нительных лечебных мероприятиях в послеоперационном периоде при хирургическом лечении врожденных пороков сердца у детей раннего возраста с исходными нарушениями нутритивного статуса, в наших наблюдениях приводила к статистически значимому увеличению сроков госпитализации в отделении интенсивной терапии и реанимации (табл. 2).

Таким образом, у детей первого года жизни, подвергающихся коррекциям врожденных пороков сердца в условиях искусственного кровообращения, на первый взгляд, не очень значимые нарушения питательного статуса могут существенно влиять на течение послеоперационного периода. Дети, имевшие до оперативного вмешательства, гипотрофию первой степени требуют более продолжительной респираторной поддержки, что может привести к развитию возможных осложнений со стороны системы органов дыхания, увеличить сроки активизации и длительность госпитализации в отделении интенсивной терапии и реанимации. При коррекции ВПС у детей раннего возраста с гипотрофией в послеоперационном периоде не всегда возможно корригировать нутритивную недостаточность энтеральной поддержкой, поэтому чаще требуется назначение парентерального питания с целью восполнения белково-энергетического дефицита.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Баранов А.А.* Физиология роста и развития детей и подростков (теоретические и клинические вопросы.) / Под ред. А.А. Баранова, Л.А. Щеплягиной. – М., 2000. – 605 с.
2. *Белозёров Ю.М.* Детская кардиология. – М.: Медпресс-информ, 2004. – 597 с.
3. *Брегель Л.В., Субботин В.М., Медведев В.Н.* Врожденные пороки сердца у детей. – Иркутск: Аспиринт, 2008. – 152 с.
4. *Бунятян А.А.* Руководство по кардиоанестезиологии / Под ред. А.А. Бунятяна, Н.А. Трековой. – М.: Медицинское информационное агентство, 2005. – 688 с.
5. *Гаймоленко И.Н., Кривощекова-Баженова М.Е., Тихоненко О.А.* Эффективность применения молочной смеси нового поколения у детей с лимфатико-гипопластическим диатезом // Забайкальский медицинский вестник. – 2008. – №1. – С.11-14.
6. Интенсивная терапия в педиатрии / Под ред. Дж. П. Моррея. – В 2 т.: Т. 2. – М.: Медицина, 1995. – 304 с.
7. Кардиология: национальное руководство / Под ред. Ю.Н. Беленкова, Р.Г. Оганова. – М.: ГЭОТАР-Медина, 2010. – 1232 с.
8. *Лейдерман И.Н., Насонова Н.П., Обертюхина И.В.* Нутритивная поддержка при тяжелой термической травме. Стандартный протокол. – Екатеринбург, 2000. – 19 с.
9. *Лейдерман И.Н.* Современные аспекты периоперативной нутритивной поддержки // Анестезиология и реаниматология. – 2000. – №3. – С.56-59.
10. *Миролюбов Л.М.* Врожденные пороки сердца у новорожденных и детей первого года жизни. – Казань: Медицина, 2008. – 152 с.
11. Нутритивная поддержка в педиатрической практике: пособие для врачей / В.В. Лазарев, Л.Е. Цыпин, А.А. Корсунский и др. – М.: РГМУ, 2007. – 84 с.
12. Оценка питательного статуса у детей: пособие для врачей / Под ред. Л.Е. Цыпина, А.А. Корсунского. – М.: РГМУ, 2005. – 44 с.
13. *Уголев А.М.* Эволюция пищеварения и принцип эволюции функций: элементы современного функционализма. – Л., 1985. – 544 с.

Информация об авторах: 664049, г. Иркутск, м-н Юбилейный, 100, ГУЗ ИОКБ, e-mail: julib79@yandex. ru, Надирадзе Зураб Заурович – д.м.н., профессор кафедры, заведующий отделением; Бахарева Юлия Александровна – к.м.н., ассистент кафедры; Незнахина Лилия Владимировна – врач анестезиолог-реаниматолог.

© ГОРБОВСКОЙ Ф.В., ВОРЖЕВА И.И., БУЙНОВА С.Н. – 2012

УДК 616.24-085.37-053.2

ВОЗМОЖНОСТИ АЛЛЕРГЕНСПЕЦИФИЧЕСКОЙ ИММУНОТЕРАПИИ В ОПТИМИЗАЦИИ ЛЕЧЕНИЯ ТЯЖЕЛОЙ АТОПИЧЕСКОЙ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМЫ У ДЕТЕЙ

Федор Валерьевич Горбовской, Ирина Ивановна Воржева, Светлана Николаевна Буйнова
(Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, ректор – д.м.н., проф. В.В. Шпрах, кафедра клинической аллергологии и пульмонологии, зав. – д.м.н., проф.Б.А. Черняк)

Резюме. Целью исследования явилось изучение влияния аллергенспецифической иммунотерапии (АСИТ) на течение болезни и снижение объёма кортикостероидной терапии при тяжелой атопической бронхиальной астме (БА) у детей. У 17 пациентов в возрасте от 6 до 17 лет, получающих высокие дозы ингаляционных кортикостероидов (ИКС) в связи с тяжелой БА, в процессе 3-летней АСИТ смесью клещей домашней пыли оценивались выраженность симптомов, частота обострений, показатели функции внешнего дыхания (ФВД) и бронхиальной гиперреактивности (БГР), средняя доза ИКС. Через 3 года АСИТ было получено статистически значимое ($p<0,001$) уменьшение частоты дневных, ночных симптомов и обострений БА, повышение показателей контроля болезни, снижение степени БГР ($p<0,001$). Отмеченные изменения в клинико-функциональном статусе больных сопровождались снижением средней дозы ИКС в 2,4 раза по сравнению с исходными значениями ($p<0,05$). Таким образом, результаты проведенного исследования демонстрируют возможность применения АСИТ для оптимизации лечения тяжелой БА у детей.

Ключевые слова: бронхиальная астма, аллергенспецифическая иммунотерапия, ингаляционные кортикостероиды, бронхиальная гиперреактивность.

THE POSSIBILITIES OF ALLERGEN SPECIFIC IMMUNOTHERAPY IN OPTIMIZATION OF TREATMENT OF SEVERE ATOPIC BRONCHIAL ASTHMA IN CHILDREN

F.V. Gorbovskoy, I.I.Vorzheva, S.N. Buynova
(Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education)

Summary. The aim of the study was the investigation of influence allergen specific immunotherapy (ASIT) on the course of disease and reduction of corticosteroid therapy in severe atopic bronchial asthma (BA) in children. In 17 patients aged from 6 till 17 years receiving high doses of inhalation corticosteroids (ICS) in connection with severe BA, during 3-years ASIT with mixture of house dust ticks there was estimated the expressiveness of symptoms, frequency of exacerbation, parameters

of lung function and bronchial hyperreactivity (BHR), average dose ICS. In 3 years ASIT it has been received significant (p <0,001) reduction of frequency of diurnal and nocturnal symptoms and exacerbation of BA, increase in parameters of the control of disease, decrease of degree of BHR (p <0,001). The noted changes in the clinical and functional status of patients were accompanied by 2,4 times reduction of average dose of ICS in comparison with starting values (p <0,05). Thus, the results of the conducted research show an opportunity of application ASIT for optimization of treatment of severe BA in children.

Key words: bronchial asthma, allergen specific immunotherapy, inhalation corticosteroids, bronchial hyperreactivity.

Бронхиальная астма (БА) во многих странах, включая Россию, является одним из наиболее частых хронических заболеваний у детей. В последние годы в терапии БА достигнут определенный прогресс, однако у части больных детей сохраняется тяжелое течение болезни, приводящее к ремоделированию бронхов, частым госпитализациям в связи с обострениями, представляющими угрозу для жизни [4,5,15,17]. Тяжелая БА занимает одно из ведущих мест в структуре детской инвалидности, сопровождается высокими экономическими затратами, большим объемом лекарственного лечения и нередко побочными эффектами фармакотерапии. В Иркутской области распространенность тяжелой БА в детской популяции составляет около 0,8% (12% от общего числа больных БА детей), и несмотря на внедрение современных программ фармакотерапии, частота симптомов тяжелой БА в общей структуре болезни за последние 10 лет не уменьшилась [1]. В ряде исследований показано, что тяжелая БА у детей ассоциируется с атопией и множественной сенсибилизацией, а также сочетанием с другими аллергическими заболеваниями (ринитом и атопическим дерматитом) [1,14].

Тяжелое течение БА в детстве сохраняется в 75% случаев и во взрослом возрасте [3], а ремоделирование воздушных путей у подростков и взрослых с астмой наблюдается в три раза чаще, если у них в 9-летнем возрасте регистрировался высокий уровень бронхиальной гиперреактивностиь (БГР) по данным метахолинового теста [15].

Несмотря на высокую клиническую эффективность и модифицирующее влияние на течение болезни современных противовоспалительных препаратов, они не излечивают БА [17], поскольку не влияют на инициирующие механизмы её формирования. Именно этим обстоятельством обусловлено возвращение симптомов болезни в течение непродолжительного времени после отмены ИКС у большинства больных БА даже с нетяжелым её течением. Сохраняющиеся симптомы БА свидетельствуют о наличии персистирующего воспаления, БГР и возможного ремоделирования бронхов, что диктует необходимость разработки и внедрения новых технологий для оптимизации лечения БА, особенно при её тяжелом течении.

Одним из методов лечения атопических заболеваний является аллерген-специфическая иммунотерапия (АСИТ), признанная с позиций доказательной медицины (уровень А) единственным терапевтическим воздействием, изменяющим естественное течение респираторной аллергии [2,13,19]. В плацебо-контролируемых исследованиях показана высокая клиническая эффективность АСИТ при БА, обусловленной аллергией к дерматофагоидным клещам, пыльце растений, эпидермису животных, плесневым грибам. Однако благоприятные эффекты АСИТ продемонстрированы, в основном, при легком течении болезни у моносенсибилизированных пациентов и поэтому в современных позиционных документах данный метод рекомендуется для лечения легкой (реже среднетяжелой) БА с узким спектром аллергии.

Эффективность АСИТ среднетяжелой и тяжелой БА остаётся до настоящего времени предметом изучения и дискуссий, так как в ограниченных исследованиях у детей и взрослых получены противоречивые результаты [6-11,19,20]. Неоднозначно оценивается влияние АСИТ на частоту симптомов и обострений тяжелой БА, а также возможность снижения высоких поддерживающих доз ингаляционных кортикостероидов (ИКС) на фоне иммунотерапии. Не во всех цитированных исследованиях изучалось влияние АСИТ на БГР как один из фундаментальных признаков БА, с которым связывают выраженность воспаления дыхательных путей, тяжесть заболевания, его прогрессирование и ремоделирование бронхов. До настоящего времени нет единой тактики создания смесей аллергенов для АСИТ у полисенсибилизированных больных.

Целью настоящего исследования явилось изучение влияния АСИТ на течение болезни и снижение объёма кортикостероидной терапии при тяжелой атопической БА у детей.

Материалы и методы

В исследование было включено 17 детей в возрасте от 6 до 17 лет, страдающих БА тяжелого течения, которая диагностировалась на основании современных критериев [4,15,17]. Критериями включения в исследование являлись: 1) применение больными в течение последних 6 месяцев высоких возрастных доз ИКС в сочетании с длительно действующими β2-агонистами (ДДБА); 2) объем форсированного выдоха за первую секунду (ОФВ1) ≥ 80% от должной величины; 3) контролируемое или частично контролируемое течение БА с исходной оценкой по данным теста по контролю над астмой (asthma control test -ACT®) не менее 19 баллов [4,17]; 4) гиперчувствительность к клещам домашней пыли (*D. pteronissinus, D. farinae*), подтвержденная результатами аллергологического обследования (допускалась сопутствующая сенсибилизация к пыльцевым и/или эпидермальным аллергенам при отсутствии постоянного контакта с животными дома); 5) информированное согласие родителей на проведение всех процедур исследования и АСИТ в течение не менее 3-х лет.

Длительность БА у больных до начала лечения варьировала от 1 года до 7 лет и составляла в среднем 4,4±0,5 лет. Число обострений астмы в течение 1 года, предшествовавшего исследованию, равнялось в среднем 2,8±0,2, при этом почти каждое третье из них (31,1%) требовало госпитализации.

В качестве базисной фармакотерапии использовались фиксированные комбинации ИКС и ДДБА (флутиказона пропионат + сальметерол или будесонид + формотерол) в дозах, которые больные принимали перед включением в исследование. Для унифицированной оценки дозового режима кортикостероидов независимо от использованных препаратов, дозы ИКС в динамике лечения рассчитывалась в соответствии с терапевтической эквипотентностью по беклометазону дипропионату (БДП) [4,17] и составили в среднем перед началом АСИТ 1812,5±359,5 мкг по БДП. В дальнейшем, каждые 3 месяца доза базисных противоастматических лекарственных средств пересматривалась и при сохраняющемся контролируемом течении заболевания снижалась.

АСИТ, сочетаемая с вышеуказанной фармкотерапией, проводилась в соответствии с международными стандартами смесью лечебных аллергенов *D. pteronissinus* и *D. farinae* (производство НИИВС им. И.И.Мечникова, г. Москва), вводимых подкожно [13]. Доза аллергенов наращивалась по ускоренной схеме в течение 3 недель в условиях аллергологического отделения до максимальной переносимой (обычно цельный аллерген в количестве 0,1-0,5 мл). В дальнейшем достигнутая поддержи-

вающая доза аллергена вводилась амбулаторно 1 раз в 3-4 недели на протяжении 36 месяцев. Коррекция дозы аллергена при обострении заболевания, пропусках инъекций, наличии местных или системных побочных реакций проводилась в соответствии с современными рекомендациями [2,13].

Клинико-функциональный статус больных в динамике лечения оценивался с учетом частоты и интенсивности симптомов БА, потребности в короткодействующих β2-агонистов, уровня контроля заболевания, показателей пикфлоуметрии и спирометрии, степени БГР. Частота и тяжесть дневных и ночных симптомов, анализируемая по 4-балльной шкале, уровень контроля БА, определяемый с помощью АСТ, оценивались ежемесячно.

Спирометрия («Schiller Spirovit 1», Швейцария) и исследование реактивности бронхов проводилось у всех пациентов в исходном состоянии и через каждые 6 месяцев в процессе АСИТ с помощью ингаляционного провокационного теста (резервуарный метод) с 0,33% раствором метахолина («Pari Provotest 2», Германия) [18]. БГР определялась на основании значения кумулятивной дозы метахолина (провокационная доза – $ПД_{20}$), вызывавшей снижение величины $ОФВ_1$ на 20% и более от исходного показателя. Снижение $ОФВ_1 \geq 20$ % при $ПД_{20} < 0{,}471$ мг свидетельствовало о положительном тесте, т.е. наличии БГР.

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи общепринятых в медицине методов вариационной статистики с использованием пакета программ Statistica 6.0. Критический уровень значимости при проверке статистических гипотез p=0,05.

Результаты и обсуждение

У больных, включенных в исследование, несмотря на длительную терапию высокими дозами ИКС (в среднем 1812,5±359,5 мкг по БДП) перед началом АСИТ сохранялись признаки недостаточно контролируемого течения БА. Об этом свидетельствовали персистирующие дневные и ночные симптомы с выраженностью 6,4±0,6 и 2,5±0,3 балла в неделю, соответственно. Недостаточный контроль БА подтверждался и показателями АСТ, составившими в среднем 20,2±0,9 балла при возможном максимальном значении (соответствующему полному контролю астмы) в 25 баллов. С клиническими признаками недостаточно контролируемой астмы хорошо корреспондируют и показатели БГР, которая была выявлена у всех больных. При этом низкая степень БГР ($ПД_{20}$ 0,23-0,47 мг метахолина) отмечалась только у двух детей (11,8%), тогда как средняя ($ПД_{20}$ 0,04-0,22 мг метахолина) и высокая степень гиперреактивности бронхов ($ПД_{20}$<0,04 мг метахолина) преобладала: наблюдалась у 10 (58,8%) и 5 (29,4%) пациентов, соответственно.

Длительный мониторинг за больными тяжелой БА, которым проводимая комбинированная фармакотерапия ИКС и ДДБА была дополнена АСИТ, показал ее отчетливый клинический эффект. Уже в течение первых 6 месяцев иммунотерапии была отмечена положительная динамика частоты дневных и ночных симптомов, которая имела устойчивый характер и сохранялась на протяжении всего 3-летнего периода наблюдения (рис. 1). Анализ уровня контроля БА, проводимый с помощью АСТ, который позволяет интегративно охарактеризовать статус больных не только по частоте симптомов, но и с учетом ограничения их активности, потребности в использовании короткодействующих бронхолитиков, самооценки состояния, так же подтвердил благоприятное влияние АСИТ на течение заболевания. Так к концу первого года лечения у всех пациентов уровень контроля превысил 20 баллов, достигнув к окончанию периода АСИТ средних значений 23,8±0,5 что статистически значимо выше исходных показателей (20,2±0,9, p < 0,01).

О повышении уровня контроля БА на фоне иммунотерапии свидетельствует и динамика частоты обострений заболевания. Так, если в течение года, предшествующего АСИТ, среднее число обострений БА в наблю-

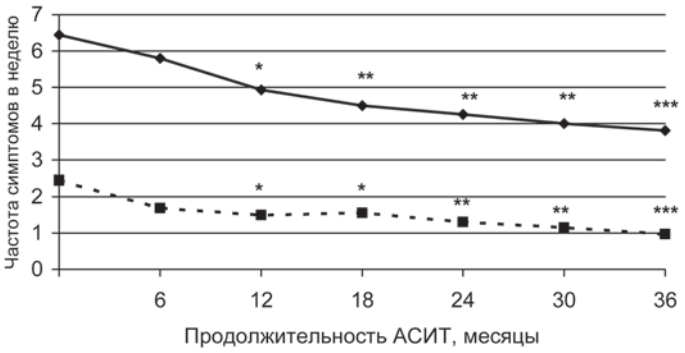

Рис. 1. Динамика частоты симптомов астмы в процессе АСИТ: –– дневные симптомы, - - - - ночные симптомы; * - p <0,05, ** - p <0,01, *** - p <0,001 по сравнению с исходными значениями.

даемой нами группе больных составило 2,8±0,2, то уже за первый год лечения число обострений снизилось до 2,2±0,1 (p <0,05), а в течение 3-года АСИТ уменьшение частоты обострений было еще более значимым, достигнув 1,5±0,2 (p<0,05). Необходимо подчеркнуть, что обострения развивались не только реже, но и имели менее тяжелый характер: если до АСИТ необходимость в госпитализации отмечалась в 31,1% обострений, то в течение 3 года иммунотерапии стационарное лечение при обострении БА потребовалось только 8,4% больных. При этом все обострения БА у больных, которым проводилась АСИТ, были спровоцированы респираторной вирусной инфекцией.

Характеризуя показатели внешнего дыхания у больных в процессе АСИТ, следует отметить отсутствие статистически значимых различий ОФВ1 в конце лечебного периода по сравнению с исходными параметрами: 94,4±2,0% и 91,5±2,5% от должных значений, соответственно (p>0,05). Данное обстоятельство объясняется, по-видимому, включением в исследование больных с достаточно высокими спирометрическими показателями, что обусловлено предшествующей противоастмати-

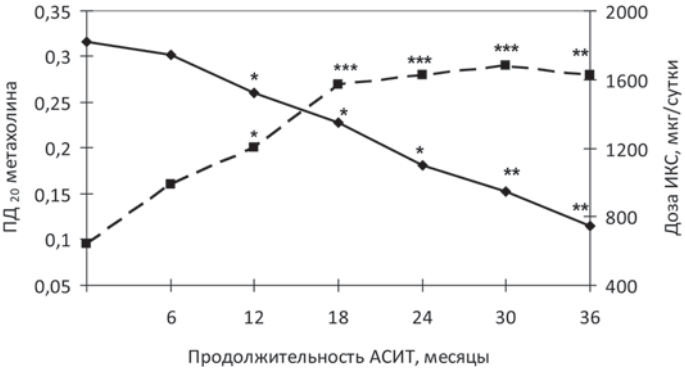

Рис. 2. Динамика суточных доз ИКС и БГР (ПД20 метахолина) в процессе АСИТ: –– дозы ИКС, - - - - $ПД_{20}$ метахолина, * - p <0,05, ** - p <0,01, *** - p <0,001 по сравнению с исходными значениями.

ческой фармакотерапией. Вместе с тем, иная закономерность имела место в процессе лечения при оценке БГР. В течение первого года АСИТ уровень БГР у больных статистически значимо снизился, о чем свидетельствует повышение $ПД_{20}$ метахолина более чем в 2 раза в провокационном тесте по сравнению с исходными показателями. Дальнейшее проведение АСИТ сопровождалось еще более высокой $ПД_{20}$ метахолина, а соответственно и более выраженным снижением гиперреактивности бронхов (рис. 2). Более того, через 3 года иммунотерапии у 7 из 17 детей (41,2%), больных БА, провокацион-

ный тест с метахолином стал отрицательным, что свидетельствовало о снижении бронхиальной реактивности до уровня, соответствующего таковому у здоровых людей.

Одним из ключевых показателей эффективности АСИТ является снижение объема медикаментозной противоастматической терапии и, в частности, ИКС. В проведенном исследовании специфическая иммунотерапия сопровождалась планомерным снижением доз ИКС через каждые 3 месяца (рис. 2). При этом у 4 (23,5%) больных в течение 3-летней АСИТ удалось полностью отменить ИКС, у 7 (41,2%) больных контроль над заболеванием сохранялся на фоне монотерапии ИКС в низких возрастных дозах. Переход на монотерапию ИКС осуществлялся по принципу «шаг вниз», когда при достижении наименьшей дозы кортикостероида в рамках комбинированного препарата отменялись ДДБА. В целом же среди больных, продолжающих прием ИКС (13 человек), их доза на фоне 3-летней АСИТ снизилась по сравнению с исходным значением почти в 2,4 раза: с 1812,5±359,5 до 743,8±253,6 мкг/сутки ($p<0,01$). Представляется принципиально важным то обстоятельство, что снижение дозы ИКС и даже их отмена не только не сопровождались ухудшением состояния больных, но, напротив, наблюдалось уменьшение частоты и выраженности дневных и ночных симптомов БА, частоты и тяжести её обострений, снижение БГР.

Важной характеристикой АСИТ помимо эффективности является её переносимость. В рамках настоящего исследования зарегистрированы только единичные побочные реакции, которые носили локальный характер (инфильтрация, болезненность в месте инъекции). У 6 (35,3%) больных отмечались легкие системные побочные реакции (симптомы ринита, конъюнктивита, не тяжелой крапивницы). Указанные побочные эффекты АСИТ, как правило, развивались на этапе наращивания дозы и требовали наряду с симптоматической терапией внесения изменений в схему лечения. Тем не менее, во всех случаях удалось достичь цельного аллергена в качестве поддерживающей дозы, переносимой в дальнейшем без выраженных нежелательных реакций всеми больными. Ни в одном случае побочные эффекты не явились причиной для прекращения АСИТ.

Таким образом, результаты проведенного исследования демонстрируют возможность применения АСИТ для оптимизации лечения тяжелой БА у детей, при выполнении ряда условий. Наиболее продуктивным подходом является рассмотрение специфической иммунотерапии и ИКС не с позиции их альтернативной оценки, а сочетанного применения, обеспечивающего «спарринг-эффект». На начальном этапе лечения, пока не реализовалось терапевтическое действие аллергенной вакцинации, ИКС, обеспечивая контролируемое течение астмы, позволяют осуществлять АСИТ, а постепенно нарастающий эффект последней способствует в свою очередь отмене кортикостероидов или значительному снижению их дозы без потери контроля над течением заболевания. С учетом современных рекомендаций по достижению контроля БА, целесообразно начинать АСИТ при персистирующей астме на фоне фармакотерапии комбинированными препаратами ИКС и ДДБА. Стартовая комбинированная терапия позволяет быстрее добиться контроля и длительно его поддерживать, что значительно облегчает проведение АСИТ при тяжелой БА. АСИТ следует начинать как можно раньше, пока не сформировались необратимые изменения ФВД. Динамическое определение степени БГР является объективным критерием эффективности проводимого лечения аллергенами и возможности снижения дозы ИКС или их отмены.

Результаты проведенного исследования показывают, что у детей, даже с тяжелой БА на фоне полисенсибилизации, можно получить выраженный клинический эффект АСИТ, используя для лечения не многокомпонентные смеси, а наиболее значимые для больного аллергены (в данном случае дерматофагоидных клещей). В последние годы технология АСИТ с длительным применением узкого спектра главных аллергенов у больных с множественной аллергией получает обоснование на уровне молекулярной иммунологии [16].

Достоинством АСИТ является воздействие на основные патогенетические звенья заболевания, в том числе на аллергическое воспаление верхних и нижних дыхательных путей, а так же кожи [12,13], то есть на основные компоненты атопии как системного процесса, в отличие от топических кортикостероидов. У больных, участвовавших в нашем исследовании, в 100% случаев был сопутствующий аллергический ринит и в 23,4% – атопический дерматит, свидетельствуя, в совокупности с полисенсибилизацией, о высоком «индексе атопии». На фоне АСИТ наблюдалось более благоприятное течение сопутствующих заболеваний, что, вероятно, отражает её системный лечебный эффект и как следствие, значимый вклад в оптимизацию лечения тяжелой атопической БА у детей.

Итак, АСИТ может быть эффективной и безопасной даже при тяжелой атопической БА у детей, что связано с «пластичностью» их иммунной системы, принципиальной обратимостью обструкции и гиперреактивности бронхов, но при условии достижения и поддержания оптимального фармакологического контроля болезни на начальном этапе лечения.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Буйнова С.Н., Горбовской Ф.В.* Тяжелая бронхиальная астма у детей в Иркутской области: эпидемиологическая и клинико-аллергологическая характеристика // Сибирский медицинский журнал (Иркутск). – 2011. – №6. – С.197-199.
2. *Гущин И.С., Курбачева О.М.* Аллергия и аллергенспецифическая иммунотерапия. – М.: Фармарус Принт Медиа, 2010. – 228 с.
3. *Иванов А.Ф., Черняк Б.А.* Факторы риска и прогноз тяжелого течения бронхиальной астмы у молодых пациентов // Российский аллергологический журнал. – 2008. – №1. – С.111-112.
4. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». – 3-е изд., испр. и доп. – М.: Атмосфера, 2008. – 108 с.
5. *Огородова Л.М., Деев И.А., Иванчук И.И.* Клиническая и патогенетическая эффективность различных фармакотерапевтических режимов при тяжёлой бронхиальной астме у детей // Педиатрическая фармакология, 2006. – №3. – С.26-31.
6. *Черняк Б.А., Воржева И.И., Буйнова С.Н.* Специфическая иммунотерапия тяжелой бронхиальной астмы // Труды 8 конгресса «Современные проблемы аллергологии и иммунологии». – М., 2007 – С.189.
7. *Черняк Б.А., Сукманская Е.О.* Эффективность специфической иммунотерапии в сочетании с ингаляционными кортикостероидами при атопической бронхиальной астме среднетяжелого течения // Аллергология. – 1999. – №1. – С.4-10.
8. *Шугурина Е.Г.* Аллергенспецифическая иммунотерапия у детей и подростков с бронхиальной астмой тяжелого течения: Дис. ... канд.мед.наук. – М., 2005. – 28 с.
9. *Adkinson N.F., Eggleston P.A., Eney D., et al.* A controlled trial of immunotherapy for asthma in allergic children // N Engl J Med. – 1997. – №336. – P.324-331.
10. *Adkinson N.F.* Who (if anyone) actually gets steroid-sparing effects from aeroallergen immunotherapy? // J Allergy Clin Immunol. – 2010. – №126. – P.950-951.
11. *Blumberga G., Groes L., Haugaard L., Dahl R.* Steroid-sparing effect of subcutaneous SQ-standardised specific immunotherapy in moderate and severe house dust mite allergic asthmatics // Allergy. – 2006. – Vol. 61. №7. – P.843-848.
12. *Bousquet J., Van Cawenberg P., Khaltaev N., et al.* Aria Workshop Group; World Health Organizations. Allergic rhinitis and its impact on asthma // J. Allergy Clin Immunol. – 2001. – Vol. 108 (supl. 5). – P.147-334.
13. *Cox L.* Allergen immunotherapy: A practice parameter second update // J. Allergy Clin Immunol. – 2007. – Vol. 120. №3 (supl.). – P.25-85.

14. *Fitzpatrick A.M., Gaston B.M., Erzurum S.C., Teague W.G.* Features of severe asthma in school-age children: Atopy and increased exhaled nitric oxide // J Allergy Clin Immunol. – 2006. – №118. – P.1218-1225.

15. *Fitzpatrick A.M., Teague W.G.* Severe Asthma in Children: Insights from the National Heart, Lung, and Blood Institute's Severe Asthma Research Program // Pediatr Allergy Immunol Pulmonol. – 2010. – Vol. 23. №2. – P.131-138.

16. *Fujita H., Soyka M.B., Akdis M., Akdis C.A.* Mechanisms of allergen-specific immunotherapy // Clinical and Translational Allergy. – 2012. – №2. – P.1-8.

17. GINA Global Strategy for Asthma Management and Prevention, Global Initiative for Asthma (GINA) 2010. www.ginasthma.org.

18. Guidelines for Methacholine and Exercise Challenge Testing //Am. J. Respir. Crit. Care Med. – 2000. – №161. – P.309-329.

19. WHO Position Paper Allergen immunotherapy: therapeutic vaccines for allergic diseases // Allergy. – 1998. – Vol. 53. №44 (supl.). / G. Ed. J. Bousquet, R.F. Lockey, H.J. Malling.

20. *Zielen S., Kardos P., Madonini E.* Steroid-sparing effects with allergen-specific immunotherapy in children with asthma: a randomized controlled trial // J Allergy Clin Immunol . – 2010. – №126. – P.942-949.

Информация об авторах: 664079, Иркутск, м/р Юбилейный 100, ИГМАПО, Горбовской Федор Валерьевич – аспирант кафедры, e-mail: gorbovskoy_84@mail.ru; Воржева Ирина Ивановна – доцент кафедры, к.м.н., e-mail: bores@angara.ru; Буйнова Светлана Николаевна - ассистент кафедры, к.м.н.., e-mail: 33s1@rambler.ru

© ЛЕПЕХОВА С.А., ЗАРИЦКАЯ Л.В., КАРГИН А.Г., БАТУНОВА Е.В., ГОЛЬДБЕРГ О.А., КОВАЛЬ Е.В., ПОСТОВАЯ О.Н. – 2012
УДК 602.6:59

ОЦЕНКА ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ КУЛЬТИВИРУЕМЫХ ЭМБРИОНАЛЬНЫХ КЛЕТОК ПЕЧЕНИ *IN VITRO*

Светлана Александровна Лепехова[1], Лариса Васильевна Зарицкая [1,2], Александр Германович Каргин[1], Елена Владимировна Батунова[2], Олег Аронович Гольдберг[1], Елена Владимировна Коваль[1], Ольга Николаевна Постовая[2]

([1]Научный центр реконструктивной и восстановительной хирургии СО РАМН, директор – чл.-корр. РАМН, д.м.н., проф. Е.Г. Григорьев, научный отдел экспериментальной хирургии с виварием, зав. – д.б.н. С.А. Лепехова; [2]Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования, ректор – д.м.н., проф. В.В. Шпрах, ЦНИЛ, зав. – к.м.н., доц. А.В. Стародубцев)

Резюме. Представленная работа посвящена новому способу оценки жизнеспособности культивируемых эмбриональных клеток печени в среде культивирования. Установлено, что при культивировании полученные клетки вырабатывают фактор роста гепатоцитов (HGF) с максимальной концентрацией на 5-е сутки и увеличением в 3,5 раза по сравнению с начальной концентрацией, что по времени совпадает с пиком митотической активности. Выявлена положительная корреляция между концентрацией HGF и митотической активностью. Предложенный способ оценки жизнеспособности культивируемых клеток печени позволяет точно установить сроки максимальной готовности клеток к трансплантации и стандартизировать по содержанию регуляторного пептида HGF в среде культивирования.

Ключевые слова: эмбриональные клетки печени, культура, жизнеспособность.

ASSESSMENT OF VIABILITY OF CULTURED EMBRYONIC LIVER CELLS IN VITRO

S.A. Lepekhova[1], L.V. Zaritskaya[1,2], A.G. Kargin[1], E.V. Batunova[2], O.A. Goldberg[1], E.V. Koval[1], O.N. Postovaya[2]

([1]Center of Reconstructive Surgery, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences; [2]Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education)

Summary. The given work is devoted to a new way of assessing the viability of cultured embryonic liver cells in the culture medium. Found that when cultured derived cells produce hepatocyte growth factor (HGF) with a maximum concentration on the 5th day and increased by 3.5 times compared with the initial concentration, which will coincide with the peak of mitotic activity. Found positive correlation between the concentration of HGF and mitotic activity. The proposed method of assessing the viability of cultured liver cell can accurately set the time of maximum availability of cells for transplantation and standardize the content of the regulatory peptide of HGF in the culture medium.

Key words: embryonic liver cells, culture, viability.

В медицине используются свиные ткани, в том числе биоискусственные системы, при различных вариантах печеночной недостаточности [3,4], для трансплантации островков Лангерганса при лечении сахарного диабета [1]. Предлагается использовать ксенотрансплантацию гепатоцитов в качестве временной меры перед аллотрансплантацией печени [11].

Литературные данные свидетельствуют о том, что клетки, выделенные из органа, сохраняют функциональные свойства и характерную структуру [8]. Известно, что трансплантированные изолированные гепатоциты не столько увеличивают функционирующую массу печени, сколько изменяют гуморальные и молекулярные механизмы, отвечающие за активацию функций оставшихся гепатоцитов реципиента и регенерацию путем выработки регуляторных пептидов, среди которых ведущая роль принадлежит факторам роста. Среди известных факторов роста выделяют один, обладающий наиболее выраженным митогенным эффектом на гепатоциты – фактор роста гепатоцитов. Ответственными за выработку этого фактора являются клетки Ито, а также эндотелиальные и купферовские клетки печени, ретикулярные клетки селезенки. Эмбриональная ткань печени содержит большое количество фактора роста гепатоцитов и его рецепторов; гепатоциты зародыша в первом триместре развития активно отвечают на стимуляцию фактором роста гепатоцитов [9,10]. При разработке технологии необходима стандартизация подготовки клеток к трансплантации.

Целью работы явилась разработка способа оценки жизнеспособности культивируемых эмбриональных клеток печени в среде культивирования.

Материалы и методы

Работа выполнена на базе клеточного бокса научного отдела экспериментальной хирургии с виварием ФГБУ «НЦРВХ» СО РАМН (директор чл.-корр. РАМН