

ствущая о глубоких нарушениях гемостаза, констатирована у 1 больного. Дефицит факторов внутреннего пути и нарушение полимеризации фибрина установлен у 2 больных. В тромбоцитарно-сосудистом звене гемостаза у одного ребенка отмечалась тромбоцитопения до 163×10^9 с низким радиусом образующихся агрегатов — 1,76. У 2 детей нарушений гемостаза не выявлено. Данный анализ показал, что в развитии постинфекционных интракраниальных кровоизлияний большое значение имеет наличие скрытой коагуло- или тромбоцитопатии, а не только механизма гипердренирования желудочков.

Зависимости между наличием дефектов гемостаза до операции и развитием механической дисфункции шунта не установлено.

Таким образом, у детей с окклюзионной гидроце-

фалией имеет место внутрисосудистая активация гемостаза, возникают процессы микротромбообразования в сосудистом русле, обусловленные ишемией и гипоксией. Уровень тромбинемии зависит от возраста больных, этиологии гидроцефалии, стадии перивентрикулярного отека. Высокий уровень тромбинемии наблюдается у детей первого года жизни, при поствоспалительной гидроцефалии, при повышении стадии ПВО с I до III и снижается к IV стадии. Чем выше уровень тромбинемии, тем выше риск развития шунт-инфекции, что объясняется развитием более глубокой тканевой гипоксии. При образовании хронического субдурального гематома имеет значение не только синдром гипердренирования желудочков, но и неполноценность системы гемостаза. Необходима диагностика нарушений гемостаза и его коррекция до операции.

THE SIGNIFICANCE OF TROMBINEMIA IN THE PATHOGENESIS OF OCCLUSIVE HYDROCEPHALUS IN CHILDREN

A.V. Dekhtyar

(Krasnoyarsk State Medical Academy)

As a result of studying hemostasis of 104 children with occlusive hydrocephalus the increase of fibrin monomers to $m=6.7 \pm 0.4$ mkg/100 ml, Willebrand factor to $m=142.6 \pm 2.4$ %, depression of XIIa-depended fibrinolysis to $m=30$ min 17 seconds ± 2 min ($p<0.05$) was revealed. The level of trombinemia depended on periventricular edema stage, intracranial pressure, age and etiology of hydrocephalus were defined. Maximum values of those indices were observed in children till 1 year old with postinflammation hydrocephalus and periventricular edema of the III stage. Correlation dependence of the trombinemia level and shunt infection complications have been discovered. The defect of hemostasis system caused chronicle subdural haematomas.

ЛИТЕРАТУРА

1. Артарян А.А., Кочкин Ю.А., Хаметова Р.Н. Система гемостаза при хронических внутричерепных гематомах у детей // Вопросы нейрохирургии. — 1990. — № 5. — С.8-10.
2. Баркаган З.С., Момот А.П. Основы нарушений системы гемостаза. — М., Ньюдиамед, АО, 1999. — 224 с.
3. Зербино Д.Д., Лукасевич Л.Л. Диссеминированное внутрисосудистое свертывание крови. — М.: Медицина, 1989. — 254 с.
4. Корниенко В.Н., Озерова В.И. Детская нейрорентгенология. — М.: Медицина, 1993. — 289 с.
5. Меликян А.Г. Нейроэндоскопические операции // Эндоскопическая хирургия детей / Под ред. Ю.Ф. Исакова — М.: ГОЭТАР-МЕД, 2002. — С.377-434.
6. Нарушение венозного кровотока при гидроцефалии у детей / В.Л. Петраки, Б.П. Симерницкий, А.Г. Притыко и др. // Первая Всерос. конф. по детской нейрохирургии. — М., 2003. — С.97.
7. Опыт использования фраксипарина при ДВС-синдроме у детей / О.Н. Соловьев, Т.Ю. Анохина, С.А. Лоскутова и др. // Росс. педиатр. журнал. — 2002. — № 2. — С.19-23.
8. Позитронно-эмиссионная томография при гидроцефалии у детей / Д.А. Мирсасыдов, З.Л. Бродская, Т.Ю. Скворцова и др. // Первая Всерос. конф. по детской нейрохирургии. — М., 2003. — С.86.
9. Проценко И.П., Носов А.Т., Шмелева А.А. Клинико-морфологические предпосылки репаративных процессов в мозге при гидроцефалии // Первая Всерос. конф. по детской нейрохирургии. — М., 2003. — С.109.
10. Рагимов А.А., Алексеева Л.А. Синдром диссеминированного внутрисосудистого свертывания крови. — М.: Практическая медицина, 2005. — 111 с.
11. Хачатрян В.А. Принципы хирургии гидроцефалии / Первая Всерос. конф. по детской нейрохирургии. — М., 2003. — С.73.
12. Louis R., Caplan J. Brain ischemia. — London: Springer-Verlag, 1995. — 270 p.
13. Randomized study of shunt constitutions using for treatment pediatric hydrocephalus / J.M. Drake, J. R.W. Kestle, R. Milner et al. // J. Neurosurgery. — 1998. — Vol.43, № 2. — P. 120-124.
14. Shirahata A., Shirakawa Y. New approach to the diagnosis of disseminated intravascular coagulation in childhood // Nippon. Rinsho. — 1993. — Vol. 51, № 1. — P.61-66.
15. Takada A., Budzinski A.Z. Hemostasis and circulation. — Tokyo: Springer-Verlag, 1992. — 390 p.

© ПРУТКИНА Е.В., ДУТОВ А.А., ЦЫБИКОВ Н.Н. — 2007

ВОЗМОЖНОСТИ АНАПРИЛИНОВОГО ТЕСТА КАК МЕТОДА ОЦЕНКИ ДЕТОКСИКАЦИОННОЙ ФУНКЦИИ ПЕЧЕНИ

Е.В. Пруткина, А.А. Дутов, Н.Н. Цыбиков

(Читинская государственная медицинская академия, ректор — д.м.н., проф. А.В. Говорин, кафедра патологической физиологии, зав. — д.м.н., проф. Н.Н. Цыбиков; Лаборатория хроматографии НИИ Медицинской экологии ЧГМА, директор — д.м.н., проф. Ю.А. Витковский)

Резюме. В качестве метода оценки метаболической функции печени исследовался анаприлиновый тест, проводимый с использованием слюны. Концентрация пропранолола в слюне определялась методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с твердофазной экстракцией на картриджах со сверхшумным полистиролом по собственной методике. С помощью теста определялась функция печени у 47 больных разными формами вирусных гепатитов, циррозом печени и 16 здоровых лиц. Доказана чувствительность анаприлинового теста при неизмененных биохимических показателях крови пациентов.

Ключевые слова: анаприлиновый тест, функциональные пробы печени, хронический гепатит, цирроз печени.

Применяемые в настоящее время методы функционального исследования печени лишь косвенно отражают изменения детоксикационной функции. Гипербилирубинемия отражает нарушения в пигментном обмене; увеличение трансаминаз — цитолиз гепатоцитов; исследование альбуминов крови, прокоагулянтов — белковосинтетическую функцию; увеличение концентрации аммиака — свидетельствует о шунтировании печени [8]. Но определить истинную тяжесть состояния печеночного больного, прогнозировать реакцию печени на оперативное вмешательство, надвигающуюся печеночно-клеточную недостаточность можно лишь зная состояние биотрансформирующей функции органа (активность ферментов системы P-450, обозначаемой как CYP) [6,9,10].

Надежным показателем состояния системы CYP считается антипириновый тест, но его применение частично ограничено побочными эффектами, техническими неудобствами в применении пробы (для точности последний забор тест-ткани нужно производить через временной промежуток равный 2-3 периодам TS, т.е. через 24-36 часов от введения антипирина) [1,2,7,11].

В свое время для оценки активности ферментов печени предлагался анаприлиновый тест, но широкого распространения он не получил [15]. На наш взгляд именно анаприлин (пропранолол) в большей мере подходит в качестве вещества-индикатора дезинтоксикационной функции печени. Он отвечает фармакокинетическим требованиям: быстро и в полном объеме всасывается в ЖКТ, максимально метаболизируется при первом прохождении через печень, поэтому по скорости снижения его концентрации можно судить о функции органа; TS препарата — 3-5 час. [4]. Пропранолол может применяться при заболеваниях печени, осложненных портальной гипертензией, т.к. он снижает давление в системе воротной вены [10,12]. Его побочные эффекты хорошо изучены, риск их возникновения минимален при однократном применении с диагностической целью. Анаприлин метаболизируется при участии изоформ CYP1A2, CYP2D6, CYP2C19 и CYP3A4, общий вклад которых в биотрансформацию ксенобиотиков составляет около 70% [2,5], поэтому этот тест должен более полно отражать состояние метаболической функции печени.

Цели исследования:

1. Разработать надежный метод определения пропранолола в биологических средах организма, пригодный для рутинного клинического применения.
2. Провести анаприлиновый тест у здоровых людей и лиц, страдающих заболеваниями печени, и оценить его диагностические возможности.

Материалы и методы

В исследование включены 47 больных гепатологического отделения ГУЗ «Областная клиническая инфекционная больница» г. Читы, после получения их информированного согласия. Перед проведением пробы они были опрошены методом анкетирования (куда также был включен CAGE-вопросник для выявления злоупотребления алкоголем) [10]. Критериями исключения из выборки служили: наличие абсолютных противопоказаний к применению пропранолола (непереносимость, декомпенсированный сахарный диабет, выраженная брадикардия, ХОБЛ); сопутствующие заболевания, которые могут изменить клиренс препарата и повлиять на результаты теста (сердечная недостаточность); прием энтеросорбентов (действующих на абсорбцию веществ из желудочно-кишечного тракта); при-

ем фенобарбитала, рифампицина (являются индукторами системы CYP); употребление наркотических средств.

Всем испытуемым было проведено тестирование на маркеры вирусных гепатитов, биохимическое исследование крови; а больным гепатитами — УЗИ и радиоизотопное скенирование печени, по показаниям — контрастная рентгенография пищевода и желудка. Испытуемые были разделены на 4 группы: больные с вирусным циррозом печени класса В по Чайльд-Пью в активную фазу; с острым вирусным гепатитом (ОВГ) в стадию разгара; с хроническим вирусным гепатитом 0 степени активности (ХВГ 0 акт.), у которых маркеры вирусных гепатитов выявлены впервые, за 1-5 месяцев до исследования; больные хроническим вирусным гепатитом, 2 стадии, 2-3 степени активности (ХВГ 2-3 акт.) с продолжительностью заболевания 3-5 лет. Стадия и активность гепатитов определены согласно критериям международной Лос-Анджелесской классификации [10]. Больные находились на одинаковом режиме (палатном), диете (стол №5 по Певзнеру), стандартной терапии.

Контролем служила сопоставимая по возрасту и половому составу группа из 16 здоровых добровольцев. Из исследования исключались лица с отягощенным аллергологическим анамнезом, набравшие по опроснику CAGE 2 балла и более, постоянно принимающие лекарственные средства или биологические добавки, влияющие на активность системы CYP 450.

Для проведения анаприлинового теста использовался таблетированный препарат в однократной дозе 60 мг. Учитывая, что концентрация пропранолола в слюне выше, чем в сыворотке крови, она использовалась в качестве тест-ткани, что позволяет проводить исследование неинвазивно [3,13,14]. Анаприлин принимался испытуемыми утром, затем собиралась слюна через 4, 8, 12, 16, и 24 часа. В каждой порции слюны концентрацию пропранолола определяли методом ВЭЖХ по собственной методике. Рассчитывались показатели: TS (промежуток времени, который требуется для снижения концентрации препарата на 50%) и клиренс (объем тест-ткани, очищаемый от препарата за единицу времени), отражающие метаболизирующую функцию печени [2,7].

Результаты исследования представлены как $M \pm s$, где M — среднее значение, s — среднее квадратичное отклонение. Статистический анализ проведен с использованием пакета программ STATISTICA Soft v. 6.0. Учитывая нормальное распределение данных (распределение вариант проверялось критерием Шапиро-Уилка), при сравнении групп использовался t-критерий Стьюдента для независимых выборок, различия считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

Был разработан простой ВЭЖХ-метод для анализа пропранолола в биологических жидкостях (сыворотка/плазма, слюна) с твердофазной экстракцией на картриджах, упакованных сверхсшитым полистиролом (Purosep-200) по собственной технологии, пригодный для рутинного клинического применения. Примеры хроматограмм представлены на рисунке 1. Определено, что частичный гемолиз, гиперлипидемия и гиперпротеинемия не влияют на экстракцию β -блокаторов.

Гипербилирубинемия часто считается показателем функциональной недостаточности печени, а иногда и прогностическим фактором риска [8,10]. По нашим данным уровнем общего билирубина отличаются группы с ОВГ и циррозом печени как по сравнению со здоровыми, так и между собой ($p < 0,001$) (табл. 1). Но различить по этому показателю больных с ХВГ 2-3 активности, ХВГ 0 активности и здоровых испытуемых невозможно ($p > 0,05$). По уровню АлАТ значимо отличаются все группы больных ($p < 0,001$), но активность этого фермента одинакова (находится в референтных пределах) у больных с ХВГ 0 активности и здоровых. Показатели белковосинтетической функции печени (уровень альбумина крови и протромбиновый индекс) в наших выборках значимо не отличались (табл. 2).

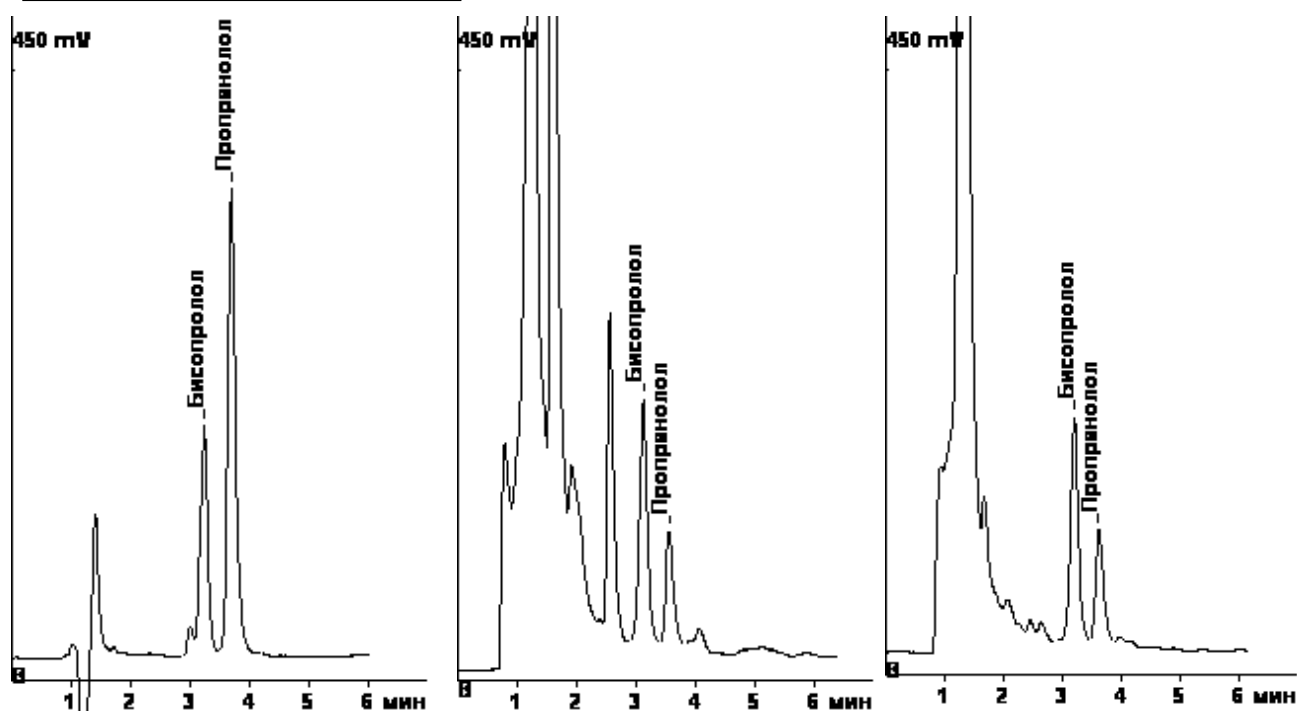


Рис. 1. Хроматограммы стандартов бисопролола 200 нг и пропранолола 50 нг, (слева), экстракта сыворотки (в центре) и слюны (справа) пациента через 4 часа после приема 60 мг пропранолола (бисопролол – внутренний стандарт).

При изучении фармакокинетики пропранолола у здоровых нами показано, что TS препарата составило $7,1 \pm 1,4$ ч, что превышает справочные данные, клиренс $47,8 \pm 20,9$ мл/мин [4,8]. Изменения метаболизирующей функции печени по данным анаприлинового теста у больных с разными формами гепатитов происходят не-

билирубина, трансаминаз, белковый состав крови, протромбиновый индекс у них не отличались от здоровых ($p > 0,05$). По данным ультразвукового и радиоизотопного сканирования органа патологии также нет, либо имеются незначительные диффузные изменения печени. При проведении анаприлинового теста выявлено,

Биохимические показатели больных исследуемых групп ($M \pm s$)

Показатель	ОВГ	ХВГ 0 акт.	ХВГ 2-3 акт.	Цирроз печени
Билирубин общий, мкмоль/л	148 ± 58	$16,9 \pm 8,3$	$23,4 \pm 8,3$	$101,9 \pm 39,1$
АЛТ, МЕ/л	$1325,4 \pm 588,7$	$32,0 \pm 10,6$	$217,1 \pm 77,8$	$121,6 \pm 33,1$
АСТ, МЕ/л	$1523,0 \pm 553$	$32,46 \pm 6$	$159,5 \pm 58,2$	$258,0 \pm 52,5$
Альбумины, %	$42,0 \pm 11,5$	$52,9 \pm 6,4$	$52,1 \pm 6,4$	$45,2 \pm 8,8$
ПТИ	$96,0 \pm 6,9$	$94,0 \pm 14,9$	$100,4 \pm 8,5$	$82,4 \pm 13,8$

днозначно: у больных с ОВГ TS пропранолола значительно укорачивается (на наш взгляд это объясняется артериальным полнокровием органа при остром воспалении), в остальных же группах – достоверно удлиняется, причем как по сравнению с контролем, так и между собой.

Больные с ХВГ 0 активности являются наиболее опасной в эпидемиологическом плане и самой многочисленной группой в структуре больных гепатитами, течение и прогноз заболевания у них могут быть различными [10]. Больные этой группы в нашем случае ни на момент поступления в стационар, ни в анамнезе жалоб, характерных для заболеваний печени, не имели. При «стандартном» обследовании признаков нарушения функции печени у них не обнаружено – уровень

Таблица 1 что детоксикационная функция у них угнетена не менее, чем у больных с ХВГ 2-3 степени активности ($p > 0,05$) – TS пропранолола удлинена вдвое, хотя традиционно больные неактивными формами гепатитов расцениваются в клинике как «менее тяжелые», чем с активными формами процесса.

Исследование клиренса пропранолола дало менее показательные результаты (табл. 3).

Таблица 2

Характеристика исследуемых групп ($M \pm s$)

Группа	Средний возраст, лет	Половой состав, %		Вид гепатита, %
		муж.	жен.	
Острый гепатит (n = 15)	$29,0 \pm 9,0$	40	60	A – 60 B – 40
Хронический гепатит 0 акт. (n = 11)	$30,2 \pm 9,0$	55	45	B – 54,5 C – 45,5
Хронический гепатит 2-3 акт. (n = 11)	$36,0 \pm 8,0$	91	9	B – 91 C – 9
Цирроз печени (n = 10)	$31,4 \pm 6,0$	60	40	B – 20 C – 60 B+C – 20

Концентрация пропранолола через 24 ч. у здоровых находится в пределах чувствительности метода – 5-7 нг/мл, кроме того, эти результаты не влияют на точность

Таблица 3

Показатели анаприлинового теста (M±s)

Показатель	Здоровые (n=16)	ОВГ (n=15)	ХВГ 0 акт. (n=11)	ХВГ 2-3 акт. (n=11)	Цирроз печени (n=10)
$T_{1/2}$, ч	7,1±1,4	4,9±1,7 $p_1 = 0,003^*$ $p_3 < 0,001^*$ $p_4 < 0,001^*$ $p_5 < 0,001^*$	13,45±2,1 $p_1 < 0,001^*$ $p_2 < 0,001^*$ $p_4 > 0,05$ $p_5 < 0,001^*$	12,4±3,4 $p_1 < 0,001^*$ $p_2 < 0,001^*$ $p_3 > 0,05$ $p_5 < 0,002^*$	16,5±0,9 $p_1 < 0,001^*$ $p_2 < 0,001^*$ $p_3 < 0,001^*$ $p_4 < 0,002^*$
Клиренс, мл/мин	4,8±20,9	84,1±20,7 $p_1 < 0,001^*$ $p_3 < 0,001^*$ $p_4 < 0,001^*$ $p_5 < 0,001^*$	48,3±19,3 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001^*$ $p_4 < 0,001^*$ $p_5 > 0,05$	122,2±7,34 $p_1 < 0,001^*$ $p_2 < 0,001^*$ $p_3 < 0,001^*$ $p_5 < 0,001^*$	54,9±9,3 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,001^*$ $p_3 > 0,05$ $p_4 < 0,001^*$

Примечание: p_1 — значение различий по отношению к здоровым, p_2 — значение различий по отношению к больным ОВГ, p_3 — значение различий по отношению к больным ХВГ 0 активности, p_4 — значение различий по отношению к больным ХВГ 2-3 активности, p_5 — значение различий по отношению к больным циррозом печени, * — указаны случаи значимых различий.

построения фармакокинетической кривой. Несмотря на то, что у больных уровень препарата в слюне в это время выше, для проведения теста в клинических условиях достаточно забора материала 4 раза — через 4, 8, 12 и 16 часов от приема анаприлина, что является более удобным и для больного, и для исследователя.

Более значимым критерием при проведении теста с пропранололом является период полувыведения препарата ($T_{1/2}$). При проведении теста последний забор слюны достаточно проводить через 16 ч. после приема анаприлина, так как через 24 ч. в организме присутствуют лишь следовые концентрации препарата.

ANAPRILIN TEST POSSIBILITIES AS A METHOD TO ASSESS DETOXICATION HEPATIC FUNCTION

E.V. Prutkina, A.A. Dutov, N.N. Tzybikov
(Chita State Medical Academy)

Anaprilin (propranolol) test using saliva as a method to assess metabolic hepatic function was studied. Propranolol concentration in saliva was determined by HPLC test with solid-phase extraction on hypercross-linked polystyrene cartridges by our own technique. According to this test hepatic function was determined in 47 patients with different forms of viral hepatitis, liver cirrhoses and in 16 healthy ones. Anaprilin (propranolol) test sensitivity in unchangeable biochemical blood results of patients was proved.

ЛИТЕРАТУРА

1. Андреева Т.В., Кузнецова Э.Э., Горохова В.Г. ВЭЖХ антипирина — метод экспресс-диагностики функциональной активности монооксигеназной системы печени человека // Химико-фармацевтический журнал. — 2000. — Т. 34, № 1. — С.10-11.
2. Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г. Клиническая фармакокинетика. Практика дозирования лекарств. — М.: Литера, 2005. — 288 с.
3. Жамбалов Д.Б. Повышение эффективности фармако-терапии артериальных гипертензий с использованием фармакокинетических параметров β -адреноблокаторов: Автореф. дис...канд. мед. наук. — Улан-Удэ, 2005. — 23 с.
4. Метелица В.И. Справочник по клинической фармакологии сердечно-сосудистых средств. — СПб.: Невский диалект, 2002. — 926 с.
5. Пальцев М.А. Введение в молекулярную медицину. — М.: Медицина, 2004. — 496 с.
6. Сергеева Г.И., Князькова Л.Г., Могуткова Т.А. и др. Острофазовый ответ и биотрансформационная активность печени после операций на открытом сердце // Патология кровообращения и кардиохирургия. — 2006. — № 1. — С.64-71.
7. Сергиенко В.И., Джеллифф Р., Бондарева И.Б. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение. — М.: Изд-во РАМН, 2003. — 208 с.
8. Тиц Н.У. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Пер. с англ. — М.: Лабинформ, 1997. — 960 с.
9. Хазанов А.И. К вопросу о клиническом значении функциональных проб печени // Росс. журнал гастроэнтерол., гепатол., колопроктол. — 1998. — Т. 8, № 5. — С.29-34.
10. Шерлок Ш. Заболевания печени и желчных путей / Пер. с англ. — М.: ГЭОТАР Медицина, 2002. — 864 с.
11. Chernyak Y., Portyanaya N., Taranenko N. Determination of cytochrome P450 1A2 (CYP1A2) enzyme activity using Antipyrine as probe — test in "shelekhov" firefighters // Organohalogen Compounds. — 2000. — Vol. 49. — P.239-242.
12. Gournay J., Masliah C., Martin T. Isosorbide mononitrate and propranolol compared with propranolol alone for the prevention of variceal rebleeding // Hepatology. — 2000. — Vol. 31. — P.1239-1245.
13. Haecel R., Hanecke P. Application of saliva for drug monitoring. An in vivo model for transmembrane transport // Eur. J. Clin. Chem. Biochem. — 1996. — Vol. 34, № 3. — P.171-191.
14. Hold K.M., de Boer D., Soedirman J.R., Zuidema J. The secretion of propranolol enantiomers in human saliva: evidence for active transport? // J. Pharm. Biomed. Anal. — 1995. — Vol. 13, №11. — P.1401-1407.
15. Peng G.W., Chiou W.L. Analysis of drugs and other toxic substance in biological samples for pharmacokinetic studies // J. Chromatogr. — Biomed. Appl. — 1990. — Vol. 96. — P.3-50.