клеточный тип. В настоящее время существуют различные способы коммитирования эмбриональных стволовых клеток к образованию кардиомиоцитов. Общей чертой всех этих методов является стадия формирования эмбриональных телец. Некоторые исследователи [4, 7, 8, 9] предлагают способ сокультивирования

эмбриональных клеток с клетками мышцы. Как правило, в качестве сокультуры используют висцерально-энтодермально подобные клетки мышцы (END-2), получаемые из P19 клеток эмбриональной карциномы мышей. Метод сокультивирования даёт возможность получать кардиомиоциты с высоким выходом. При выращивании эмбриональных стволовых клеток на монослое клеток END-2 С. Mummery et al. [4] наблюдали появление спонтанно пульсирующих клеток. Однако Ch. Xu et al [7] высказывает опасения, что результатом сокультивирования эмбриональных клеток с клетками животных, в том числе с клетками линии END-2, а также культивирование клеток в среде, содержащей сыворотку, может быть повышение иммуногенности клеток и заражение зоонозными агентами, что, несомненно, ограничивает возможность использования стволовых клеток в клинике. Ch.Xu et al. [7] предложил способ культивирования стволовых клеток в среде свободной от сыворотки, и включающей в себя следующие компоненты: креатин, карнитин, таурин и инсулин (CSTI-среда) [1].

Представляет интерес влияние ретиноевой кислоты на дифференцировку стволовых клеток. Ретиноевая кислота является активной формой витамина А и выполняет важные регуляторные функции во время развития зародыша. Показано, что обработка ретиноевой кислотой эмбриональных теллец, полученных из ЭСК, в концентрациях от 10^{-7} до 10^{-8} М после 5 суток приводит к ингибированию адипогенеза и миогенеза и стимулирует дифференцировку клеток сердца и гладкой мускулатуры [6]. Эффект ретиноевой кислоты в своих работах установили Ch.Xu et al. (2002) [11] и С.Bauwens et al. (2005) [1].

При помощи трансфекции клеток плазмидой, содержащей флуоресцентную метку после промотора α -МНС, было показано, что обработка этих клеток ретиноевой кислотой значительно повышает экспрессию различных сердечных маркеров, включая GATA4, Nkx2.5, α -МНС, β -МНС и ANP, а также повышает количество пульсирующих областей кардиомиоцитов. Одновременно с этим было показано, что аскорбиновая кислота также может усиливать дифференцировку эмбриональных стволовых клеток мышцы в нейроны [6].

Становится очевидным, что основной задачей является разработка протокола получения кардиомиоцитарных предшественников в условиях отсутствия в среде животных компонентов (таких как сыворотка, фидер и т.п.). Одним из возможных подходов к решению данного вопроса – это использование синтетических сред как для культивирования ЭСК, так и для их дальнейшей дифференцировки. Одной из таких сред для первоначальной экспансии ЭСК является среда mTeSR компании StemcellTeq. Авторы настоящей публикации предположили, что, используя комбинацию стандартной среды ДМЕМ и mTeSR с добавлением факторов дифференцировки, можно получить кардиомиоцитарные предшественники из ЭСК в условиях, свободных от сыворотки и фидерного слоя клеток.

Материалы и методы

Эмбриональные стволовые клетки. В экспериментах по культивированию плюрипотентных клеток человека линии hESKM-05 (безфидерная animal-free линия, полученная ЦРМ г. Красноярска совместно с Институтом общей генетики РАН г. Москвы) первоначально, для наращивания биомассы, использовали основную среду mTeSR (StemcellTeq, USA) во флаконах, покрытых матригелем (StemcellTeq, USA). Пассирование ЭСК осуществляли с помощью 0,05% раствора деспазы.

Стимуляция дифференцировки ЭСК. Для стимуляции образования эмбрионидных телец ЭСК снимали деспазой, затем переносили в эмбриологическую чашку Петри (low adgesion) со средой коДМЕМ с добавлением 10% SR (Invitogen)(заменитель сыворотки), 100 мкг/мл канамицина сульфата, 1мМ L-глутамин (Hyclone), 1 мМ раствора незаменимых аминокислот (Sigma-Aldrich). В ряде экспериментов эмбриональные тельца культивировали в среде, содержащей 5-аза-2-дезоксцитидин (2мкг/мл) или бутират натрия (2мкМ). Культивирование с этими агентами осуществляли в течение трех суток с последующим переносом эмбриональных телец во флаконы, покрытые 0,1% раствором желатина, в среду коДМЕМ с добавлением незаменимых аминокислот, глутамин, 10% SR,

ретиноевой кислоты ($10^{-7}M$), аскорбиновой кислоты (10нг/мл). Смену среды проводили каждые трое суток.

Иммуноцитохимия. По истечении 14-х суток культивирования проводилась формальдегидная фиксация с последующей иммуноцитохимией клеток с помощью антител (все от Abcam, USA) против альфа-актина, десмина и миозина. Выявление маркеров осуществляли методом согласно инструкции производителя антител. Ядра клеток окрашивали DAPI (0,1 мкг/мл) 10 мин. Для получения изображений и анализа использовали флюоресцентный микроскоп «Olympus BX-51» и программные продукты «Applied Spectral Imaging» (USA). Для анализа каждого маркера эксперимент повторяли трижды, наращивая по три флакона, в каждом из которых случайным образом выделяли 6 зон для проведения анализа иммуноцитохимической реакции. Микроскопирование проводили по каждой зоне в 30 полях зрения.

Результаты и обсуждение

На сегодняшний день существуют различные протоколы получения дифференцированных дериватов кардиомиоцитарных клеток из стволовых. Однако в этих протоколах для культивирования ЭСК применяют культивирование на фидерном слое клеток и используются среды с добавлением сыворотки, что приводит к увеличению вероятности контаминации и повышает иммуногенность. Для избежания этого авторы публикации использовали для экспансии ЭСК среду mTeSR без животных компонентов и с помощью иммуноцитохимических методов оценивали потенциал ЭСК к дифференцировке в кардиомиоцитарном направлении при воздействии агентов дифференцировки (рис. 1).

Рис.1. Иммуноцитохимия ЭСК и дериватов, культивируемых в среде коДМЕМ с добавлением незаменимых аминокислот, глутамина, 10% SR, ретиноевой кислоты $10^{-7}M$, аскорбиновой кислоты (10нг/мл) после обработки в течение 3-х суток 5-аза-2-дезоксцитидином (2мкг/мл) (рис.1 б, д, з) или бутиратом натрия (2мкМ)(рис.1 в, е, и). Клетки фиксированы 1% формальдегидом в фосфатном буфере, обработаны антителами против альфа-актина, миозина и десмина с последующим мечением вторичными антителами и детекцией флюоресценции. Контроль – клетки инкубировались в среде

коДМЕМ с добавлением незаменимых аминокислот, глутамина, 10% SR, ретиноевой кислоты $10^{-7}M$ (рис.1 а, г, ж).

Установлено, что предварительная экспозиция ЭСК с 5-аза-2-дезоксцитидином или бутиратом натрия приводила к появлению экспрессии исследуемых маркеров по сравнению с контролем. Более того, в случае экспозиции с 5-аза- 2-дезоксцитидином через 14 дней появлялись сокращающиеся волокна, которые к 20-21 дню культивирования увеличивались в количестве (рис.2).

Рис.2 Фазово-контрастная микроскопия культивируемых дериватов ЭСК человека в кардиомиоцитарном направлении после обработки 5-аза-2-дезоксцитидином, (рис. 2а -14-й день, рис.2б -20-й день).

Исследование морфологии клеток показало, что ЭСК после культивирования в вышеописанных условиях способны приобретать кардиомиоцитарный фенотип. Известно, что регуляция экспрессии генов в ЭСК находится под эпигенетическим контролем. 5-аза-2-дезоксцитидин является ингибитором ДНК-поддерживающей метилазы-2, а бутират натрия – ингибитором гистоновой деацетилазы [10]. Эти два регулятора участвуют в поддержании эпигенетического статуса клетки в зависимости от ее состояния на уровне ДНК или на уровне конденсации хроматина. Это свидетельствует о наличии эпигенетического контроля дифференцировки при стимуляции ЭСК в кардиомиоцитарном направлении.

Таким образом, результаты исследований показали, что предварительная экспозиция эмбриональных стволовых клеток человека в комбинированной питательной среде, состоящей из стандартной среды ДМЕМ и синтетической среды mTeSR, свободных от сыворотки и фидерного слоя клеток, с добавлением факторов дифференцировки с ингибиторами метилаз и гистоновых деацетилаз снимает эпигенетический блок дифференцировки, позволяя ЭСК коммитироваться в предшественники кардиомиоцитов.

POSSIBILITY OF HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS CULTIVATED ON MTESR MEDIUM TO DIFFERENTIATE INTO CARDIOMYOCYTE

A.V. Ereemeev, A.V. Svetlakov, I.N. Bolshakov, Yu.i. Shaina, O.D. Neklyudova

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky

Abstract. The presented paper considers the possibility of human embryonic stem cells, which were cultivated on mTeSR medium and passaged in the conditioned medium, to differentiate into cardiomyocyte direction.

Key words: pluripotent cells, marker of pluripotency, cardiomyocytes differentiation, conditioned medium.

Литература

1. Bauwens C., Yin T., Dang S. et al. Development of a perfusion fed bioreactor for embryonic stem cell-derived cardiomyocyte generation: oxygen-mediated enhancement of cardiomyocyte output // Biotechnol. Bioeng. – 2005. – Vol. 90, №4. – P.452-461.
2. Bin Z., Sheng L.G., Gang Z.C. et al. Efficient cardiomyocyte differentiation of embryonic stem cells by bone morphogenetic protein-2 combined with visceral endoderm-like cells // Cell Biol. Int. – 2006. – Vol.30, № 10.-P.769-776.
3. Buggish M. Mechanismen Poliferation von Kardiomyozyten differenziert aus embryonalen stammzellen der Maus: [Электронный ресурс] / M.Buggish – Justus-Liebig-Universitaet Giessen, 2007.–Режим доступа: <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2007/4662/index.html>.
4. He J.-Q., Yue M., Youngsook L., Thomson J.A. et al. Human embryonic stem cells develop into multiple types of cardiac myocytes // Cellular Biology. – 2003. – Vol. 93. – P.32-39.
5. Kim Y.Y., Seung-Yup K., Jiho J. et al. Use of long-term cultured embryoid bodies may enhance cardiomyocyte differentiation by BMP2 // Yonsei Med. –

2008. – Vol.49, № 5. – P.819-827.

6. Lev S., Kehat I., Gepsten L. Differentiation pathways in human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes // Ann N Y Acad Sci. – 2005. – Vol.1047. – P.50-65.

7. Mummery Ch., van Oostwaard D.W., Doevendans P. et al. Differentiation of human embryonic stem cells to cardiomyocytes role of coculture with visceral endoderm-like cells // Circ. – 2009. – Vol.107, №21. – P.2733-2740.

8. Mujoo K., Sharin V.G., Bryan N.S. et al. Role of nitric oxide signaling components in differentiation of embryonic stem cells into myocardial cells // PNAS. – 2008. – Vol.105, №48. – P.18924-18929.

9. Passier R., Ward-van Oostwaard D., Snapper J. et al. Increased cardiomyocyte differentiation from human embryonic stem cells in serum-free cultures // Stem Cells, 2005.-Vol.23.-P.772–780.

10. Sazhenova E.A., Lebedev I.N., Ereemeev A.V. et al. Differential susceptibility of imprinted genes to epimutations under DNA demethylation influence // Eur.J.Hum.Genet. – 2008. – Vol.16, № 2. – P.260.

11. Xu Ch., Police Sh., Rao N. et al. Characterization and enrichment of cardiomyocytes derived from human embryonic stem cells // Cellular Biology Circ. Res. – 2002. – Vol.91. – P.501-508.

12. Xu Ch., He J.-Q., Kamp T.J. et al. Human embryonic stem cell-derived cardiomyocytes can be maintained in defined medium without serum // Stem Cells and Development. – 2006. – Vol.15. – P.931-941.

© БЕРНС С.А., ШМИДТ Е.А., КИПРИНА Е.С., КЛИМЕНКОВА А.В.,
АВРАМЕНКО О.Е., АЗАРОВ А.А., НИКОНОРОВА Н.Г., БАРБАРАШ О.Л.

УДК 616.132.2-002-008.6-036-08

**ПРОГНОЗ НЕБЛАГОПРИЯТНЫХ ИСХОДОВ У БОЛЬНЫХ
ОСТРЫМ КРОНАРНЫМ СИНДРОМОМ С ПОДЪЕМОМ
СЕКМЕНТА ST, ПОДВЕРГШИХСЯ КРОНАРНОМУ
СТЕНТИРОВАНИЮ**

С.А. Бернс, Е.А.Шмидт, Е.С. Киприна, А.В. Клименкова, О.Е.
Авраменко, А.А. Азаров, Н.Г. Никонорова, О.Л. Барбараш

НИИ комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО
РАМН, Кемерово, директор – акад. РАМН Л.С. Барбараш
Кемеровская государственная медицинская академия, ректор –
В.М. Ивойлов.

***Резюме.** Проведено изучение факторов риска, определяющих прогноз у больных острым коронарным синдромом (ОКС) с подъемом сегмента ST, подвергшихся чрескожным коронарным вмешательствам (ЧКВ) со стентированием в течение 12 месяцев наблюдения. Всем пациентам в первые сутки поступления проводилась ангиопластика с имплантацией стента. В первые сутки до проведения ЧКВ и на десятые сутки госпитализации определялись уровни цитокинов, оксида азота (NO), sP-селектина и фактора Виллебранда (ФфВ). Факторами риска неблагоприятного прогноза можно считать ФНО-α в первые сутки ОКС, ИЛ-8 и sP-селектин на десятые сутки после ЧКВ.*

***Ключевые слова:** острый коронарный синдром, цитокины, факторы эндотелиальной дисфункции.*

Бернс Светлана Александровна – д.м.н., проф. научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН; e-mail: svberns@yandex.ru, тел. 8(3842) 644576.

Шмидт Евгения Александровна – научный сотрудник лаборатории патологии кровообращения УРАМН; Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН; тел. 8(3842) 644576.

Киприна Елена Сергеевна – научный сотрудник лаборатории клеточных технологий УРАМН; Научно-исследовательский институт комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний СО РАМН; тел. 8(3842) 644576.

Одной из важных задач кардиологии является изучение предикторов неблагоприятного прогноза заболевания у больных острым коронарным синдромом (ОКС). Особенно актуальна эта проблема для больных ОКС при использовании инвазивной тактики лечения.

Большой интерес представляет выявление факторов, влияющих не только на кратковременный прогноз заболевания, но и на развитие неблагоприятных сосудистых событий (НСС) в течение годового периода после проведения чрескожного коронарного вмешательства (ЧКВ) на симптомсвязанной артерии [11, 9].

В настоящее время актуальным является вопрос о механизмах развития и предикторах как ранних, так и поздних коронарных осложнений ЧКВ, в частности не вполне понятна роль факторов воспаления и маркеров, провоцирующих развитие эндотелиальной дисфункции при возникновении ОКС [3, 10, 6].

Целью настоящего исследования явилось изучение маркеров, влияющих на прогноз развития неблагоприятных сосудистых событий у больных острым коронарным синдромом с элевацией ST, подвергшихся ЧКВ.

Материалы и методы

В исследование было включено 154 больных ОКС с подъемом сегмента ST, поступивших в клинику учреждения в 2008 году. Критерием деления на группы послужило наличие НСС в течение 12 месяцев наблюдения, таких как смерть, развитие инфаркта миокарда (ИМ) вследствие тромбоза стента или рестеноза симптомзависимой артерии (СЗА). В первую группу (I) вошли 52 пациента, у которых наблюдалось развитие вышеуказанных неблагоприятных событий, во вторую группу (II) – 102 пациента с ОКС без развития осложнений.

Сравнительная характеристика групп по основным клиническим критериям представлена в табл. 1.

В первые сутки от момента поступления проводилась коронароангиография (КАГ) на аппарате INNOVA 3100 (США). Все пациенты, включенные в исследование, подверглись ЧТКА с имплантацией металлического сетчатого эндопротеза в СЗА.

Кроме того, всем больным до проведения ЧКВ и на десятые сутки госпитализации определялись уровни интерлейкина (ИЛ)-6, ИЛ-8, оксида азота (NO), ФНО- α , sP-селектина, и ФфВ количественным методом твёрдофазного ИФА (набор ELISA, США). Измерение содержания исследуемых показателей проводили на иммуноферментном планшетном ридере «Униплан» производства фирмы «ПИКОН» (Москва).

Статистический анализ осуществляли с помощью пакета прикладных программ Statistica 6.0. Использовались следующие методы статистического анализа: проверка нормальности распределения количественных признаков, для описания признаков с нормальным распределением использовали среднее (M) с указанием стандартного отклонения (s), для признаков с отличным от нормального распределения указывали медиану (Me) с указанием межквартильного размаха – 25-й и 75-й процентиля (Lq:Uq), сравнение групп проводили по критерию Манна-Уитни, сравнение качественных признаков проводилось по критерию χ^2

Пирсона, при $n \leq 5$ использовался критерий Фишера. Различия принимались как статистически значимые при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Изучаемые группы больных существенно не различались по совокупности клинических и анамнестических данных (табл. 1). Следует заметить, что в I группе преобладали пациенты с наличием нарушений ритма и проводимости и высоким классом (III-IV) по Killip в первые сутки развития симптомов ОКС.

В настоящее время нет единого понимания причин и механизмов возникновения коронарных осложнений ЧКВ. Все больше внимания уделяется роли факторов воспаления и повышенного тромбообразования, однако, по данным существующих исследований, диагностическая значимость оценки уровня цитокинов заключается только в констатации самого факта повышения или понижения их концентрации у больного ОКС [2, 12, 4, 8]. С нашей точки зрения целесообразно определять динамику изменения концентрации провоспалительных цитокинов и факторов эндотелиальной дисфункции (ЭД) с первых суток развития симптомов ОКС и в течение госпитального периода, после проведения ЧКВ.

Сравнительный анализ лабораторных показателей (табл. 2), полученных до проведения экстренного ЧКВ, показал статистически значимое ($p=0,047$) повышение уровня ФНО- α в I группе пациентов (5,3 (3,44; 6,24), нг/мл) по отношению к группе больных без развития неблагоприятных исходов (3,59 (0,1; 4,94), нг/мл). Известно, что к основным функциям ФНО- α относят усиление экспрессии молекул адгезии, прокоагулянтную активность, индукцию синтеза цитокинов эндотелием [8]. В ряде исследований показано, что ФНО- α в основном продуцируется воспалительными клетками в периинфарктной зоне и активная экспрессия гена ФНО- α сохраняется в кардиомиоците длительное время после перенесенного ИМ, что свидетельствует о влиянии этого цитокина на сосудистое ремоделирование [2, 4]. Таким образом, в нашем исследовании

подтверждается факт того, что повышенная экспрессия ФНО- α у больных в первые сутки от начала развития симптомов ОКС является предиктором высокого риска коронарных осложнений.

В отношении остальных провоспалительных цитокинов и факторов ЭД статистически значимых различий в группах получено не было, что, возможно, объясняется высокой активностью и сложным взаимодействием факторов воспаления и прокоагулянтных агентов эндотелия у больных ОКС с элевацией ST в первые сутки дестабилизации атеросклеротической бляшки.

Далее был проведен сравнительный анализ лабораторных показателей, полученных на десятые сутки после проведения ЧКВ (табл. 3).

Значимое повышение в I группе показал уровень sP-селектина (53,12 (8,58; 162,05), нг/мл, $p=0,005$) против (7,55 (2,88; 39,0), нг/мл) в группе без развития неблагоприятных исходов. Увеличение уровня sP-селектина в плазме крови наиболее выражено при тромботических состояниях, ассоциированных с массивной активацией тромбоцитов и повреждением эндотелия. По результатам существующих работ, повышенный уровень sP-селектина увеличивает риск развития сосудистых осложнений и не зависит от классических факторов риска, а концентрация sP-селектина остается повышенной на протяжении 72 часов от момента развития ОКС [6]. В нашей работе прослеживается тенденция сохранения повышенного уровня sP-селектина на десятые сутки в группе пациентов с развитием НСС, что позволяет оценивать данный показатель как предиктор развития неблагоприятных исходов в отдаленном периоде.

ФфВ – известный маркер ЭД, осуществляющий связь тромбоцитов с эндотелиальным слоем артерии и рассматриваемый как основной предиктор гиперкоагуляции и развития повторных ИМ [1, 7]. В первые сутки от начала развития симптомов ОКС различий в группах по данному фактору не отмечалось, а на десятые сутки появилось значимое ($p=0,049$) снижение ФфВ в I группе (21,32 (2,67; 53,33), Ед/мл) в сравнении с

показателями II группы (47,4 (6,63; 57,2), Ед/мл). Кроме того, наблюдалась обратная корреляция между показателями sP-селектина и ФфВ на десятые сутки исследования как в I группе пациентов ($r = - 0,75$; $p=0,0001$), так и в группе без развития НСС ($r = - 0,41$; $p=0,0034$). Таким образом, полученные нами неоднозначные данные позволяют рассматривать ФфВ как маркер стабилизации эндотелия через десять дней после имплантации стента, а низкий уровень этого показателя может указывать на сохраняющуюся готовность к тромбообразованию внутри стента.

Повышенный уровень ИЛ-8, наблюдаемый на десятые сутки исследования в группе пациентов с развитием НСС (9,29 (4,11; 9,81), нг/мл) в сравнении с показателями II группы (4,71 (2,29; 9,28), нг/мл), подтвердил свою значимость ($p=0,045$) для развития неблагоприятных исходов после ЧКВ у пациентов с ОКС. Существенных различий в группах изучаемых пациентов в отношении ИЛ-6 получено не было.

В настоящее время известно, что ЭД сопровождается снижением секреции NO, обладающего выраженными противовоспалительными, вазодилатирующими и антисклеротическими свойствами [5]. В нашем исследовании показатель NO в группах на десятые сутки также свидетельствует о противовоспалительном и антипролиферативном действии этого фактора, способного снижать риск развития неблагоприятных исходов у больных ОКС после ЧКВ. Так, в I группе показатель был значимо ниже ($p=0,004$) по отношению к II группе пациентов: 11,0 (2,2; 16,2) против 22,3 (11,0; 31,6, мкмоль/мл). Кроме того, выявлена обратная корреляционная зависимость между NO и sP-селектином на десятые сутки как в I группе пациентов ($r = - 0,56$; $p=0,000$), так и во второй ($r = - 0,61$; $p=0,003$), что позволяет судить об антитромботическом действии NO, ограничивающим развитие НСС у больных после ЧКВ. Прямая корреляционная зависимость между NO и ФфВ с высокой значимостью ($p=0,000$) в обеих группах пациентов (r для I

группы = 0,88, а для II группы = 0,62) указывает на протективную роль ФФВ после имплантации стента.

Таким образом, в исследовании показана существенная роль факторов воспаления и ЭД в развитии неблагоприятных исходов у больных ОКС с elevацией ST после проведения ЧКВ.

В первые сутки от развития симптомов острого коронарного синдрома на прогноз течения заболевания влияет повышение уровня экспрессии ФНО- α , а после чрескожных коронарных вмешательств на десятые сутки в большей степени - ИЛ-8.

Высокий уровень sP-селектина отрицательно влияет на прогноз не только в острую фазу заболевания, но и в отдаленном периоде, способствуя развитию тромбоза стента.

Фактор Виллебранда на первые сутки развития симптомов острого коронарного синдрома выступает в качестве маркера дисфункции эндотелия, а на десятые сутки после имплантации стента может рассматриваться как эндотелиопротективный фактор, оказывающий свое влияние наряду с оксидом азота.

PROGNOSIS OF ADVERSE OUTCOME IN PATIENTS WITH ACUTE CORONARY SYNDROME WITH ST ELEVATION AFTER CORONARY STENTING PROCEDURE

S.A. Berns, E.A. Shmidt, E.S. Kiprina, A.V. Klimenkova,
O.E. Avramenko, A.A. Asarov, N.G. Nikonorova, O.L. Barbarash,

Institute of Russian Academy of Sciences «Scientific-Research Institute of Complex Problems of Cardio-Vascular Diseases of Siberian branch of Russian Academy of Medical Sciences», Kemerovo, Russia.

State institution of High Professional Education Kemerovo State Medical Academy, Kemerovo, Russia

Abstract. We studied the risk factors in patients with acute coronary syndrome (ACS) after transcatheter stenting procedure during 12 month. The patients had the elevated ST segment and were undergone by *transcatheter coronary intervention*. Angioplasty procedure with stent implantation was performed in all patients during the first twenty four hours. The rate of cytokines, nitrogen oxide, sP-selectin and von Willebrand factor were determined before stenting procedure and on the tenth day after hospitalization. TNF- α during first twenty-four-hours of ACS, IL-8 and sP-selectin on day 10 of hospitalization were considered as risk factors of adverse prognosis.

Key words: acute coronary syndrome, cytokines, endothelial dysfunction factors.

Литература

1. Бородин А.Г., Шилова О.В., Баранов А.А. и др. Содержание с-реактивного белка и фактора Виллебранда в сыворотке крови у больных с острым коронарным синдромом // Новости здравоохранения. – 2005. – №2. – С. 23-27.
2. Мазаев В.П., Шевченко А.О. Белки острой фазы и риск рестеноза коронарных артерий у больных ИБС // Лаборатория. – 2001. – №4. – С. 3-5.
3. Титов В.Н., Осипов С.Г. Атеросклероз. Роль эндогенного воспаления, белков острой фазы и жирных кислот. – М., 2004. – 279 с.
4. Шахнович Р.М., Басинкевич А.Б. Маркеры воспаления и ОКС // Кардиология СНГ. – 2005. – Том 3, № 1. – С. 59-61.
5. Casino P.R., Kilcoyne C.M., Quyyumi A.A. et al. The role of nitric oxide in endothelium-dependent vasodilation of hypercholesterolemic patients // Circulation. – 1993. – Vol. 88. – P. 2541-2547.
6. Ikeda H., Takajo Y., Ichiki K. et al. Increased soluble form of P-selectin in patients with unstable angina // Circulation. – 1995. – 92. – P. 1693-1696.

7. Jansson J., Nilsson T., Johnsson O. Von Willebrand factor in plasma: a novel risk factor for recurrent myocardial infarction and death // Brit. Heart J. – 1991. – Vol. 66. – P. 351-355.
8. Lewis SJ, Moye LA, Sacks FM et al. Effect of pravastatin on cardiovascular events in older patients with myocardial infarction and cholesterol levels in the average range. Results of the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) trial // Ann Intern Med. – 1998. – Vol. 129. – P. 681-689.
9. Li H., Forstermann U. Nitric oxide in the pathogenesis of vascular disease // J Pathol. – 2000. – Vol.190, № 3. – P. 244-254.
10. Libby P., Ridker P.M. Novel inflammatory markers of coronary risk // Circulation. – 1999. – Vol. 100. – P. 1148-1150.
11. Shoji T., Nishizawa J., Fukumoto M. et al. Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects // Atherosclerosis. – 2000. – Vol. 148. – P. 171-177.
12. Wilcox J.N. Thrombin and other potential mechanisms underlying restenosis // Circulation. – 1991. – Vol. 84. – P. 432-435.

© ГОРДИЕЦ А.В., МАНЧУК В.Т., САВЧЕНКО А.А.

© УДК 616.155.82:616-003.96-053.5

**ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ДЕЗАДАПТАЦИОННЫХ РЕАКЦИЙ
У ПЯТИКЛАССНИКОВ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ АКТИВНОСТИ
ОКСИДОРЕДУКТАЗ В ЛИМФОЦИТАХ КРОВИ**

А.В. Гордиец, В.Т. Манчук, А.А. Савченко

НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН, директор – член-корр.
РАМН Манчук В.Т., Красноярский государственный медицинский университет
им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, ректор – д.м.н., проф. И.П. Артюхов.

Резюме. С помощью морфоденситометрического и биolumинесцентного методов исследована активность ферментов лимфоцитов крови у 48 детей, обучающихся в 5-х классах по традиционной программе. У детей с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе в начале учебного года выявлены изменения активности ферментов лимфоцитов крови, характеризующих активацию аэробного дыхания при депрессии энергопродуцирующих и пластических реакций, снижение активности глицерол-3-фосфат-дегидрогеназы и повышение уровня глутатион-зависимой антиоксидантной защиты клеток.

Ключевые слова: дети, школа, прогноз, адаптация, ферменты, лимфоцит.

Гордиец Анастасия Викторовна – к.м.н., доцент кафедры поликлинической педиатрии и пропедевтики детских болезней с курсом ПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого; e-mail: gordiezav@ya.ru, тел. 8(391)2126361.

Манчук Валерий Тимофеевич – член-корр. РАМН, профессор кафедры поликлинической педиатрии и пропедевтики детских болезней с курсом ПО КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, директор НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН; e-mail: imnpn@scn.ru, тел. 8(391)2231963.

Савченко Андрей Анатольевич – д.м.н., проф., зав. кафедрой физиологии КрасГМУ им. проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого, руководитель лаборатории молекулярно-клеточной физиологии и патологии НИИ медицинских проблем Севера СО РАМН; тел. 8(391)2231963.

Оценка уровня здоровья и адаптивных возможностей ребенка не может быть адекватной без использования критериев, характеризующих состояние иммунной системы –основной системы, обеспечивающей антигенно-структурный гомеостаз и защитные реакции организма. Основной функциональной единицей иммунной системы является лимфоцит. По результатам исследования ряда авторов было обосновано положение, согласно которому по метаболическим параметрам лимфоцитов можно судить о направленности обменных процессов организма в целом. Большое количество исследований, опубликованных в последние годы, убедительно показало высокую информативность показателей гидролитических и окислительно-восстановительных ферментов лимфоцитов, возможность их использования для наблюдения за эффективностью терапии и прогноза течения многих заболеваний [3,4,11,12,14]. По мнению ряда авторов, ферменты лимфоцитов могут быть использованы в качестве маркеров адаптационных реакций организма [2,5]. Одним из критических периодов школьного обучения является переход на предметное обучение в 5-м классе, в этот период увеличивается интенсивность учебных нагрузок в условиях дефицита времени. Возраст 12 лет в процессе созревания организма является переломным, происходит интенсивный рост и увеличение размеров тела, рост и дифференцировка органов и тканей. Половой диморфизм проявляется в особенностях обменного процесса, темпа роста и развития отдельных функциональных систем и всего организма в целом [8].

Целью нашего исследования было изучение активности внутриклеточных ферментов лимфоцитов периферической крови у пятиклассников для оценки адаптационных возможностей организма.

Материалы и методы

Всего обследовано 170 детей г. Красноярск, обучающихся в 5-х классах массовой школы по традиционной программе, методом сплошной выборки были отобраны 48 учащихся 5-х классов (22 девочки и 26 мальчиков). Критериями включения при формировании группы выступали 1-я, 2-я группы здоровья ребенка и информативное согласие родителей; критериями исключения выступали 3-я, 4-я, 5-я группы здоровья и несогласие родителей ребенка [7]. Данный отбор позволил исключить из обследования детей с острыми или хроническими заболеваниями, что в свою очередь исключало иммунопатологические процессы у детей в начале учебного года. Прогноз течения адаптации к школе проводили согласно методической рекомендации Р.Р. Шиляева с соавт. [13]. Венозную кровь из локтевой вены забирали в пробирки с гепарином, затем выделение лимфоцитов производили центрифугированием в градиенте плотности фиколл-верографина по методу А. Воуит в модификации, описанной Дж. Б. Натвигом с соавт. [6].

Концентрацию лимфоцитов подсчитывали в камере Горяева. При контроле морфологического состава лейкоцитарных взвесей определялась чистота выхода лимфоцитов, которая составляла не менее 97%. В дальнейшем 1 млн. выделенных клеток замораживали в микропробирках и использовали для определения НАД- и НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ лимфоцитов биolumинисцентным методом [9,10]. Для оценки активности сукцинатдегидрогеназы (СДГ) и α глицерофосфатдегидрогеназы (α ГФДГ) применяется метод компьютерной цитоморфоденситометрии [2,5].

Для всех данных определяли среднее арифметическое значение (M), среднее квадратическое отклонение (s), ошибку средней арифметической (m). Проверку гипотезы о статистической достоверности двух выборок проводили с помощью критерия Манна-Уитни. Для исследования силы взаимосвязей

показателей вычислялся коэффициент корреляции Спирмена. Для решения задач системного анализа использовали нейросетевой классификатор [1].

Результаты и обсуждение

У пятиклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации выявлено достоверное снижение ($p < 0,001$) уровней активности глицерол-3-фосфатдегидрогеназы (ГЗФДГ), НАДФ-ЗАВИСИМЫЙ МАЛАТДЕГИДРОГЕНАЗЫ (наДФмдг ($p < 0,05$)), тенденция к снижению ($0,1 \square$) р активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ), обратной НАД-зависимой глутаматдегидрогеназы (Обр.НАДГДГ) ($0,1 \square$) и обратной НАДФ-зависимой глутаматдегидрогеназы (Обр.НАДФГДГ) ($0,1 \square$) р по при достоверном повышении уровня глутатионредуктазы (ГР) ($p < 0,001$) относительно аналогичных показателей детей с благоприятным прогнозом адаптации (табл 1).

Фермент СДГ считается одним из наиболее информативных и стабильных показателей энергообеспеченности клетки [2]. По площади и периметру гранул диформаза, по оптической плотности можно судить об активности фермента. Так как СДГ прочно связана с внутренней мембраной митохондрий [5], то усредненное расстояние между гранулами характеризует состояние митохондриального компартмента клетки. Достоверных различий в активности СДГ у первоклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе в начале учебного года, по сравнению с детьми, имеющими благоприятный прогноз течения адаптации к школе, не выявлено (рис 1).

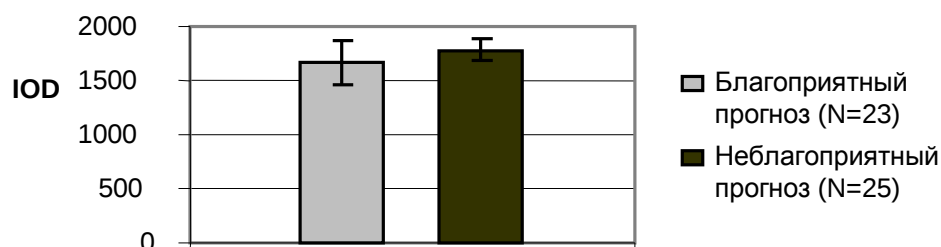


Рис.1. Интегральная оптическая плотность гранул диформаза при реакции

на СДГ в лимфоцитах крови (пиксель²×е.о.п.) у детей, обучающихся в 5-х классах, в начале учебного года в зависимости от прогноза течения адаптации к школе.

У пятиклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе обнаружено статистически достоверное ($p < 0,05$) уменьшение площади гранул диформаза, образованных в результате ферментативной реакции α ГФДГ ($1,63 \pm 0,10$ и $1,32 \pm 0,10$ мкм² соответственно) и интегральной оптической плотности (IOD) ($p < 0,01$) ($2473,91 \pm 206,17$ и $1709,82 \pm 109,54$ пиксель²×е.о.п. соответственно), что указывает на снижение активности α ГФДГ в лимфоцитах крови у этой группы детей (рис.2).

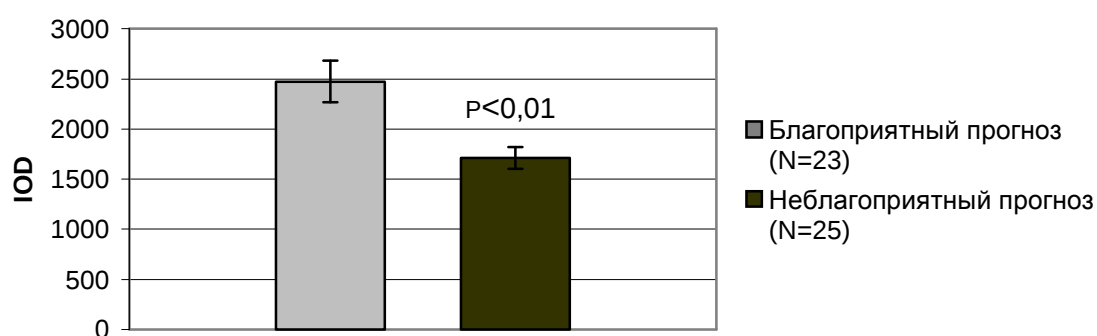


Рис.2. Интегральная оптическая плотность гранул диформаза при реакции на α ГФДГ в лимфоцитах крови (пиксель²×е.о.п.) у детей, обучающихся в 5-х классах, в начале учебного года в зависимости от прогноза течения адаптации к школе.

Исследована корреляционная взаимосвязь между параметрами активности ферментов лимфоцитов у пятиклассников с благоприятным и неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе. Обнаружено, что исследуемые показатели метаболизма лимфоцитов у детей этих двух групп достаточно тесно взаимосвязаны. Схема общих и специфических (свойственных только детям с неблагоприятным прогнозом) корреляционных взаимосвязей уровней активности ФАД-, НАД- и НАДФ-зависимых

дегидрогеназ лимфоцитов крови у пятиклассников в зависимости от прогноза течения адаптации представлена на рис. 3.

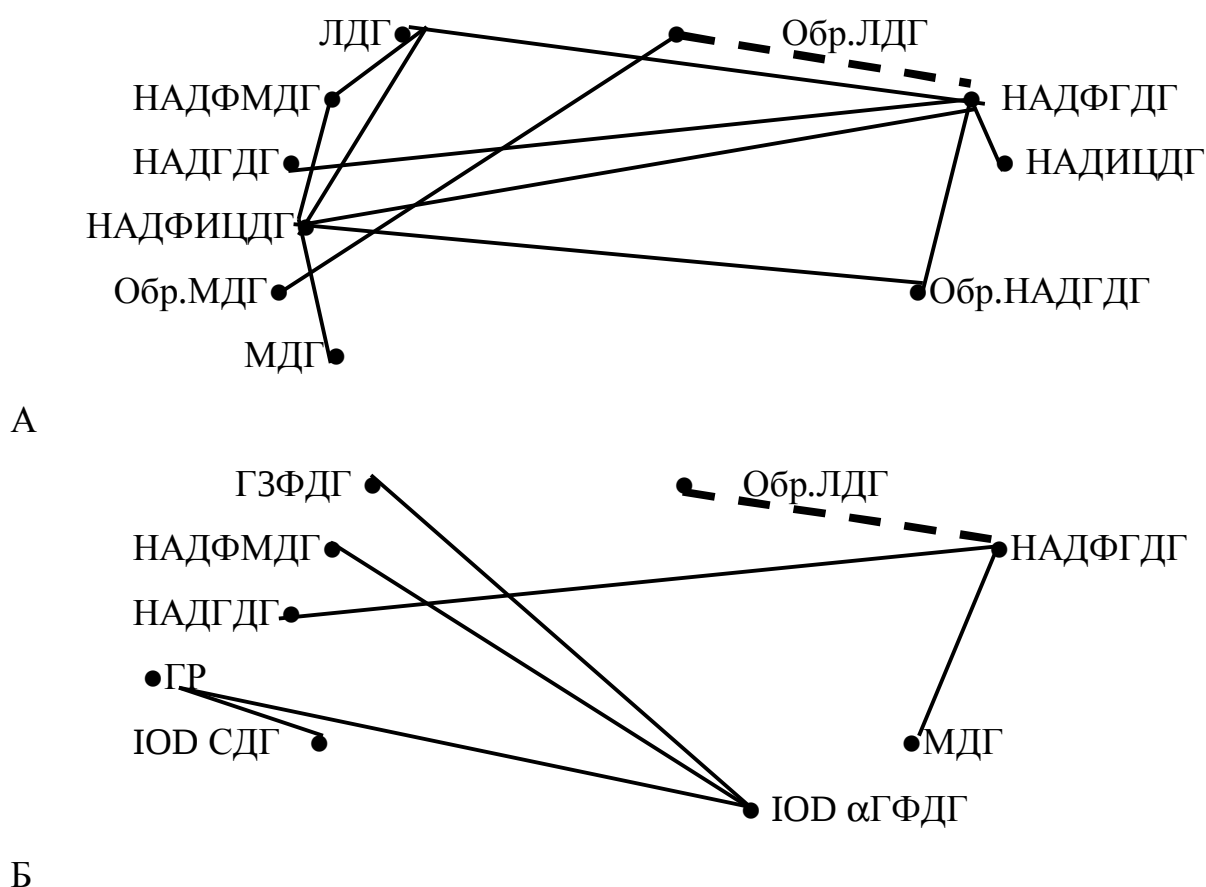


Рис. 3. Общие (А) и специфические (Б) корреляционные взаимосвязи у учащихся 5-х классов в зависимости от прогноза течения адаптации.

Примечание: Сплошной линией обозначены положительные корреляционные взаимосвязи (достоверность 95% и выше), пунктирной линией – отрицательные (достоверность 95% и выше).

У детей, обучающихся в 5-х классах, с благоприятным и у детей с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе установлены общие положительные корреляционные связи между активностью ЛДГ и НАДФ-зависимой малатдегидрогеназы (малик-фермент) ($r=0,51$, $p<0,05$ и $r=0,44$, $p<0,05$ соответственно), НАДФ-зависимой изоцитратдегидрогеназы (НАДФИЦДГ) ($r=0,50$, $p<0,05$ и $r=0,52$, $p<0,01$ соответственно). Уровень малик-

фермента положительно взаимосвязан в обеих группах детей с активностью НАДФИЦДГ ($r=0,56$, $p<0,01$ и $r=0,40$, $p<0,05$ соответственно).

У детей, обучающихся в 5-х классах, с благоприятным и у детей с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе активность НАДФГДГ взаимосвязана с ЛДГ ($r=0,51$, $p<0,05$ и $r=0,44$, $p<0,05$ соответственно), с НАДФИЦДГ ($r=0,82$, $p<0,001$ и $r=0,87$, $p<0,001$ соответственно), с НАД-зависимой изоцитратдегидрогеназой (НАДИЦДГ) ($r=0,66$, $p<0,001$ и $r=0,47$, $p<0,05$ соответственно), с Обр.НАДГДГ ($r=0,59$, $p<0,01$ и $r=0,67$, $p<0,001$ соответственно).

В результате проведенного корреляционного анализа выявлены тесные положительные взаимосвязи у обеих групп пятиклассников между уровнями НАДФИЦДГ и МДГ ($r=0,44$, $p<0,05$ и $r=0,66$, $p<0,001$ соответственно) и Обр.НАДГДГ ($r=0,71$, $p<0,001$ и $r=0,66$, $p<0,001$). Активность НАДГДГ у обеих групп пятиклассников взаимосвязана с уровнем НАДФГДГ ($r=0,66$, $p<0,001$ и $r=0,47$, $p<0,05$ соответственно).

У обеих групп пятиклассников обнаружена отрицательная корреляционная взаимосвязь между внутриклеточной активностью анаэробной реакции ЛДГ и НАДФГДГ ($r= - 0,42$, $p<0,05$ и $r= - 0,43$, $p<0,05$ соответственно), тогда как выявлена сильная положительная связь между активностью анаэробной реакции ЛДГ и НАДН-зависимой МДГ ($r=0,98$, $p<0,001$ и $r=0,91$, $p<0,001$ соответственно). Кроме того, только у детей, обучающихся в 5-х классах, с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе было выявлена специфическая корреляционная взаимосвязь между IOD СДГ и ГР ($r=0,41$, $p<0,05$).

Наблюдаемое в начале учебного года понижение активности α ГФДГ и ГЗФДГ у пятиклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе подтверждается наличием между ними положительной корреляционной связи ($r=0,51$, $p<0,01$). У этой группы пятиклассников выявлена также положительная связь между IOD α ГФДГ и НАДФМДГ ($r=0,49$, $p<0,05$).

Кроме того, у пятиклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе обнаружены положительные и отрицательные связи между активностью НАДФГДГ и НАДГДГ ($r=0,64$, $p<0,001$), активностью анаэробной реакции ЛДГ ($r= - 0,43$, $P<0,05$). Выявленная сильная положительная корреляционная связь у пятиклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации между активностью МДГ и НАДФГДГ ($r=0,64$, $p<0,001$) указывает на то, что часть метаболитов с аминокислотного обмена поступает на цикл Кребса.

С помощью нейросетевого классификатора установлено, что наиболее информативными показателями внутриклеточного метаболизма лимфоцитов в нейросетевой модели дети, обучающихся в 5-х классах, с благоприятным прогнозом – пятиклассники с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе явились уровни активности Обр.НАДФГДГ, ЛДГ, ГЗФДГ, Обр.НАДГДГ, НАДФМДГ (рис. 4).

Низкий уровень ЛДГ осенью, у пятиклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации, указывает на недостаточность субстратного наполнения аэробных энергопродуцирующих реакций. Корреляционные связи ЛДГ у пятиклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации отражают зависимость интенсивности субстратного потока по ЦТК от уровня аэробной реакции ЛДГ, осуществляющей синтез субстрата для окислительно-восстановительных реакций митохондриального компартмента и уменьшение поступления продуктов белкового распада в цикл Кребса. ЛДГ обладает высоким уровнем значимости у школьников 5-х классов, что подтверждается нейросетевым классификатором.

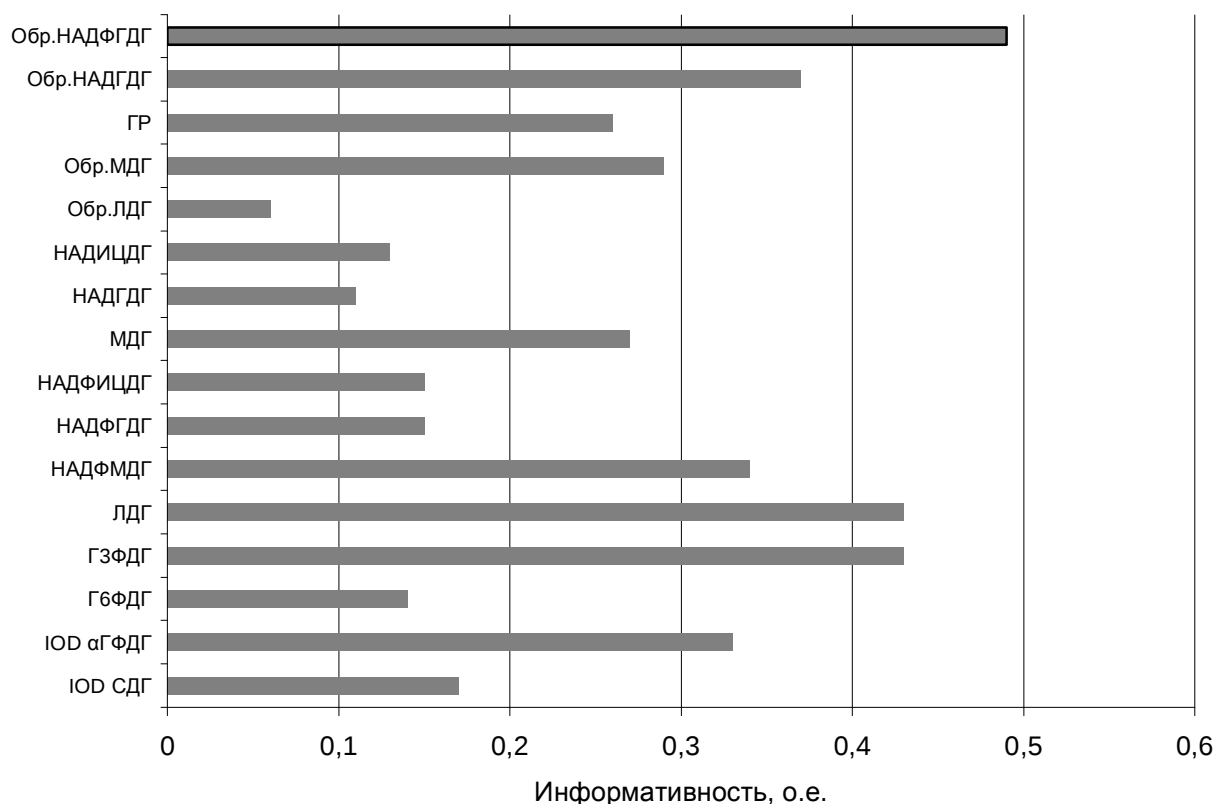


Рис. 4. Информативность уровней оксидоредуктаз в лимфоцитах крови в модели нейросетевого классификатора пятиклассники с благоприятным прогнозом течения адаптации - пятиклассники с неблагоприятным прогнозом течения адаптации.

Обнаружено, что в начале учебного года в лимфоцитах крови у пятиклассников с неблагоприятным прогнозом течения адаптации, активность Обр.НАД-ГДГ снижена. Подобное изменение активности метаболических реакций отражает снижение оттока интермедиатов с ЦТК на процессы аминокислотного обмена, что может отрицательно влиять на различные реакции белкового синтеза, это подтверждается с помощью нейросетевого классификатора (Обр.НАДГДГ). Уровень ГР в лимфоцитах школьников 5-х классов с неблагоприятным прогнозом течения адаптации повышен, что отражает высокую пролиферативную и антиоксидантную активность лимфоцитов периферической крови. СДГ положительно коррелирует с ГР,

следовательно, можно предположить, что активируются аэробные энергетические процессы лимфоцитов.

Необходимо отметить, что в сравниваемых группах школьников 5-х классов показатели активности ГЗФДГ имели статистически значимых различий (табл. 1). Известно, что Г6ФДГ, является ключевым и инициализирующим ферментом пентозофосфатного цикла которого используется в реакциях макромолекулярного синтеза [3,4]. В нашем исследовании активность ферментов в лимфоцитах крови изучена у практически здоровых детей (1-я и 2-я группы здоровья), адаптирующихся к условиям предметного обучения средней школы. При этом наиболее выраженные изменения установлены со стороны ферментативных реакций, определяющих энергетические процессы, тогда как интенсивность пластических процессов в лимфоцитах периферической крови у детей наблюдаемых нами не изменяется.

Таким образом, у детей, обучающихся в 5-х классах, с неблагоприятным прогнозом течения адаптации к школе в начале учебного года происходит изменение активности ферментов лимфоцитов крови, характеризующих активацию аэробного дыхания при депрессии энергопродуцирующих реакций, снижение активности ГЗФДГ и повышение уровня глутатион-зависимой антиоксидантной защиты клеток.

OXIDOREDUCTASE ACTIVITY IN BLOOD LYMPHOCYTES FOR PROGNOSIS OF DISADAPTATION REACTION AMONG YOUNG TEENAGERS

A.V. Gordiets, V.T. Manchouk, A.A. Savchenko

Institute of Medical Problems of the North, Siberian Division, Russian Academy of
Medical Sciences

Krasnoyarsk State Medical University named after Prof. V.F. Voino-Yasenetsky

Abstract. We studied enzyme activity in blood lymphocytes by
morphodensitometry and bioluminescent methods in 48 children which were taught

by traditional education program. We revealed the decreased activity of glycerol- 3-phosphate dehydrogenase activity and increased activity of glutathione-dependent antioxidant cell protection in children with adverse prognosis of disadaptation course in the beginning of the school year. These changes in enzyme activity characterize the activation of anaerobic respiration at depression of energy producing and plastic reactions.

Key words: children, prognosis, adaptation, enzymes, lymphocyte.

Литература

1. Горбань А.Н., Россиев Д.А. Нейронные сети на персональном компьютере. – Новосибирск: Наука, 1996. – 276с.
2. Коган Э.М., Жукоцкий А.В., Говорун В.М. Использование компьютерной морфоденситометрии в современной молекулярно-диагностической практике // Вопр. медицинской химии. – 1988. – №6. – С.527-536.
3. Куртасова Л.М., Савченко А.А., Манчук В.Т. Метаболические аспекты иммунореактивности детей с атопическими заболеваниями. Новосибирск: Наука, 2006. – 222с.
4. Куртасова Л.М., Голованова А.Е., Савченко А.А. Энзиматический статус лимфоцитов крови у детей в раннем возрасте с вирусом Эпштейна-Барр // Бюл. эксперим. биол. и медицины. – 2010. – Т.148, № 3. – С.313-316.
5. Нарциссов Р.П. Анализ изображения клетки – следующий этап развития клинической цитохимии в педиатрии // Педиатрия. – 1998. – №4. – С.101-105.
6. Натвиг Дж.Б. Лимфоциты: выделение, фракционирование, характеристика / пер. с англ. – М.: Медицина, 1980. – 340 с.
7. Приказ Минздрава Российской Федерации от 30.12.2003г. № 621 «О комплексной оценке состояния здоровья детей».
8. Руководство по амбулаторно-поликлинической педиатрии / под. ред. А.А. Баранова. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 608с.

9. Савченко А.А., Сунцова Л.Н. Высокочувствительное определение активности дегидрогеназ в лимфоцитах периферической крови человека биолюминесцентным методом // Лабораторное дело. – 1989. – №11. – С.23-25.
10. Савченко А.А. Биолюминесцентное определение активности НАД- и НАДФ-зависимых глутаматдегидрогеназ лимфоцитов // Лабораторное дело. – 1991. – № 11. – С.22-25.
11. Семенова Г.Ф., Комарова Е.В., Потапов А.С. и др. Информативность основного энергообмена митохондрий лимфоцитов периферической крови у детей с хроническими запорами // Вопр. современной педиатрии. – 2007. – Т. 6, № 3. – С.48-52.
12. Уразова О.И., Кравец Е.Б., Новицкий В.В. Активность перекисного окисления липидов и системы глутатиона в лимфоцитах крови у больных диффузным токсическим зобом // Бюл. Сибирской медицины. – 2008. – Т. 7, № 4. – С.47-51.
13. Шиляев Р.Р., Солнцев А.А., Философова М.С. Мероприятия по облегчению адаптации детей к условиям дошкольного учреждения и школы. – Иваново, 1987. – 31с.
14. James S.J., Rose S., Melnyk S. et al. Cellular and mitochondrial glutathione redox imbalance in lymphoblastoid cells derived from children with autism // FASEB J. – 2009. – Vol. 23, № 8. – P.2374-238.

Таблица 1

Активность НАД(Ф)-зависимых дегидрогеназ (мкЕ) лимфоцитов крови у детей, обучающихся в 5-х классах, в начале учебного года в зависимости от прогноза течения адаптации к школе ($M \pm m$)

Показатели	Благоприятный прогноз n=23	Неблагоприятный прогноз n=25	p
Г6ФДГ	1,05±0,24	0,64±0,14	
Г3ФДГ	1,60±0,28	0,18±0,07	p<0,001
ЛДГ	48,72±5,94	34,20±4,79	0,1>p>0,05
МДГ	20,40±2,43	20,62±2,43	
НАДФМДГ	4,63±1,19	1,53±0,39	p<0,05

НАДФГДГ	2,55±0,58	3,79±0,64	
НАДГДГ	1,63±0,53	0,69±0,35	
НАДИЦДГ	3,30±0,23	3,46±0,49	
НАДФИЦДГ	39,60±4,79	42,67±4,35	
Обр.ЛДГ	101,52±13,90	96,46±12,02	
Обр.МДГ	125,54±11,00	123,70±10,20	
ГР	0,01±0,001	14,15±4,17	p<0,001
Обр.НАДГДГ	44,95±5,29	34,01±3,09	0,1>p>0,05
Обр.НАДФГДГ	176,79±15,10	142,09±11,60	0,1>p>0,05

© КАРАЧЁВА Ю.В., ПРОХОРЕНКОВ В.И., ГАЙДАШ А.А., НОВИКОВ А.И., БАБЕНКО О.А., ЧИГОДАЙКИН Г.П.

УДК 616.5.157:616.5-018-091

**СТРУКТУРНЫЕ ИЗМЕНЕНИЯ КОЖИ ПРИ БУЛЛЕЗНЫХ
ДЕРМАТОЗАХ
(СООБЩЕНИЕ 2)**

Ю.В. Карачёва, В.И. Прохоренков, А.А. Гайдаш, А.И. Новиков, О.А.

Бабенко, Г.П. Чигодайкин

Красноярский государственный медицинский университет им. проф. В.Ф.

Войно-Ясенецкого, ректор – д.м.н., проф. И.П. Артюхов;

Омская государственная медицинская академия, ректор – д.м.н., проф.

А.И. Новиков.

Резюме. Методами электронной и атомно-силовой микроскопией исследованы состояния эпидермиса и дермы у больных герпетиформным дерматозом Дюринга и врожденным буллезным эпидермолизом.

При дерматозе Дюринга выявлено гидротическая дистрофия кератиноцитов, колликвационный некроз, а также первичное уплотнение («полимеризация») матрикса межклеточного вещества. При врожденном буллезном эпидермолизе выраженными морфологическими признаками были апоптоз, обусловленный феноменом пенетрацией митохондрий в матрикс клеточных ядер.

Ключевые слова: герпетиформный дерматоз Дюринга, врожденный буллезный эпидермолиз, электронная микроскопия, атомно-силовая микроскопия, ИК-спектроскопия.

Карачёва Юлия Викторовна – к.м.н., доц. каф. кожных и венерических болезней с курсом последипломного образования (ПО) КрасГМУ, e-mail: venera@krsk.info, тел. 8 (391) 2114101.

Прохоренков Виктор Иванович – д.м.н., проф., зав. каф. кожных и венерических болезней с курсом последипломного образования (ПО) КрасГМУ, e-mail: venera@krsk.info, тел. 8 (391) 2114101.

Гайдаш Александр Александрович – д.м.н., старший научный сотрудник научного исследовательского сектора ЦНИЛ КрасГМУ, e-mail: jack200@ngs.ru, тел. 8 (391) 2201914.

Цель работы: изучить ультраструктурные изменения в эпидермисе и коллаген-протеогликановом комплексе основного вещества дермы для выявления специфических особенностей морфогенеза при герпетиформном дерматозе Дюринга и врожденном буллезном эпидермолизе.

Материалы и методы

Биоптаты кожи 16 больных герпетиформным дерматозом Дюринга и 6 больных врожденным буллезным эпидермолизом были исследованы методами трансмиссионной электронной микроскопии, атомно-силовой микроскопии и ИК-спектроскопии. Материалы и методы подробно изложены в первом сообщении (Сибирское медицинское обозрение. – 2010. – №2. – С. 40-45).

Результаты и обсуждение

Морфологические особенности кожи при дебютном проявлении герпетиформного дерматоза Дюринга.

По данным электронно-микроскопического исследования, кератиноциты ,при дебютном проявлении герпетиформного дерматоза Дюринга (ГД) на большей части протяжения эпидермиса (вне пузырей), проявляют отчетливо выраженные признаки сохранности тонофибрилярного аппарата, включая десмосомы. Однако имеются отдельные клетки, в подъядерной области которых накапливаются миелиноподобные частицы. Значительное число кератиноцитов находится в состоянии вакуольной (гидропической) дистрофии с формированием крупных «баллонов», располагающихся преимущественно на боковой стороне цитоплазмы вблизи ядра (рис. 1). Водосодержащие «баллоны»

сдавливают ядро, которое приобретает характерную форму в виде широкого полулуния. В целом в такой клетке наблюдается уменьшение количества тонофиламентов. Измененные подобным образом кератиноциты, как правило, располагаются одиночно и появляются преимущественно в отдалении от стенки пузырей, сохраняя связь с соседними кератиноцитами посредством ослабленного аппарата тонофиламентов и десмосом. Обращает на себя внимание то, что межклеточные контакты с участием тонофиламентов сохраняются даже в ситуации полного колликвационного распада кератиноцитов. Среднее расстояние между кератиноцитами колеблется в пределах 764 нм. Об относительной сохранности тонофибрилл свидетельствует и показатель удельного объема этой фракции в эпидермисе, значение которого близко к норме и варьирует в пределах 72% (в норме 85% от объема эпидермиса). Указанные морфометрические показатели свидетельствуют о сохранении опорной функции тонофиламентов. Вместе с тем, некоторые кератиноциты, которые располагаются непосредственно вблизи пузырей, проявляют все признаки высвобождения из межклеточных контактов. Эти клетки увеличены в объеме, нередко приобретают округлую форму, в цитоплазме содержится редуцированный аппарат тонофиламентов, значительная часть десмосом разрушена [2]. Наличие таких клеток, возможно, дало основание некоторым авторам описывать их как акантолитические клетки при ГД [4]. Вместе с тем, другие авторы отрицали наличие акантолитических клеток в коже больных ГД [3]. На наш взгляд эти клетки, похожие на акантолитические, представляли форму, предшествующую колликвационному некрозу. Акантолитические же клетки формируются в результате особой формы апоптоза (анойкис), развивающегося при лизисе десмосом [8].

В окружающем межклеточном пространстве выражен отек и накапливается детрит. Указанные морфологические электронно-микроскопические особенности хорошо согласовываются с гистопатологическими проявлениями гидропической дистрофии с исходом в колликвационный некроз. Эти изменения явно развиваются на фоне диспластических изменений в

структурной организации ядерного аппарата кератиноцитов. Электронно-микроскопически это проявляется, прежде всего, в виде лизиса эухроматина, который не склонен конденсироваться в плотные частицы гетерохроматина (в ситуации крайних проявлений ядра приобретают пузырькообразную форму). Клеточным ядрам, измененным подобным образом, не свойственна и маргинальная ориентация хроматина. Эти морфологические признаки более характерны для дистрофически-некротического повреждения клеток. При апоптозе, как известно, наоборот хроматин склонен к конденсации, а сформировавшийся гетерохроматин плотно фиксируется к внутреннему листку ядерной мембраны. На ранних этапах апоптоза конденсирующийся хроматин перемещается в периферические отделы внутреннего ядерного пространства, что собственно и формирует феномен его маргинальной ориентации [8]. На преимущественно некротическую деструкцию кератиноцитов при ГД косвенно указывает и низкая активность каспазы в эпидермоцитах, расположенных в непосредственной близости от пузыря и на участках эпидермиса далеко за пределами пузырьных высыпаний. Проллиферативная активность кератиноцитов остается достаточно высокой – клетки интенсивно экспрессируют Ki67 и формируют морфологически четко оформленные эпидермальные диффероны [2]. Однако состояние ядрышек, в значительной части эпидермоцитов, проявляет явные признаки депрессии функциональной активности (и, прежде всего, синтетической) в виде сепарации и трансформации в фибриллярные типы.

Одним из патогномоничных гистопатологических проявлений ГД является интенсивная лейкоцитарная инфильтрация дермы. При этом в инфильтрате доминируют нейтрофилы. Характерным является акантоз, при этом большая часть сосочков имеет микроабсцессы, «атакующие» базальную мембрану, разрушение которой на некоторых участках очень выражено. Дискретность расположения абсцессов, возможно, обусловлена аффинитетом со стороны очагов отложения иммунных депозитов. По данным электронно-микроскопического исследования, основные изменения в базальной мембране

проявляются в виде очаговых расслоений и довольно обширных утолщений, неравномерной концентрации полудесмосом, очаговых разрывов и отложений депозитов. Помимо этого в мембранном матриксе имеются и дефекты, представленные простыми, как правило, сквозными отверстиями диаметром до 300 нм и заполненные полиморфным детритом, включая миелиноподобные слоистые частицы (рис. 2). Характерен и отек в подмембранной зоне, сопровождающийся разрушением фиксирующих коллагеновых нитей, приходящихся на якорные волокна. В ранних стадиях формирования пузырей изменения более выражены в базальном слое, на более поздних стадиях в патологический процесс вовлекались и *lamina lucida*, а позже и *lamina densa* базальной мембраны. Процесс этот явно протекает синхронно с развитием клеточной инфильтрации подбазальных отделов сосочков кожи.

Кератиноциты отрывались от базальной мембраны преимущественно вдоль базального отдела тела клеток с распадом на несколько фрагментов. При этом один из фрагментов может плотно прилегать к базальной мембране (которая в этих местах, как правило, утолщена), а второй фрагмент отходил от тела клетки по механизму ее «раскалывания» в продольном направлении. В образующемся свободном пространстве залегают цитоплазматический детрит и нитчатые структуры. Данные о клетках Лангерганса (КЛ) при ГД малоизученны и разноречивы. Одни авторы находили разное увеличение числа КЛ при ГД [3]. Другие авторы отмечали резкое уменьшение данных клеток при ГД [7]. Принимая во внимание то, что при дерматите Дюринга остается не изученной роль клеток Лангерганса, мы сделали множественные послойные срезы и нашли одиночные отростчатые клетки в очагах расслоения базальных эпидермоцитов. В цитоплазме этих клеток выявляются типичные «теннисные ракетки» – гранулы Бирбека, расположенные вблизи аппарата Гольджи. Интересным обстоятельством является то, что большая часть этих клеток проявляет отчетливые признаки повреждения в виде локальной секвестрации периферических отделов цитоплазмы. На месте коагулированной цитоплазмы накапливаются слоистые частицы, объем и характер которых свидетельствует о

массированном распаде мембранных структур. В эпидермисе отмечается небольшое количество клеток, экспрессирующих на мембранах CD1α+[2].

По данным атомно-силовой микроскопии кожи, для герпетиформного дерматита наиболее характерным является разрушение коллагеновых фибрилл, прежде всего в области формирования пузыря. При этом в основном веществе дермы накапливается детрит, морфологически образованный довольно мелкими частицами, размерами в пределах от 25 до 50 нм (рис. 3). Более крупные частицы и их агрегаты накапливаются ближе ко дну пузыря. В целом основное вещество дермы в области пузырей, можно характеризовать как зону грубодисперсного озоления. Результаты локальной адгезиометрии свидетельствуют о том, что основное вещество в области пузырей является достаточно вязкой средой и характеризуется гипергидратацией. За пределами пузырей в коллагеновых волокнах сохраняется характерная Д-периодичность. Однако сами фибриллы истончаются. Показатель адгезионных сил значительно ниже, чем в коже здоровых субъектов. Падение значения показателя адгезионных сил коллагеновых волокон за пределами пузыря свидетельствует об их дегидратации, уменьшении смачиваемости и снижении способности коллагеновых белков к удержанию воды (снижение гидрофильности). Принципиально дифференциально-морфологическим критерием является снижение пористости межуточного вещества, в котором структурированных каналов при герпетиформном дерматите Дюринга нами не найдено.

Морфологические особенности кожи при дебютном проявлении врожденного буллезного эпидермолиза (простая форма).

При врожденном буллезном эпидермолизе (ВБЭ) базальная мембрана равномерно истончена практически на всем протяжении, но сквозные дефекты не характерны. Имеются отдельные очаги отслоения базальных кератиноцитов от мембраны. Если при болезни Дюринга отслоение базальных кератиноцитов от подлежащей мембраны является преимущественно продольным, то при ВБЭ базальные эпидермоциты отслаиваются в основном в поперечном направлении. Есть еще одна особенность, а именно, при ВБЭ базальные эпидермоциты

склонны отслаиваться фрагментарно, сохраняя контакты с базальной мембраной в виде единичных тонких цитоплазматических отростков (рис. 4), а сама клетка приобретает шаровидную форму. Нередко цитоплазматические отростки подвергаются секвестрации и лизису. Важной особенностью врожденного буллезного эпидермолиза является накопление в межклеточном пространстве базальных отделов частиц, напоминающих фибриллярные тельца. Как правило, эти частицы имеют округлую форму, отлагаются в расширенных межклеточных щелях вблизи формирующихся дефектов в базальной мембране. Источником этих частиц, возможно, являются отторгающиеся периферические фрагменты цитоплазмы отростчатых клеток, мигрировавших в базальные отделы эпидермиса.

Численная плотность тонофиламентов и десмосом по отношению к здоровой коже несколько снижена как при дерматите Дюринга, так и буллезном эпидермолизе. Отмечается появление очагов подъядерного разрушения цитоплазматических структур. Очаги довольно крупные, располагаются, как правило, на одном полюсе клетки и сдавливают ядро, которое приобретает характерную форму – в виде неполного полулуния. Подобные клетки появляются преимущественно за пределами пузырей и сохраняют связь с соседними кератиноцитами посредством ослабленного аппарата тонофибрилл и десмосом. При дерматите Дюринга измененные подобным образом кератиноциты, как правило, одиночны, при буллезном эпидермолизе нередко группируются.

В морфогенезе повреждений кератиноцитов отчетливо просматривается механизм, который явно связан с активацией митохондрий. На это указывают накопление измененных митохондрий в очагах разрушения цитоплазмы и миграция митохондрий в перинуклеарную область. В последнем случае митохондрии непосредственно контактируют с наружным листком ядерной мембраны, занимают атакующее положение и формируют эффектный феномен митохондрий «клюющих» ядерную мембрану (рис. 5). Кроме того, митохондрии устремляются и к местам контактов эпидермоцитов с базальной

мембраной и нередко появляются в очагах разрыхления в межклеточном пространстве. При этом они увеличены в объеме, митохондриальный матрикс мутноват, крипты набухшие, имеются множественные дефекты в обоих листках митохондриальной мембраны (рис. 6). Обращает на себя внимание, что в местах разрывов листки во внешней митохондриальной мембране направлены кнаружи, что, возможно, обусловлено действием давления со стороны внутреннего мембранного комплекса, площадь которого за счет складчатости крист, значительно больше, чем площадь наружной мембраны митохондрий. К настоящему времени установлены различные механизмы набухания митохондрий. Прежде всего, набухание митохондрий напрямую связывают с расширением (до 3 и более нанометров) поровых комплексов митохондриальных мембран (permeability transition pore (PTP) и устремлением в гиперосмолярный матрикс воды [5]. Набуханию митохондрий может способствовать увеличение ионной проницаемости внутренней мембраны. Не меньшее значение имеют конформационные девиации олигомеров белка Bax с образованием в наружной мембране митохондрий *por de novo* [6]. Так или иначе, но именно пористая трансформация митохондриальных мембран обеспечивает выход в цитозоль цитохрома c, активирующего каспазы. Возможно, с изменением митохондрий связан процесс апоптоза кератиноцитов при врожденном буллезном эпидермолизе (ВБЭ). Морфологически апоптозные кератиноциты имеют характерный вид. Клетки сжаты, на их поверхности образуются цитоплазматические выросты, напоминающие медвежьи ушки (блеббинг). Расслоение ядерных мембран нередко заканчивается «пузырением» перинуклеарного пространства. По мере развития апоптоза ядра сжимаются, хроматин конденсируется и смещается в периферические отделы внутреннего ядерного пространства. К терминальной стадии апоптоза тело клетки подвергается коагуляции и распадается с образованием апоптотических частиц, большая часть которых фагируется прилежащими кератиноцитами.

При акантолитической пузырьчатке, по крайней мере, у впервые заболевших, триггерную роль в морфогенезе, по-видимому, играют клетки Лангерганса,

запуская механизмы анойкиса. Что касается деструктирующего отека основного вещества кожи, то с учетом данных атомно-силовой микроскопии его патогенез вполне можно рассматривать вне модели Старлинга, которую мы называем секвестрирующей. Согласно этой модели, основным механизмом отека является сброс (секвестр) воды коллагеном и выход ее по вновь образованным наноканалам в интерстиций дермы. В стадии образования пузырей наблюдается уменьшение значений показателей адгезионной силы, что однозначно свидетельствует о снижении уровня гидрофильности поверхности коллагеновых фибрилл и фактически свидетельствует о снижении смачиваемости. Следовательно, при акантолитической пузырьчатке смачиваемость коллагеновых фибрилл падает, коллаген как бы «сбрасывает» воду, происходит ее секвестрация.

При дерматозе Дюринга в повреждении кератиноцитов и соответственно в механизмах образования пузырей ведущее значение, по-видимому, имеет гидропическая дистрофия с исходом в колликовационный некроз. Аппарат тонофиламентов и десмосом при этом сохраняется, хотя и в ослабленном виде, что морфологически проявляется в виде уменьшения численной плотности данных структур. Число клеток Лангерганса в эпидермисе при ГД не изменено. Что касается причины, вызывающей колликовационный некроз кератиноцитов, то таковой может быть блок обратной циркуляции тканевой жидкости из межклеточных пространств эпидермиса в интерстиций дермы (секвестрация тканевой жидкости). Развитию событий по этому механизму может способствовать не только деструкция базальной мембраны, обусловленная отложением иммунных депозитов, но и изменения физико-химического состава основного вещества дермы. Речь идет о первичном уплотнении («полимеризации») матрикса основного вещества, обусловленное увеличением силы межмолекулярных взаимодействий и ростом поверхностного натяжения интерстициальной жидкости. Основное вещество в такой ситуации становится менее пористым и проницаемость этого компонента дермы снижается. Возможно, что это филогенетически ранний механизм

пограничной функции основного вещества дермы, с помощью которого в экстремальной ситуации (например, в условиях иммунного повреждения), она берет на себя функции базальной мембраны. Что касается химических механизмов уплотнения матрикса межучного вещества, то таковыми могут быть полимеризация коллаген-протеогликанового комплекса.

При врожденном буллезном эпидермолизе ведущее значение в морфогенезе повреждения эпидермиса, по-видимому, играет апоптоз, спровоцированный «атакой» митохондрий на ядра кератиноцитов. Об этом свидетельствует наблюдаемый, преимущественно при данном патологическом состоянии, феномен пенетрации митохондрий в матрикс клеточных ядер. Возможно, в патогенезе врожденного буллезного эпидермолиза, кроме описанных ранее дефектов некоторых типов коллагена [1], играют роль и генетически обусловленные патологические формы апоптоза кератиноцитов.

Наши исследования впервые показали, что в морфогенезе буллезных дерматозов важную роль играют не только специфические изменения в эпидермисе, но и, в основном, изменения в веществе дермы. Причем это определяется не только особенностями клеточной инфильтрации, но и определенными, специфическими для каждого дерматоза, ультраструктурными изменениями коллаген-протеогликанового комплекса дермы.

STRUCTURAL CHANGES OF SKIN IN BULLOUS DERMATOSES (COMMUNICATION 2)

Yu.V. KARACHEVA, V.I. PROKHORENKOV, A.A. GAIDASH, A.I.
NOVIKOV, O.A. BABENKO, G.P. CHIGODAYKIN

Krasnoyarsk State Medical University named after prof. V.F. Voino-Yasenetsky
Omsk Stat Medical Academy

Abstract. We studied condition of epidermis and derma by electron and *atomic-force microscopy* in patients with dermatitis herpetiformis and dystrophic epidermolysis bullosa. Hydropic degeneration of keratinocytes, coliquation necrosis and primary condensation (“polymerization”) of intermediate substance matrix were revealed in

dermatitis herpiformis. The morphological markers of dystrophic epidermolysis bullosa were apoptosis, which caused by mitochondria penetration into matrix of cell nucleus.

Key words: dermatitis herpiformis, dystrophic epidermolysis bullosa, electron microscopy, atomic-force microscopy, infrared spectroscopy.

Литература

1. Беренбейн Б.А. Дифференциальная диагностика кожных болезней. Руководство для врачей. – М.: Медицина, 1989. – С. 218-271.
2. Карачёва Ю.В., Гайдаш А.А., Новиков А.И. и др. Ультраструктурные и иммуногистохимические изменения кожи у больных герпетиформным дерматитом Дюринга // Рос. журн. кожных и венерических болезней. – 2009. – № 3. – С. 62-65.
3. Торсуев Н. А., Шеклаков Н. Д., Романенко В. Н. Буллёзные дерматозы. – М.: Медицина, 1979. – 296 с.
4. Connor B.L., Marks R., Jones E.W. Dermatitis herpetiformis: histological discriminants // Trans.St.Johns Hosp. Dermatol. Soc. – 1972. – Vol. 58, № 2. – P. 191-198.
5. Green D.R., Reed J.C. Mitochondria and apoptosis // Science, 1998. – Vol. 281. – P. 1309-1312.
6. Jacobson M.D., Burne J.F., King M.P. et al. Bcl-2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA // Nature. – 1993. – Vol. 361. – P. 365-368.
7. Nestor M. S., Cochran A. J., Ahmed A. R. Mononuclear cell infiltrates in bullous disease // J. Invest. Dermatol. – 1987. – Vol. 88, №2. – P. 172-175.
8. Wolf R., Matz H., Ruocco E. et al. The putative role of apoptosis in the induction of pemphigus // Med.Hypotheses. – 2005. – Vol. 64, № 1. – P. 44-45.

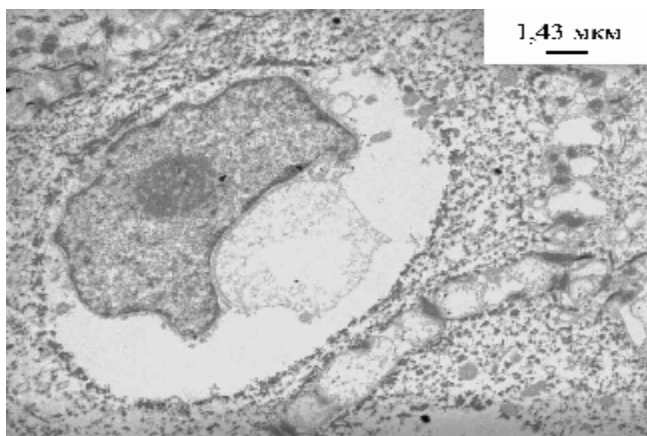


Рис. 1. Гидропическая дистрофия кератиноцита, в коже больного герпетическим дерматозом Дюринга. Увеличение: 7 000.

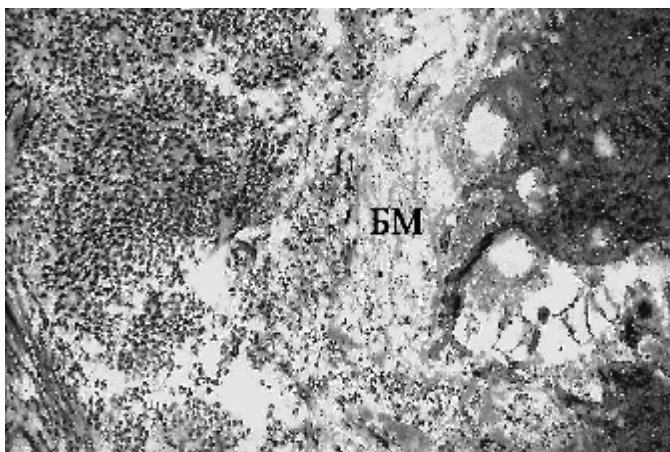
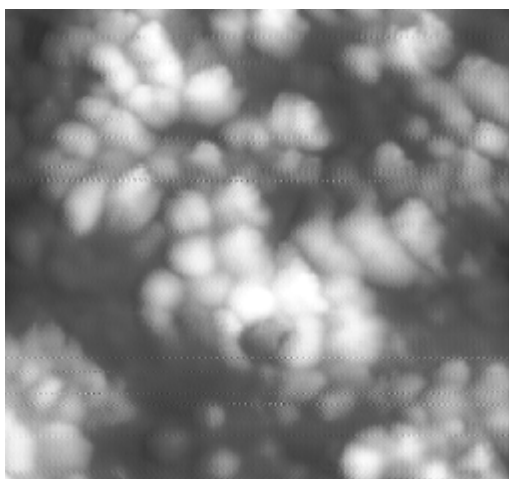


Рис. 2. Деструкция базальной мембраны (БМ) при герпетиформном дерматозе Дюринга. Видны дефекты БМ в виде расслоения, очагов утолщения и гомогенизации плотной пластинки, лизиса и накопления в подмембранной области детрита.

Увеличение: 10 000.



*Рис. 3. Атомно-силовая
микроскопия кожи вблизи пузыря
при герпетиформном дерматозе
Дюринга. Размер скана 1000 нм.
Демонстрируется участок дермы с
частицами детрита на месте
разрушенных коллагеновых волокон
вблизи дна пузыря.*

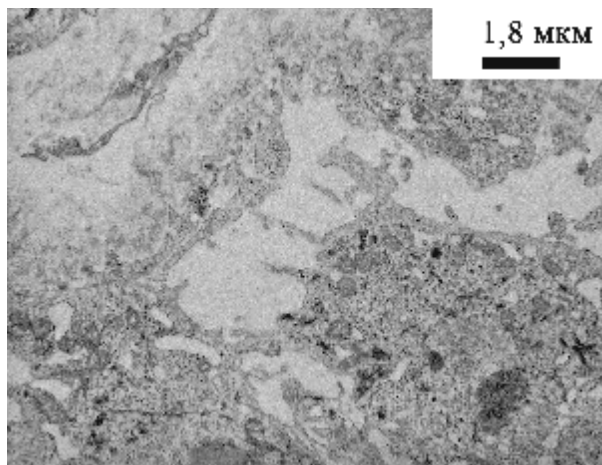
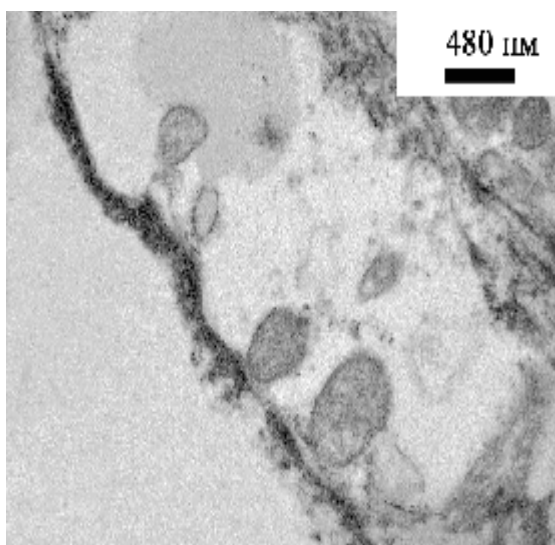


Рис. 4. Трансмиссионная электронная микроскопия кожи при врожденном буллезном эпидермолизе. Формирование мелких отростков базальными эпидермоцитами, их лизис. Обращает внимание транслокация митохондрий в периферические отделы клеток. Увеличение 5 600.



*Рис. 5. Трансмиссионная электронная микроскопия кожи при врожденном буллезном эпидермолизе. Атака митохондриями ядра кератиноцита.
Увеличение: 21 000.*

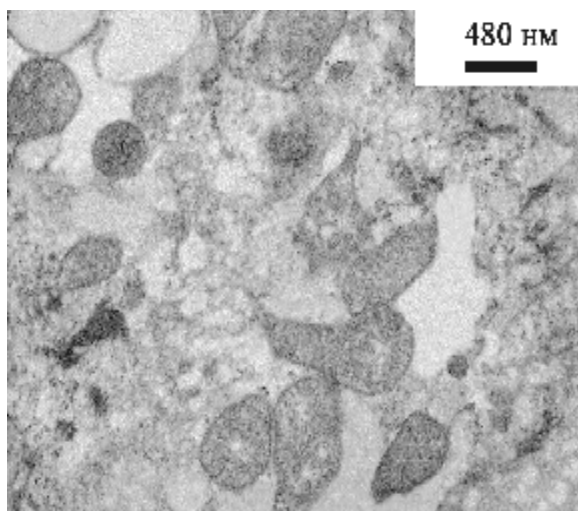


Рис. 6. Трансмиссионная электронная микроскопия кожи при врожденном буллезном эпидермолизе. Детрит в межклеточном пространстве. Обращает на себя внимание накопление митохондрий в зоне разрушения клеток. Увеличение: 21 000.