

# МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№2

ТОМ 8

2008

ОФИЦИАЛЬНОЕ ИЗДАНИЕ СЕВЕРО-ЗАПАДНОГО ОТДЕЛЕНИЯ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ МЕДИЦИНСКИХ НАУК

## РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Ткаченко Б. И. — академик РАМН, главный редактор,  
 Дуданов И. П. — член-корреспондент РАМН, заместитель главного редактора,  
 Назорнев В. А. — академик РАМН, заместитель главного редактора,  
 Шабанов П. Д. — профессор, ответственный секретарь,  
 Артамонова В. Г. — академик РАМН,  
 Айламазян Э. К. — академик РАМН,  
 Ерюхин И. А. — член-корреспондент РАМН,  
 Иванова В. В. — член-корреспондент РАМН,  
 Игнатов Ю. Д. — академик РАМН,  
 Кетлинский С. А. — член-корреспондент РАМН,  
 Лобзин Ю. В. — академик РАМН,  
 Мазуров В. И. — член-корреспондент РАМН,  
 Скоромец А. А. — академик РАМН,  
 Семизлазов В. Ф. — член-корреспондент РАМН,  
 Селиванов Е. А. — член-корреспондент РАМН,  
 Щербо А. П. — член-корреспондент РАМН.

## РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ:

Беляков Н. А. — академик РАМН,  
 Гайдар Б. В. — академик РАМН,  
 Гриненко А. Я. — академик РАМН,  
 Киселев О. И. — академик РАМН,  
 Корнева Е. А. — академик РАМН,  
 Корнилов Н. В. — член-корреспондент РАМН,  
 Климов А. Н. — академик РАМН,  
 Медик В. А. — член-корреспондент РАМН,  
 Напалков Н. П. — академик РАМН,  
 Симбирцев С. А. — член-корреспондент РАМН,  
 Сидоров П. И. — академик РАМН,  
 Софронов Г. А. — академик РАМН,  
 Тоголян А. А. — академик РАМН,  
 Шабров А. В. — академик РАМН,  
 Шляхто Е. В. — член-корреспондент РАМН,  
 Хавинсон В. Х. — член-корреспондент РАМН,  
 Яицкий Н. А. — академик РАМН,  
 Vorland R. — профессор (Австралия),  
 Ferreti J. — профессор (США).



*Журнал издается при финансовой поддержке ОАО «Кондопога»*

Журнал включен в Реферативный журнал и Базы данных ВИНТИ РАН.  
 Сведения о журнале ежегодно публикуются в международной справочной системе  
 по периодическим и продолжающимся изданиям «Ulrich's Periodicals Directory»

Адрес: 197022, Санкт-Петербург, Каменноостровский пр., 69/71, Северо-Западное отделение Российской  
 академии медицинских наук, Редакция журнала «Медицинский академический журнал».  
 Тел.: (812) 542-4397; Факс: (812)234-9487; E-mail: shabanov@mail.rcom.ru

Журнал зарегистрирован Территориальным управлением по Санкт-Петербургу и Ленинградской области  
 Министерства РФ по делам печати, телерадиовещания и средств массовых коммуникаций.  
 Свидетельство о регистрации ПИ № 2-4952 от 17.01.2001-г.

© Северо-Западное отделение Российской академии медицинских наук

## СОДЕРЖАНИЕ

ПЕРЕДОВАЯ	
Мандельштам М.Ю., Васильев В.Б. Моногенные болезни – недооцененная угроза здоровью населения ....	3
ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ МЕДИЦИНА	
Ткаченко Б. И., Евлахов В. И., Поясов И. З. Динамика изменений величин давления и кровотока легочной артерии при применении прессорных вазоактивных веществ .....	14
Рождественская А. С., Дмитриев А. В., Грабовская К. Б., Тотолян А. А. Инактивация гена регулятора транскрипции Rgg изменяет экспрессию секретируемых факторов патогенности и вирулентность <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	21
Сапронов Н. С., Нежинская Г. И., Владыкин А. Л. Взаимодействие белков плазмы крови с холинергической системой при воспалении .....	28
Прошин С. Н., Каминская Е. В., Лебедев А. А., Байрамов А. А., Яковлев А. Ф., Шабанов П. Д. Сиалидазная активность клеток опухолевых клонов рабдомиосаркомы RA-23 с высоким и низким метастатическим потенциалом .....	40
Суханов И. М., Драволина О. А., Звартау Э. Э., Беспалов А. Ю. Механизмы никотиновой зависимости .....	45
КЛИНИЧЕСКАЯ МЕДИЦИНА	
Скоромец А. А., Шварцман Г. И., Фишман Б. Б., Хайбуллин Т. Н. Патогенетические факторы риска различных типов мозгового инсульта и их влияние на прогноз заболевания .....	55
Селиванов Е. А., Слепнева Л. В., Алексеева Н. Н., Хмылова Г. А., Гербут К. А., Герасимова М. Л., Крылова И. Б., Зарубина И. В. Использование препарата «Конфумин» для лечения ишемии миокарда в эксперименте .....	62
Оконенко Т. И., Вебер В. Р. Состояние иммунного статуса у больных бронхиальной астмой подростков в Великом Новгороде .....	69
Семиглазов В. Ф., Дашян Г. А., Семиглазов В. В., Палтуев Р. М., Криворотко П. В., Сауран Э. Т., Коларькова В. В., Донских Р. В., Шамина Е. А., Кошетова И. А. Применение ангиогенных препаратов в адьювантном лечении рака молочной железы .....	74
Капутин М. Ю., Овчаренко Д. В., Бреговский В. Б., Сорока В. В., Боровский И. Э., Дуданов И. П., Сидоров В. Н., Платонов С. А. Транслуминальная баллонная ангиопластика у больных сахарным диабетом с критической ишемией нижних конечностей .....	84
Потин В. В., Тиселько А. В., Боровик Н. В., Абашова Е. И. Помповая инсулинотерапия сахарного диабета во время беременности .....	92
Калиновский В. П., Шумаков А. Р., Ткаченко Е. И. Изменения в системе «пепсиноген–пепсин» при развитии опухолевых и неопухолевых заболеваний желудка .....	100
Иванов А. Ю., Панунцев В. С., Кондратьев А. Н., Иванова Н. Е., Петров А. Е., Комков Д. Ю., Панунцев Г. К., Черепанова Е. В., Вершинина Е. А. Компенсаторные возможности яремных вен при изменении оттока крови от головного мозга .....	109
ДИСКУССИИ	
Климов А. Н., Денисенко А. Д. Может ли иммунная система защищать нас от атеросклероза? .....	115
РЕЦЕНЗИЯ	
Ноздрачев А. Д. Рецензия на монографию «Фармакология в Санкт-Петербурге (исторические очерки)» .....	118
ЮБИЛЕИ	
Яицкий Николай Антонович к 70-летию со дня рождения .....	124

## CONTENTS

FORWARD	
Mandelstam M. Yu., Vasilyev V. B. Monogenic diseases – underestimated threat to public health .....	3
BASIS MEDICINE	
Tkachenko B. I., Evlakhov V. I., Poyassov I. Z. Dynamic changes of pulmonary pressure and flow following pressor vasoactive drugs intravenous injection .....	14
Rozhdestvenskaja A. S., Dmitriyev A. V., Grabovskaja K. B., Totolyan A. A. Inactivation of the transcription regulator gene Rgg leads to changes in the expression of secreted pathogenicity factors and the virulence of <i>Streptococcus pyogenes</i> .....	21
Sapronov N. S., Nezhinskaya G. I., Vladykin A. L. Interaction of plasma proteins with cholinergic system during inflammation .....	28
Proshin S. N., Kaminskaya E. V., Lebedev A. A., Bairamov A. A., Yakovlev A. F., Shabanov P. D. Sialidase activity of tumor cells of rhabdomyosarcoma RA-23 clones with high and low metastatic potential .....	40
Sukhanov I. M., Dravolina O. A., Zvartau E. E., Bepalov A. Yu. Mechanisms of nicotine dependence .....	45
CLINICAL MEDICINE	
Skoromets A. A., Shvartsman G. I., Fisman B. B., Haibulin T. N. Pathogenetic risk factors of various types of the stroke and their influence on the disease prognosis .....	55
Selivanov E. A., Slepneva L. V., Alekseeva N. N., Khmylova G. A., Gerbut K. A., Gerasimova M. L., Krylova I. B., Zarubina I. V. Use of the preparation «Konfumim» intended for treatment of ischemic myocardium in experiment .....	62
Okonenko T. I., Veber V. R. Immune status in teenagers with bronchial asthma in Velikii Novgorod .....	69
Semiglazov V. F., Dashyan G. A., Semiglazov V. V., Paltuev R. M., Krivorotko P. V., Sauran E. T., Kolarkova V. V., Donskih R. V., Shamina E. A., Kochetova I. A. Anti-angiogenic drugs used in adjuvant treatment of breast cancer .....	74
Kaputin M. Yu., Ovcharenko D. V., Bregovskii V. B., Soroka V. V., Borovskii I. E., Dudanov I. P., Sidorov V. N., Platonov S. A. Transluminal balloon angioplastics in diabetes mellitus patients with critical ischemia of the lower extremities .....	84
Potin V. V., Tiselko A. V., Borovik N. V., Abashova E. I. Insulin pump therapy of diabetes during pregnancy .....	92
Kalinovsky V. P., Shumakov A. R., Tkachenko E. I. Changes in «pepsinogen-pepsin» system during development of tumor and nontumor gastric diseases .....	100
Ivanov A. Yu., Panuntsev V. S., Kondratyev A. N., Ivanova N. E., Petrov A. E., Komkov D. Yu., Panuntsev G. K., Cherepanova E. V., Verшинina E. A. Compensatory abilities of the jugular veins under conditions of altered cerebral blood drainage .....	109
DISCUSSIONS	
Klimov A. N., Denisenko A. D. Can the immune system protect us against atherosclerosis? .....	115
REVIEW	
Nozdrachev A. D. Recension of the monograph «Pharmacology in St. Petersburg» .....	118
JUBILEES	
Yaitsky Nikolay Antonovich on the 70 <sup>th</sup> anniversary .....	124

## МОНОГЕННЫЕ БОЛЕЗНИ – НЕДООЦЕНЕННАЯ УГРОЗА ЗДОРОВЬЮ НАСЕЛЕНИЯ

МАНДЕЛЬШТАМ М. Ю., ВАСИЛЬЕВ В. Б.

ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,  
Санкт-Петербург

**Мандельштам М.Ю., Васильев В.Б.** Моногенные болезни – недооцененная угроза здоровью населения // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 3–13. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Вопреки широко распространенным представлениям, моногенные заболевания являются причиной многих часто встречающихся патологий у пациентов не только детского, но и взрослого возраста. Изучение моногенных заболеваний внесло неоценимый вклад в формирование современных представлений о генетической основе таких часто встречающихся мультифакториальных болезней, как атеросклероз, рак и психические заболевания. Более того, изучение генов и белков, функция которых нарушена при моногенных болезнях, позволило разработать новые лекарственные средства, которые широко применяются для лечения мультифакториальных и полигенных болезней. На основе примеров из литературных источников и оригинальных данных по изучению семейных форм глаукомы, рака молочной железы и семейной гиперхолестеринемии в Санкт-Петербурге, показано, что сегодня изучение моногенных болезней в России и в мире как никогда актуально и что эта проблематика заслуживает существенно большего внимания.

*Ключевые слова:* атеросклероз, глаукома, новые лекарственные средства, моногенные болезни, мультифакториальные заболевания, рак молочной железы, семейная гиперхолестеринемия.

**Mandelstam M. Yu., Vasilyev V. B.** Monogenic diseases – underestimated threat to public health // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 3–13. Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg.

In contrast to the prevailing viewpoint, monogenic disorders are responsible for many widespread pathologies not only in children, but in adults as well. Studies of monogenic diseases provided an invaluable contribution to our current knowledge of the genetic basis of such common multifactorial diseases as atherosclerosis, cancer and mental disorders. Moreover, studying genes and proteins with a function altered in monogenic diseases allowed developing new drugs now widely used for treatment of multifactorial and polygenic diseases. On account of examples borrowed from the literature and of our own results of studying familial forms of glaucoma, breast cancer and familial hypercholesterolemia in St. Petersburg we argue that investigations of monogenic diseases in Russia and worldwide have never been more relevant than today and that the issue as a whole deserves more attention.

*Key words:* atherosclerosis, breast cancer, familial hypercholesterolemia, glaucoma, monogenesis diseases, multifactorial diseases, new drugs.

К настоящему времени в научной среде пришли к убеждению, что большинство болезней человека имеют генетическую основу, и в большинстве случаев патология развивается как результат взаимодействия генотипа и факторов окружающей среды или факторов «образа жизни» [56]. После завершения проекта «Геном человека» и идентификации практически всех кодирующих белки генов человека, которых по недавним подсчетам существует не более 25 000 [32], интерес исследователей сместился в область функциональной геномики. При этом моногенные заболевания человека – состояния, обусловленные дефектами отдельных генов, – стали привлекать меньшее внимание ученых. Число вновь описываемых патогенных мутаций, появляющихся в базе данных по моногенным болезням человека – OMIM (*O*nline *M*endelian *I*nheritance in *M*an) [37], в 2002–2003 гг. по сравнению с 2000–2001 гг. снизи-

лось [19]. В 2003–2005 гг. упало и число регистрируемых наследуемых мутаций человека в базе данных Human Genome Mutation Database по сравнению с периодами 1999–2001 и 2001–2003 гг. [19]. Такое снижение интереса к моногенным заболеваниям вовсе не связано с истощением разнообразия неописанных мутаций и генных вариантов, предрасполагающих к заболеваниям. В настоящем обзоре мы приведем аргументы в пользу того, что моногенные заболевания заслуживают большего внимания современных исследователей.

Несмотря на то, что геном человека секвенирован, к настоящему времени известно довольно мало о функциях отдельных генов и о влиянии изменений в нуклеотидных последовательностях на развитие заболеваний [19]. Путь к пониманию функций отдельных генов и ген-генных взаимодействий лежит через исследование моногенных болезней, характе-

ристику встречающихся в популяции мутаций, в том числе весьма редких. Понимание механизмов подчас крайне редких моногенных заболеваний дает чрезвычайно ценные знания для определения генных функций, расшифровки молекулярных взаимодействий в норме и при патологии, формирования фенотипа, а также и для более «модных» исследований мультифакториальных заболеваний. Наконец, моногенные болезни составляют самостоятельную проблему для здоровья населения, которая недооценивается ни врачами, ни общественными деятелями. На примере патологий, исследуемых в Отделе молекулярной генетики ГУ НИИЭМ РАМН, мы постараемся показать, что диагностика и лечение моногенных заболеваний могут быть существенно улучшены, если для ранней идентификации патологических мутаций и медико-генетического консультирования используются методы анализа ДНК.

#### Некоторые «мифы» о наследственных заболеваниях

В отношении моногенных болезней человека, как в среде обывателей, так и в среде ученых, распространены заблуждения, которые мы дальше будем называть «мифами». К ним относятся следующие положения:

- Моногенные заболевания встречаются весьма редко
- Моногенные заболевания приурочены к детскому возрасту
- Моногенные заболевания в своей основе неизлечимы
- Большинство генов моногенных заболеваний охарактеризовано, и поэтому дальнейшее изучение этих заболеваний не внесет существенного вклада в биомедицинскую науку

Однако ни одно из приведенных положений не верно, и сохранение этих «мифов» в обществе мешает эффективной борьбе с моногенными заболеваниями. В последнее десятилетие появился ряд чрезвычайно полезных монографий [2, 3, 15 и др.], привлекающих внимание читателей к наследственным заболеваниям, но их явно недостаточно для изменения отношения к моногенным заболеваниям в России.

К 2006 г. было идентифицировано 1822 гена, патологические аллели которых у человека обуславливают развитие моногенных заболеваний [19]. Существенно, что при низкой частоте встречаемости отдельных аллельных вариантов суммарный генетический груз от моногенных наследственных патологий весьма велик. Эти патологии встречаются с частотой 4,5–15,0 случая на 1000 новорожденных [55, цит. по: 15], т. е. представляют серьезную медицинскую проблему. Кроме того, многие моногенные заболевания

не могут считаться «редкими», так как их частота в популяции может быть и достаточно велика. Наследуемая как аутосомно-доминантный признак семейная гиперхолестеринемия (СГ) обнаруживается у 1 из 500 людей белой расы [21], а сильно выраженная предрасположенность к раку молочной железы, обусловленная мутациями генов *BRCA1* и *BRCA2*, – приблизительно у 1 из 2000 обследованных [1, 20]. Среди аутосомно-рецессивных заболеваний одним из наиболее распространенных является муковисцидоз (или кистозный фиброз), который среди населения Европы встречается с частотой 1:2500 [3]. Согласно закону Харди-Вайнберга, это означает, что каждый 25-й человек в популяции является носителем мутаций в гене муковисцидоза (*CFTR*) и, следовательно, потенциально может иметь больного ребенка. В случае более редко (1:10000) встречающейся фенилкетонурии мутантный ген фенилаланингидроксилазы (*PAH*) присутствует у 1 человека из 50.

Гетерозиготные носители дефектных генов также могут иметь отклонения в состоянии здоровья. Например, у носителей мутаций локуса *PAH* понижен коэффициент IQ, повышен риск возникновения шизофрении определенного типа, а у женщин – риск спонтанных аборт и мертворождений [66, цит. по: 15].

Наконец, следует помнить, что в отдельных популяциях и этнических группах частоты встречаемости заболеваний могут существенно отличаться от общемировых. Заметно более высокая частота встречаемости СГ, чем средний показатель 1:500 для людей белой расы, наблюдается в ряде изолированных этнических групп. Так, частота заболевания у евреев Йоханнесбурга достигает 1 случай на 67 обследованных [38, 49, 59], а среди африканеров ЮАР (потомков голландских переселенцев) – 1 случай на 71 обследованного [62, 63]. Среди франкоговорящих канадцев в отдельных районах их компактного проживания частота СГ составляет 1 случай на 122 человека [29]. У христиан Ливана (в основном, это этнические арабы) частота гетерозиготной формы СГ также выше общемировой и оценивается как 1:170 [45, 60].

Частота носительства отдельных мутаций, обуславливающих моногенные заболевания, также может быть очень высока. Мутация 185delAG в гене *BRCA1* обнаруживается примерно у 1% в популяциях евреев-ашкенази, мутация 6174delT в гене *BRCA2* – у 0,9%, а мутация 5382insC в гене *BRCA1* – у 0,13% представителей этой этнической группы [53, 58, 65]. Эти цифры много выше названной ранее усредненной частоты встречаемости всех мутаций гена *BRCA1* у людей белой расы, оцененной как 1:2000. Следует иметь в виду, что среди смешанного по этническому составу населения России частоты мутаций в отде-

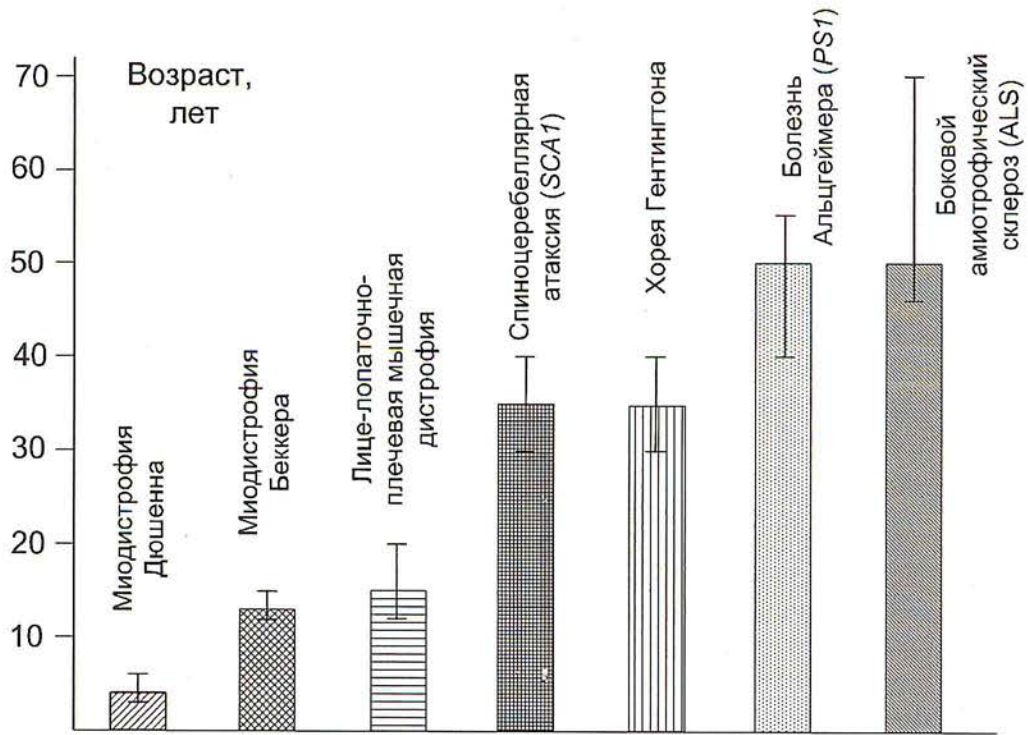


Рис. 1. Возраст манифестации некоторых моногенных заболеваний

льных этнических группах могут быть существенно выше, чем в среднем по стране.

Второй «миф», касающийся манифестации моногенных заболеваний лишь в детском возрасте, наиболее наглядно может быть разоблачен на примере заболеваний нервно-мышечной системы, характеризующихся наибольшей гетерогенностью и разнообразием форм (рис. 1). X-сцепленное заболевание миодистрофия Дюшенна, встречающееся с частотой 1 случай на 3500 новорожденных мальчиков, начинается в возрасте 3–6 лет, т. е. это заболевание определено связано с детским возрастом. Аллельный вариант миодистрофии Дюшенна – миодистрофия Беккера проявляется в 12–25 лет и характеризуется более мягким течением. Лице-лопаточно-плечевая мышечная дистрофия Ландузи-Дежерина манифестирует также в 12–20 лет [4], а миотоническая дистрофия (гены *DM1*, *DM2*) – во 2–3-м десятилетии жизни. Спинаocerebellарная атаксия первого типа (ген *SCA1*) начинается обычно на 3–4-м десятилетии жизни, а хорея Гентингтона – между 40 и 60 годами [8]. При семейных формах болезни Альцгеймера, связанных с геном *APP*, заболевание манифестирует чаще всего в возрасте от 40 до 50 лет, а в случае мутаций в гене пресенилина-1 (*PS-1*) заболевание носит наиболее агрессивный и ранний характер (начало болезни от 24 до 56 лет) [8]. Боковой амиотрофический склероз относится к болезням нервной системы с поздним началом и проявляется в среднем в возрасте около 55 лет [8]. Из сказанного видно, что

существует большое число моногенных заболеваний, манифестирующих и после 40 лет.

Представление о неизлечимости моногенных заболеваний также не соответствует в целом возможностям современной медицины. Действительно, до сих пор не удается найти и в ближайшем будущем вряд ли удастся разработать лекарства для такого тяжелого заболевания, как миодистрофия Дюшенна. Модельные опыты по генной терапии этой патологии не способны восстановить длительную экспрессию в мышцах нормального гена дистрофина (*DMD*) взамен «испорченного» при болезни, и, что еще более существенно, доставляют экспрессируемый ген лишь в небольшое число мышечных волокон [8, 52]. Однако если говорить о другом тяжелом моногенном заболевании – фенилкетонурии, то диетологические меры, начатые своевременно, позволяют существенно снизить тяжесть ее проявлений. Примером успешного использования лекарств против моногенных заболеваний может служить применение статинов при СГ и семейном дефекте аполипопротеина В-100.

Последний «миф» о том, что исследование моногенных заболеваний сегодня исчерпало себя, не выдерживает никакой критики. Изучение моногенных заболеваний привело к пониманию тонких механизмов биохимических процессов, выявлению новых генов, вовлеченных в развитие распространенных патологий и более взвешенному подходу к оценке генетических и негенетических факторов риска при мультифакториальных заболеваниях. В ранее опубли-

ликованном обзоре мы на примере больных с СГ [11] показали, как исследование этих пациентов позволяет выявлять факторы риска развития атеросклероза. Популяционные исследования, на основании которых было высказано предположение о роли многих наследственно обусловленных факторов в развитии инфаркта миокарда, не дали столь убедительного доказательства об их влиянии на развитие этой патологии, как изучение молекулярной природы этих факторов у больных СГ. Действительно, больные СГ уже имеют ведущий фактор риска развития инфаркта миокарда – мутацию в гене рецептора ЛНП и вызванную им умеренную или сильную гиперхолестеринемия – и поэтому особенно чувствительны к появлению дополнительных факторов риска. Образу говоря, больные СГ, как лакмусовая бумажка, остро реагируют на возникновение других факторов риска, которые усугубляют или замедляют у них течение атеросклеротической болезни. В случае часто встречающихся мутаций D9N и N291S в гене липопротеинлипазы (*LPL*), приводящих к снижению активности фермента и повышению уровня триглицеридов плазмы крови, в общей популяции не было найдено увеличения риска ИБС у носителей этих мутаций. Риск ИБС значительно повышался у пациентов с СГ и с мутациями липопротеинлипазы по сравнению с пациентами с СГ без этих дополнительных мутаций [68, 69]. Группа больных СГ позволяет определить значение и факторов, кажущихся ненаследственными, т. е. факторов образа жизни, для развития гиперлипидемии и ИБС. Курение табака является одним из ведущих факторов, повышающим смертность от ИБС, у пациентов с СГ [39]. Хорошо заметно влияние диеты на развитие сосудистых осложнений у больных СГ. Особенно это наглядно видно из результатов исследования генетики семейной гиперхолестеринемии в странах Востока, где традиционно низко потребление животных жиров. У пациентов из этих стран даже при наличии тяжелых мутаций в гене рецептора ЛНП развивается только мягкая гиперлипидемия. Особенно ярко это показано на группах пациентов с СГ из Китая, проживающих в Китае и Канаде. Переезд китайцев в Америку и переход к западному образу жизни и питания приводит к развитию у них более выраженной гиперлипидемии и, следовательно, повышенного риска ИБС по сравнению с китайцами, живущими в Китае [57]. В Тунисе была описана мутация FH-Souassi, приводящая к сдвигу рамки считывания в экзоне 10 гена рецептора ЛНП. У 11 пациентов, гомозиготных по мутации, средний уровень холестерина ЛНП составляет 16 ммоль/л (621 мг/дл), что свидетельствует о сильном влиянии мутации на функционирование рецептора ЛНП [61]. При этом почти все гомозиготные пациенты со столь повышенным уровнем холестерина и наличием ксан-

том не страдали от ИБС в раннем возрасте, а почти все гетерозиготные пациенты с той же мутацией не имели никаких клинических признаков заболевания. Уровень сыровоточного холестерина у них находился в пределах нормальной вариабельности этого показателя. В качестве объяснения этого феномена говорится [42, 61] о высоком потреблении в традиционных тунисских диетах ненасыщенных жирных кислот с растительным (оливковым) маслом и сложных углеводов при низком общем потреблении жиров. Уже давно было известно, что подобная диета приводит к снижению уровня холестерина плазмы крови, и она традиционно рекомендуется врачами пациентам с повышенным уровнем холестерина крови. СГ, таким образом, дает дополнительные свидетельства в пользу подобной врачебной практики.

### С чем связано снижение интереса к моногенным заболеваниям?

Количество статей, посвященных характеристике новых локусов моногенных заболеваний, в журнале «Nature Genetics» за первую половину 2005 г. (общее число – 14) оказалось почти в 3 раза меньше, чем за первую половину 2000 г. (общее число – 37). Кроме того, в 2005 г. эти статьи имели формат коротких сообщений, а не полноразмерных публикаций [19]. Отчасти подобная ситуация связана с тем, что идентификация локусов новых заболеваний стала рутинным делом, и поэтому такие результаты уже не могут быть опубликованы в наиболее высоко цитируемых журналах, таких, например, как «Nature Genetics». Более существенно то, что изменилась ситуация с финансированием. Действительно, основные локусы широко распространенных, высокопенетрантных и легко диагностируемых моногенных болезней были охарактеризованы еще до завершения проекта «Геном человека». В настоящее время общество и дающие гранты организации в большей мере интересуются широко распространенными формами мультифакториальной патологии, а не редкими малоизвестными формами наследственных заболеваний. Не следует, однако, думать, что локусы мультигенных заболеваний полностью охарактеризованы. В 2006 г. оставалось не менее 1500 локусов моногенных заболеваний, для которых ген был картирован, но генный продукт и ведущие к патологии мутации не были охарактеризованы [19]. В общем виде число моногенных заболеваний должно более или менее соответствовать числу генов человека, а с учетом аллельных серий, когда мутации в одном гене вызывают несколько нозологических форм, и превосходить общее число генов человека. Существенным прогрессом в изучении моногенных заболеваний человека и его менделирующих признаков стало моделирование генных дефектов на мышах с помощью

технологии «генного нокаута». Однако искусственно создаваемые делеции генов в мышах сами по себе не могут заменить исследования разнообразия генных мутаций у человека. Многие мутации, как, например, гена предшественника амилоида (*APP*) при болезни Альцгеймера и гипоксантингуанинфосфорибозилтрансферазы (*HPRT*) при болезни Леш-Нихана, приводят у мышей к другим фенотипам, более мягким, чем у человека. Многие, особенно неврологические, заболевания, связанные с нарушением способностей к обучению, нарушением памяти, с умственным отставанием, изменениями высших мозговых функций, не могут адекватно изучаться на мышах из-за различий в особенностях функционирования мозга человека и мыши [19].

### Моногенные заболевания как предмет исследования в настоящем и будущем

Изучение редких моногенных заболеваний в последние годы являлось основным средством познания механизмов часто встречающихся мультифакториальных патологий человека. Несмотря на то, что семейные формы заболевания и в еще большей степени формы заболеваний, обусловленные одним геном, составляют лишь очень небольшой процент всех случаев патологии, именно они позволяют идентифицировать метаболические пути, ведущие к развитию мультифакториальной патологии (табл. 1). Это положение можно проиллюстрировать на примере

болезни Альцгеймера, за развитие лишь 1–2% случаев которой ответственны мутации гена белка-предшественника амилоида (*APP*) и генов пресенилинов (*PS1*, *PS2*), участвующих в формировании гамма-секретазного комплекса и в процессинге *APP* [5, 56]. Однако именно идентификация этих генов сформировала представления о роли процессинга амилоида в развитии болезни Альцгеймера и послужила основой для изучения и других нейродегенеративных заболеваний, например болезни Паркинсона, связанной с повышенной экспрессией гена синуклеина и с мисфолдингом соответствующего белка. В случае рака молочной железы до 10% их считаются семейными формами, и опять же среди всех случаев рака молочной железы лишь около 1–2% связано с мутациями генов *BRCA1* и *BRCA2*. Вскоре после открытия высокопенетрантных мутаций генов *BRCA1* и *BRCA2* и белков, взаимодействующих с этими «пускателями» онкогенеза, обнаружили и другие гены, например, ген киназы *CHEK2*, мутации в котором обуславливают не редкие, но менее пенетрантные формы рака молочной железы в популяции [48]. Именно изучение комплекса белков, взаимодействующих с *BRCA1*, привело к обнаружению новых генетических факторов риска онкологических заболеваний в популяции.

Еще одним примером явной пользы от изучения моногенных форм заболеваний может служить идентификация в недавнем прошлом гена *USF-1*, вовлеченного в патогенез семейной комбинирован-

Таблица 1

Примеры моногенных болезней, послуживших пониманию механизмов широко распространенных патологий (по:[56])

Широко распространенное заболевание	Соответствующие моногенные заболевания	Дефектные белки при моногенных и мультифакториальных патологиях	Значение моногенных заболеваний для понимания механизмов часто встречающихся патологий
Психиатрические болезни	Семейный аутизм, редкие синдромы с транслокациями	Robo1, FOXP2, DISC1; нейролигины	Изучена функция белков в нейронах и ее нарушение при психиатрических болезнях
Болезнь Альцгеймера	Семейные формы с ранним началом	Пресенилины, APP	Поняты молекулярные механизмы амилоидозов
Эпилепсия	Семейные формы эпилепсии	Ионные каналы, например SCN1A, SCN1B, KCNQ2, KCNQ3	Очерчена роль ионных каналов в патологии
Головные боли	Семейная гемиплегическая мигрень	Ионные каналы, например CACNA1A, SCN1A, ATP1A2	Очерчена роль ионных каналов в патологии
Сердечная аритмия	Синдром длинного интервала QT	Ионные каналы, например KCNQ1, HERG, SCN5A, KCNE1, KCNE2	Поняты некоторые причины внезапной смерти
Дислипидемии	Болезнь Танжера, гипоальфахолестеринемия, семейные гиперлипидемии	ABCA1, USF1, LDLR, APOB, APOA1, LCAT, ABCG5, ABCG8, ARH, PCSK9	Получены новые данные о метаболизме холестерина

ной гиперлипидемии. Семейная комбинированная гиперлипидемия является самой часто встречающейся формой атерогенной гиперлипидемии среди людей белой расы: с ней ассоциировано около 10% всех случаев ишемической болезни сердца с относительно ранним началом. Ген *USF-1*, недавно изолированный при изучении семей с ранним инфарктом миокарда в финской популяции [54, 56], кодирует транскрипционный фактор (upstream stimulatory factor-1), который регулирует множество генов, участвующих в обмене липидов и в метаболизме глюкозы. Фактор *USF-1* оказался связанным не только с развитием семейной комбинированной гиперлипидемии, но и с возникновением многих симптомов метаболического синдрома – одной из часто встречающихся патологий человека, и с развитием предрасположенности к атеросклерозу в человеческой популяции в целом. Идентифицированные мутации локуса *USF-1* не были связаны собственно с нарушением синтеза белка, но влияли на содержание транскрипта этого гена. Поэтому опосредованно эти мутации влияли на количество фактора и, тем самым, на транскрипцию многих генов, вовлеченных в регуляцию артериаль-

ного давления (ренин, ангиотензиноген), метаболизм глюкозы (глюкокиназа, рецептор глюкагона, пируваткиназы L-типа) и обмен липидов (*ABCA1*, *APOA2*, *APOA5*, *APOC3*, *APOE*, синтазы жирных кислот и др.). Таким образом, идентификация мутаций в редких финских семьях с комбинированной семейной гиперлипидемией позволила установить новый локус, вовлеченный в развитие такой часто встречающейся мультифакториальной патологии, как метаболический синдром.

Второй аспект явной пользы от изучения моногенных заболеваний заключается в том, что одни и те же гены оказываются вовлеченными как в редкие семейные формы болезней, так и в часто встречающиеся мультифакториальные заболевания. При этом «нуль-аллели», полностью инактивирующие работу генов, часто выражаются в моногенных заболеваниях, а «leaky-аллели» или функционально значимые полиморфизмы многих генов связаны с развитием широко распространенной патологии. Наиболее наглядной иллюстрацией этого положения могут быть примеры с изменением дозы мутантного гена. Носители гомозиготных мутаций (или компаунд-ге-

Таблица 2

Моногенные болезни и белки-мишени лекарственных средств, приносящих наибольший доход фармацевтической промышленности США (по: [23])

Лекарство	Белок-мишень лекарства	Часто встречающаяся болезнь, на лечение которой направлено лекарство	Соответствующее моногенное заболевание (номер по каталогу OMIM)	Фенотип при моногенном заболевании
Статины (включая Липитор, Зокор, Мевакор)	ГМГ-КоА редуктаза (антагонисты)	Гиперхолестеринемия	СГ ( <i>LDLR</i> ) OMIM 606945	Высокий уровень холестерина (потеря функции рецептора ЛНП)
Сульфомочевины (включая, глюкотрол, микроназу, глиназу)	Рецептор сульфомочевины (антагонисты)	Диабет	РНН ( <i>ABCC8</i> , <i>KCNJ11</i> ); диабет новорожденных OMIM 600509 OMIM 600937	Острая гипогликемия (потеря функции белков), диабет (усиление функции белков)
Рекомбинантный эритропоэтин (Прокрит, Эпоген)	Рецептор эритропоэтина (агонисты)	Анемия	Семейный эритроцитоз ( <i>EPOR</i> ) OMIM 133171	Увеличенное содержание эритроцитов (усиление активности рецептора эритропоэтина)
Зипрекс, Риспердал, Сероквель	Рецепторы дофамина (антагонисты)	Шизофрения, маниакально-депрессивный психоз	Синдром миоклонус-дистонии ( <i>DRD2</i> ) OMIM 126450	Черты неврологических и психиатрических заболеваний (?утрата функции <i>DRD2</i> )
Плавикс	Пуринэргический рецептор P2Y (антагонист)	Атеросклероз, инсульт	Врожденная кровоточивость ( <i>P2RY12</i> ) OMIM 600515	Нарушение свертываемости (утрата функции белка-рецептора)

Примечание. OMIM – Online Mendelian Inheritance in Man, каталог моногенных заболеваний человека в сети Интернет; СГ – семейная гиперхолестеринемия, ЛНП – липопротеины низкой плотности; РНН – persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia of infancy.



терозиготы) по гену транспортера *ABCA1* страдают болезнью Танжера, одной из черт которой является низкий уровень холестерина липопротеинов высокой плотности. Гипоальфахолестеринемия [9, 10] является одним из широко распространенных дислипидопроteinемий, известных как фактор риска атеросклероза. Гетерозиготные носители лишь одной копии дефектного гена *ABCA1* имеют гипоальфахолестеринемия, но не страдают болезнью Танжера [22, 24]. Это наблюдение стимулировало исследователей к поиску функционально значимых полиморфизмов среди пациентов с наиболее высоким и с самым низким уровнем холестерина ЛВП. В США и Канаде было показано [27], что около 17% пациентов с уровнем ЛВП в нижних 5 персентилях в популяции имели редкую функционально значимую мутацию в одном из трех генов – аполипопротеина A1 (*APOA1*), транспортера *ABCA1* или лецитин-холестерин-ацилтрансферазы (*LCAT*). Это исследование показало, что мутации генов, ответственные за развитие редких моногенных заболеваний, вносят вклад в развитие часто встречающихся заболеваний (атерогенных дислипидемий) в популяции в целом [56].

Наконец, исследование моногенных заболеваний вносит существенный вклад в разработку лекарств, направленных на лечение широко распространенных патологий. Действительно, фармацевтические фирмы проявляют большой интерес к разработке средств, направленных на лечение таких «общих» патологий, как атеросклероз, диабет, психические заболевания, некоторые виды рака, чем на лечение редких моногенных патологий [23]. Из числа наиболее широко разрекламированных препаратов, входящих в десятку наиболее прибыльных лекарств, по крайней мере пять (Липитор, Зокор, Прокрит, Плавикс, Зипрекс) влияют на механизмы, нарушенные при моногенных заболеваниях (табл. 2) [23, 41]. Мутации в гене пуриnergического рецептора *P2Y12* (*P2PY12*), который является мишенью для действия Плавикса, нарушают свертываемость крови. Плавикс также способствует снижению свертываемости крови, что важно для профилактики атеросклероза и при лечении инсульта [64]. Редкие болезнетворные мутации, способствующие усилению активности рецептора эритропоэтина, приводят к увеличению количества эритроцитов (эритроцитозу). Воздействуя на рецептор эритропоэтина рекомбинантным белком (прокрит, эпоген), можно добиться увеличения количества эритроцитов при анемиях и облегчить их течение [34, 51]. Понимание механизма действия многих ранее разработанных лекарств, например сульфонилмочевин и статинов, также связано с изучением редких моногенных патологий. Мишенью действия сульфонилмочевин являются белки-компоненты их рецептора, известного как комплекс SUR1.

Редко встречающееся наследственное заболевание, связанное с сильно выраженной гипогликемией с детского возраста – РННІ (persistent hyperinsulinaemic hypoglycaemia of infancy), обусловлено мутациями генов, кодирующих белки этого рецепторного комплекса (*ABCA8* и *KCNJ11*), приводящими к потере функции этих белков [27]. Воздействие используемых в качестве лекарственных средств сульфонилмочевин, антагонистов рецепторного комплекса SUR1, приводит к увеличению секреции инсулина, почти как при моногенном заболевании, вызванном мутациями. Эти лекарства (глюкоктрол, микроназа, глиназа) показали себя эффективными при лечении диабетической гипергликемии.

История статинов началась с обнаружения того факта, что продуцируемый грибами компактин является мощным ингибитором ключевого фермента биосинтеза холестерина-3-гидрокси-3-метил-глутарилкофермента А редуктазы (ГМГ-КоА редуктазы) [30, 35] и приводит к повышению синтеза рецептора липопротеинов низкой плотности (ЛНП). Все созданные препараты группы статинов (симвастатин, аторвастатин и др.) являются негидролизруемыми аналогами мевалоновой кислоты – продукта катализируемой ГМГ-КоА редуктазой реакции. При этом основное фармакологическое воздействие этих лекарств осуществляется через повышение экспрессии гена рецептора ЛНП, увеличение количества молекул рецептора ЛНП на поверхности клеток и усиление захвата из кровотока ЛНП, переносящих холестерин, что смягчает имеющуюся у пациентов гиперхолестеринемия. При этом мутации в гене ГМГ-КоА редуктазы сами по себе не связаны с гиперхолестеринемией, а широко распространенные во всех популяциях мира генетические дефекты при СГ локализуются в гене рецептора ЛНП. Тонкие механизмы регуляции транскрипции гена рецептора ЛНП, реализующиеся через снижение содержания холестерина в мембранах эндоплазматического ретикулума, белки-сенсоры INSIG и SCAP и транскрипционные факторы SREBP-1 и SREBP-2, стали понятны благодаря классическим работам нобелевских лауреатов Брауна и Гольдштейна [40].

Еще большее значение изучение моногенных заболеваний может сыграть в будущем при разработке пептидных лекарств, например, для лечения гиперхолестеринемических состояний. При разработке новых лекарств идентификация продуктов редких моногенных болезней будет иметь не апостериорное значение для объяснения механизма действия лекарств, а напротив, будет важным для разработки принципиально новых фармакологических средств. Ген для белка PCSK9 был охарактеризован как локус, вовлеченный в развитие редких форм гиперхолестеринемии, совсем недавно [44]. Статины, в частности

аторвастатин, вызывают индукцию синтеза не только рецептора ЛНП, но и белка PCSK9 [25], который вызывает усиление деградации рецептора ЛНП на клеточной поверхности. Показано, что димеризация белка PCSK9 является необходимым условием для стимулирования им деградации рецептора ЛНП, а миссенс-мутация D374Y, способствующая димеризации PCSK9, ассоциирована с развитием гиперхолестеринемии [31]. Взаимодействующие с рецептором ЛНП белки PCSK9 плазмы нарушают внутриклеточный сортинг рецептора ЛНП, направляя его на путь деградации в лизосомы. Соответственно, пептидные продукты, которые будут препятствовать димеризации белка PCSK9 или нарушать взаимодействие PCSK9 плазмы крови с рецептором ЛНП, будут способствовать поддержанию более высокого уровня рецептора ЛНП на поверхности клеток [21, 46]. Эти потенциальные новые лекарства нестатинового ряда, которые будут, по-видимому, созданы в ближайшее время, смогут существенно усиливать эффект статинов при лечении гиперхолестеринемий.

**Исследования моногенных заболеваний  
в Отделе молекулярной генетики ГУ НИИЭМ  
РАМН – от исследования до внедрения**

Изучение моногенных заболеваний составляет одно из важнейших направлений научных исследований Отдела молекулярной генетики ГУ НИИЭМ РАМН. Особое внимание в наших работах было уделено изучению социально значимых заболеваний среднего возраста, а именно: атеросклероза на модели СГ [11], семейных форм рака молочной железы [6, 12, 17] и наследуемых форм глаукомы [16]. Подобные исследования являются основой для развертывания ДНК-диагностики моногенных заболеваний в России, поскольку спектры мутаций большинства генов в каждой стране и в каждой этнической группе сильно различаются. Это, в частности, было убедительно продемонстрировано нами на примере СГ: из 34 идентифицированных в Санкт-Петербурге мутаций гена рецептора ЛНП 18, т. е. более половины, являются специфичными исключительно для России [7, 11]. При этом у евреев-ашкенази Санкт-Петербурга мажорной является мутация G197del (с.652-654delGGT), ответственная за 30% (7 из 22) случаев заболевания в этой этнической группе [47]. Среди пациентов-славян мутация G197del не обнаруживается вовсе, а, напротив, присутствует большое разнообразие мутаций (29 видов), ассоциированных с заболеванием [7, 70]. Из числа этих генетических дефектов подавляющее большинство – 24 – были обнаружены в единичных семьях и лишь 5 в двух семьях [7]. Наиболее характерным для России вариантом, вызывающим СГ у пациентов-славян, мы склонны считать

мутацию С139G [7, 13, 26], которая была найдена в Санкт-Петербурге, Москве и Новосибирске, т. е. она может быть широко распространена в нашей стране. Ситуация в случае спектра мутаций в гене *BRCA1*, предрасполагающих к раку молочной железы, оказалась отличной от случая с СГ: из 10 идентифицированных мутаций гена *BRCA1* 7 представляли ранее охарактеризованные варианты в других странах мира и лишь 3 были впервые охарактеризованы нами в России [6, 17]. Более того, наиболее часто обнаруживавшийся в Санкт-Петербурге вариант 5382insC представлял собой мутацию, широко распространенную в мире, и особенно в странах Восточной Европы (Польше и Чехии) [12]. Инсерция 5382insC была найдена нами в 4 из 43 неродственных семей с наследственной отягощенностью по раку молочной железы и дополнительно в 3 из 7 семей с семейными формами рака яичника [6, 17]. При семейных формах глаукомы нам не удалось найти специфичных для России мутаций в гене миоцилина (*MYOC*): все варианты, включая вызывающую заболевание мутацию Q368X, обнаруженную в 3 семьях [16], были известны ранее в других популяциях мира.

Помимо продемонстрированных нами особенностей спектров мутаций разных генов в Санкт-Петербурге, для задач ДНК-диагностики важен вопрос о наличии в популяции мажорных мутаций. Тестирование подобных мутаций может позволить во многих случаях избежать секвенирования у большинства пациентов полной кодирующей области генов. Как уже указывалось выше, в случае рака молочной железы подобной мутацией в Санкт-Петербурге является инсерция 5382insC [13], а в случае семейных форм глаукомы – мутация Q368X в гене миоцилина [16]. При СГ в смешанной по этническому составу популяции Санкт-Петербурга в целом не обнаруживается мажорных мутаций в гене рецептора ЛНП. Поэтому для тестирования СГ актуальна разработка альтернативных подходов, не использующих знания о природе конкретных мутаций.

В качестве одного из подходов к диагностике СГ мы рассматривали возможность оценки содержания мРНК-транскриптов в лейкоцитах больных СГ с помощью ПЦР в режиме реального времени. Однако при разных мутациях в гене рецептора ЛНП уровень мРНК в лейкоцитах больных сильно варьировал, и диагностика заболевания оказалась во многих случаях невозможной. В процессе выполнения грантовой темы РФФИ 05-04-48235 мы разработали в качестве альтернативы традиционным методам поиска мутаций быстрые тесты для определения вышеупомянутых мутаций G197del и С139G в гене рецептора ЛНП с помощью технологии TaqMan (вариация метода ПЦР в режиме реального времени) [14]. Эти методы, по нашему мнению, могут быть внедрены в

практику диагностических лабораторий страны. Для поиска преобладающих делеций и инсерций в гене *BRCA1* мы рекомендовали гетеродуплексный анализ, а для поиска мутаций в гене миоцилина – рестрикционный анализ. С учетом результатов наших исследований сегодня в России предлагаются коммерческие наборы (компания «Медиген», Новосибирск) для проведения тестирования на серию из 9 мажорных мутаций в генах *BRCA1* и *BRCA2*. На основе наших исследований в Республиканском научно-практическом центре радиационной медицины и экологии (г. Гомель, Беларусь) внедрено широкое тестирование женщин на мажорные мутации в гене *BRCA1*. Остается надеяться, что подобные тесты на мутации в гене *BRCA1* станут доступными (и, по возможности, оплачиваемыми за счет страховой медицины) и в России, включая Санкт-Петербург, хотя бы для женщин из семей высокого риска.

Проведенные нами исследования семейных форм глаукомы дают и новые научные данные о течении мультифакториальных заболеваний, к которым, без сомнения, относится большинство случаев глаукомы. Идентифицированные нами в Санкт-Петербурге носители полиморфного маркера M98K (с. 603 T>A) в гене оптиневрина (*OPTN*) существенно чаще встречались среди 170 больных глаукомой (11 человек, или 6,5%), чем среди 100 человек, сформировавших группу контроля (1 носитель, или 1%) [16]. Этот результат воспроизводится во многих исследованиях в мире [50, 67], но в ряде стран (например, в Японии) подобная ассоциация варианта M98K с глаукомой не обнаруживается [33]. В недавних исследованиях индийской популяции также было показано, что вариант M98K не ассоциирован с развитием первичной открытоугольной глаукомы [43].

Наши данные об ассоциации мутации M98K с глаукомой в России показывают важность изучения полиморфных маркеров генов моногенных заболеваний. Например, исследование в каждой конкретной популяции оптиневрина (*OPTN*) при семейных формах глаукомы имеет значение для оценки вовлеченности этого полиморфного маркера в формирование рисков развития мультифакториального заболевания – глаукомы. Полученные в наших многолетних исследованиях результаты и сделанные выводы вполне соответствуют и приведенным выше литературным доводам в пользу важности изучения генных вариантов при моногенных патологиях для понимания природы широко распространенных мультифакториальных заболеваний.

Результаты, описанные в настоящей статье, были получены при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 05-04-48235 и 08-04-00388).

## Литература

1. Баранов В.С., Баранова Е.В., Иващенко Т.Э., Асеев М.В. Геном человека и гены «предрасположенности». (Введение в предиктивную медицину). СПб.: Интермедика, 2000.
2. Геномика – медицине / Под ред. В.И. Иванова и Л.Л. Киселева. М.: ИКЦ «Академкнига», 2005. 392 с.
3. Горбунова В.Н., Баранов В.С. Введение в молекулярную диагностику и генотерапию наследственных заболеваний. СПб.: Специальная литература, 1997.
4. Горбунова В.Н., Савельева-Васильева Е.А., Красильников В.В. Молекулярная неврология. Часть I. Заболевания нервно-мышечной системы. СПб.: Интермедика, 2000.
5. Григоренко А.П., Розаев Е.И. Молекулярные основы болезни Альцгеймера // Мол. биол. 2007. Т. 41. № 2. С. 331–345.
6. Грудина Н.А., Голубков В.И., Тихомирова О.С. и др. Преобладание широко распространенных мутаций в гене *BRCA1* у больных семейными формами рака молочной железы Санкт-Петербурга // Генетика. 2005. Т. 41. № 3. С. 405–410.
7. Захарова Ф.М., Татищева Ю.А., Голубков В.И. и др. Семейная гиперхолестеринемия в Санкт-Петербурге: разнообразие мутаций свидетельствует об отсутствии выраженного эффекта основателя // Генетика. 2007. Т. 43. № 9. С. 1255–1262.
8. Иллариошкин С.Н., Иванова-Смоленская И.А., Маркова Е.Д. ДНК-диагностика и медико-генетическое консультирование в неврологии. М.: Медицинское информационное агентство, 2002.
9. Климов А.Н., Никульчева Н.Г. Липиды, липопротеиды и атеросклероз. СПб.: Питер Пресс, 1995.
10. Липовецкий Б.М. Клиническая липидология. СПб.: Наука, 2000.
11. Мандельштам М.Ю. Что дало изучение семейной гиперхолестеринемии для понимания генетики дислипидемий? // Мед. генетика. 2003. Т. 2. № 12. С. 509–519.
12. Мандельштам М.Ю., Голубков В.И., Ламбер Е.П. и др. Поиск часто встречающихся мутаций в генах предрасположенности к раку молочной железы // Генетика. 2001. Т. 37. № 12. С. 1681–1686.
13. Мандельштам М.Ю., Масленников А.Б. Изучение молекулярной генетики семейной гиперхолестеринемии в России // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике / Под ред. А.Б. Масленникова. Новосибирск: Издательский дом «Манускрипт», 2001. С. 58–64.
14. Мандельштам М.Ю., Пчелина С.Н., Татищева Ю.А. и др. Разработка методов генотипирования пациентов с семейной гиперхолестеринемией при помощи ПЦР в режиме реального времени // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Вып. 9 / Под ред. А.Б. Масленникова. Новосибирск: Альфа Виста, 2006. С. 44–48.

15. Пузырев В.П., Степанов В.А. Патологическая анатомия генома человека. Новосибирск: Наука, Сибирское предприятие РАН, 1997.
16. Рахманов В.В., Никитина Н.Я., Захарова Ф.М. и др. Мутации и полиморфизмы генов миоцилина и оптиневрина как генетические факторы риска развития первичной открытоугольной глаукомы // Генетика. 2005. Т. 41. № 11. С. 1567–1574.
17. Тихомирова О.С., Грудина Н.А., Голубков В.И. и др. Новые мутации в гене *BRCA1* у пациентов с раком молочной железы из Санкт-Петербурга // Генетика. 2007. Т. 43. № 9. С. 1263–1268.
18. Тихомирова О.С., Грудина Н.А., Мандельштам М.Ю., Васильев В.Б. Этнические особенности спектров мутаций в гене *BRCA1* и их использование для диагностики предрасположенности к раку молочной железы // Молекулярно-биологические технологии в медицинской практике. Вып. 11 / Под ред. А.Б. Масленникова. Новосибирск: Альфа Виста, 2007. С. 109–116.
19. Antonarakis S.E., Beckmann J.S. Mendelian disorders deserve more attention // Nat. Rev. Genet. 2006. Vol. 7. P. 277–282.
20. Antoniou A.C., Gayther S.A., Stratton J.F. et al. Risk models for familial ovarian and breast cancer // Genet. Epidemiol. 2000. Vol. 18. № 2. P. 173–190.
21. Blacklow S.C. Versatility in ligand recognition by LDL receptor family proteins: advances and frontiers // Curr. Opin. Struct. Biol. 2007. Vol. 17. № 4. P. 419–426.
22. Bodzioch M., Orso E., Klucken J. et al. The gene encoding ATP-binding cassette transporter 1 is mutated in Tangier disease // Nat. Genet. 2004. Vol. 22. P. 347–351.
23. Brinkman R.R., Dubé M.-P., Rouleau G.A. et al. Human monogenic disorders – a source of novel drug targets // Nat. Rev. Genet. 2006. Vol. 7. P. 249–260.
24. Brooks-Wilson A., Marcil M., Clee S.M. et al. Mutations in *ABCI* in Tangier disease and familial high-density lipoprotein deficiency // Nat. Genet. 1999. Vol. 22. P. 336–345.
25. Careskey H.E., Davis R.A., Alborn W.E. et al. Atorvastatin increases human serum levels of proprotein convertase subtilisin/kexin type 9 // J. Lipid Res. 2008. Vol. 49. № 2. P. 394–398.
26. Chakir Kh., Skobeleva N.A., Shevtsov S.P. et al. Two novel Slavic point mutations in the low-density lipoprotein receptor gene in patients with familial hypercholesterolemia from St. Petersburg, Russia // Mol. Genet. Metabol. 1998. Vol. 63. P. 31–34.
27. Cohen J.C., Kiss R.S., Pertsemlidis A. et al. Multiple rare alleles contribute to low plasma levels of LDL cholesterol // Science. 2004. Vol. 305. P. 869–872.
28. Cohen M.M., Jr. Persistent hyperinsulinemic hypoglycemia of infancy // Am. J. Med. Genet. 2003. Vol. A122. P. 351–353.
29. De Braekeleer M. Hereditary disorders in Saguenay-Lac-St-Jean (Quebec, Canada) // Hum. Hered. 1991. Vol. 41. P. 141–146.
30. Endo A., Kuroda M., Tanzawa K. Competitive inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase by ML-236A and ML-236B fungal metabolites, having hypocholesterolemic activity // FEBS Lett. 1976. Vol. 72. № 2. P. 323–326.
31. Fan D., Yancey P.G., Qiu S. et al. Self-association of human PCSK9 correlates with its LDLR-degrading activity // Biochemistry. 2008. Jan 16 [Epubahead of print].
32. Finishing the euchromatic sequence of the human genome // Nature. 2004. Vol. 431. P. 931–945.
33. Funayama T., Ishikawa K., Ohtake Y. et al. Variants in optineurin gene and their association with tumor necrosis factor- $\alpha$  polymorphisms in Japanese patients with glaucoma // Invest. Ophthalmol. Vis. Sci. 2004. Vol. 45. P. 4359–4367.
34. Glaspy J. The impact of epoetin alfa on quality of life during cancer chemotherapy: a fresh look at an old problem // Semin. Hematol. 1997. Vol. 34. P. 20–26.
35. Goldstein J.L., Helgeson J.A., Brown M.S. Inhibition of cholesterol synthesis with compactin renders growth of cultured cells dependent on the low density lipoprotein receptor // J. Biol. Chem. 1979. Vol. 254. № 12. P. 5403–5409.
36. Goldstein J.L., Hobbs H.H., Brown M.S. Familial hypercholesterolaemia // The metabolic and molecular basis of inherited disease. Vol. III / Eds. C.R. Scriver, A.L. Beaudet, W.S. Sly, D. Valle. N.Y.: McGraw Hill, 2001. P. 2863–2914.
37. Hamosh A., Scott A., Amberger J.S. et al. Online Mendelian inheritance in Man (OMIM), a knowledgebase of human genes and genetic disorders // Nucl. Acids Res. 2005. Vol. 33. P. D514–D517.
38. Hobbs H.H., Russell D.W., Brown M.S., Goldstein J.L. The LDL receptor locus in familial hypercholesterolemia: mutational analysis of a membrane protein // Annu. Rev. Genet. 1990. Vol. 24. P. 133–170.
39. Hopkins P.N., Stephenson S., Wu L.L. et al. Evaluation of coronary risk factors in patients with familial hypercholesterolemia // Am. J. Cardiol. 2001. Vol. 87. P. 547–553.
40. Horton J.D., Goldstein J.L., Brown M.S. SREBPs: activators of the complete program of cholesterol and fatty acid synthesis in the liver // J. Clin. Invest. 2002. Vol. 109. № 9. P. 1125–1131.
41. IMS Health. 2004 year-end U.S. prescription and sales information and commentary. IMS Press Room web site [online], [http://www.imshealth.com/ims/portal/front/articleC/0,2777,6652\\_3665\\_69890098,00.html](http://www.imshealth.com/ims/portal/front/articleC/0,2777,6652_3665_69890098,00.html) (2005).
42. Jansen A.C.M., van Wissen S., Defesche J.C., Kastelein J.J.P. Phenotypic variability in familial hypercholesterolemia: an update // Curr. Opin. Lipidol. 2002. Vol. 13. P. 165–171.
43. Kumar A., Basavaraj M.G., Gupta S.K. et al. Role of *CYP1B1*, *MYOC*, *OPTN* and *OPTC* genes in adult-on-

- set primary open-angle glaucoma: predominance of *CYP11B1* mutations in Indian patients // *Mol. Vision*. 2007. Vol. 13. P. 667–676.
44. Lambert G. Unravelling the functional significance of PCSK9 // *Curr. Opin. Lipidol.* 2007. Vol. 18. № 3. P. 304–309.
  45. Lehrman M.A., Schneider W.J., Brown M.S. et al. The Lebanese allele at the LDL receptor locus: Non-sense mutation produces truncated receptor that is retained in endoplasmic reticulum // *J. Biol. Chem.* 1987. Vol. 262. P. 401–410.
  46. Lilly S.M., Rader D.J. New targets and emerging therapies for reducing LDL cholesterol // *Curr. Opin. Lipidol.* 2007. Vol. 18. № 6. P. 650–655.
  47. Mandelshtam M.Ju., Chakir Kh., Shevtsov S.P. et al. Prevalence of Lithuanian mutation among St. Petersburg Jews with familial hypercholesterolemia // *Hum. Mutat.* 1998. Vol. 12. № 4. P. 255–258.
  48. Meijers-Heijboer H., van den Ouweland A., Klijn J. et al. Low-penetrance susceptibility to breast cancer due to CHEK2(\*)1100delC in noncarriers of BRCA1 or BRCA2 mutations // *Nat. Genet.* 2002. Vol. 31. № 1. P. 55–59.
  49. Meiner V., Landsberger D., Berkman N. et al. A common Lithuanian mutation causing familial hypercholesterolemia in Ashkenazi Jews // *Am. J. Hum. Genet.* 1991. Vol. 49. P. 443–449.
  50. Melki R., Belmouden A., Akhayat O. et al. The M98K variant of the OPTINEURIN (OPTN) gene modifies initial intraocular pressure in patients with primary open angle glaucoma // *J. Med. Genet.* 2003. Vol. 40. P. 842–844.
  51. Mohini R. Clinical efficacy of recombinant human erythropoietin in hemodialysis patients // *Semin. Nephrol.* 1989. Vol. 9. P. 16–21.
  52. O'Connor T.P., Crystal R.G. Genetic medicines: treatment strategies for hereditary disorders // *Nat. Rev. Genet.* 2006. Vol. 7. P. 261–276.
  53. Oddoux C., Struewing J.P., Clayton M.C. et al. The carrier frequency of the BRCA2 6174delT mutation among Ashkenazi Jewish individuals is approximately 1% // *Nat. Genet.* 1996. Vol. 14. № 2. P. 188–190.
  54. Pajukanta P., Lilja H.E., Sinsheimer J.S. et al. Familial combined hyperlipidemia is associated with upstream transcription factor 1 (USF1) // *Nat. Genet.* 2004. Vol. 36. P. 371–376.
  55. Passarge E. *Color Atlas of Genetics*. Stuttgart, New York: George Thieme Verlag, 1995.
  56. Peltonen L., Perola M., Naukkarinen J., Palotie A. Lessons from studying monogenic disease for common disease // *Hum. Mol. Genet.* 2006. Vol. 15 (Rev. Issue 1). P. R67–R74.
  57. Pimstone S.N., Sun X.-M., de Souich Ch. et al. Phenotypic variation in heterozygous familial hypercholesterolemia. A comparison of Chinese patients with the same or similar mutations in the LDL receptor gene in China or Canada // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1998. Vol. 18. P. 309–315.
  58. Roa B.B., Boyd A.A., Volcik K., Richards C.S. Ashkenazi Jewish population frequencies for common mutations in BRCA1 and BRCA2 // *Nat. Genet.* 1996. Vol. 14. № 2. P. 185–187.
  59. Seftel H.C., Baker S.G., Jenkins T., Mendelsohn D. Prevalence of familial hypercholesterolemia in Johannesburg Jews // *Am. J. Med. Genet.* 1989. Vol. 34. P. 545–547.
  60. Slack J. Inheritance of familial hypercholesterolemia // *Atheroscler. Rev.* 1979. Vol. 5. P. 35–66.
  61. Slimane M.N., Lestavel S., Sun X. et al. Fh-Souassi: a founder frameshift mutation in exon 10 of the LDL-receptor gene, associated with a mild phenotype in Tunisian families // *Atherosclerosis*. 2001. Vol. 154. P. 557–565.
  62. Stein E.A. The lipid disorders centre at the Transvaal Memorial Hospital for Children. A review of the first 30 months // *S. Afr. Med. J.* 1977. Vol. 52. № 14. P. 573–579.
  63. Steyn K., Weight M.L., Dando B.R. et al. The use of low density lipoprotein receptor activity of lymphocytes to determine the prevalence of familial hypercholesterolemia in a rural South African community // *J. Med. Genet.* 1989. Vol. 26. P. 32–36.
  64. Storey R.F. The P2Y12 receptor as a therapeutic target in cardiovascular disease // *Platelets*. 2001. Vol. 12. P. 197–209.
  65. Struewing J.P., Abeliovich D., Peretz T. et al. The carrier frequency of the BRCA1 185delAG mutation is approximately 1 percent in Ashkenazi Jewish individuals // *Nat. Genet.* 1995. Vol. 11. № 2. P. 198–200.
  66. Vogel F. Relevant deviations heterozygotes of autosomal-recessive diseases // *Clin. Genet.* 1984. Vol. 25. P. 381–345.
  67. Willoughby C.E., Chan L.L.Y., Herd S. et al. Defining the pathogenicity of optineurin in juvenile open-angle glaucoma // *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.* 2004. Vol. 45. P. 3122–3130.
  68. Wittekoek M.E., Moll E., Pimstone S.N. et al. A frequent mutation in the lipoprotein lipase gene (D9N) deteriorates the biochemical and clinical phenotype of familial hypercholesterolemia // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1999. Vol. 19. P. 2708–2713.
  69. Wittekoek M.E., Pimstone S.N., Reymer P.W. et al. A common mutation in the lipoprotein lipase gene (N291S) alters the lipoprotein phenotype and risk for cardiovascular disease in patients with familial hypercholesterolemia // *Circulation*. 1998. Vol. 97. P. 729–735.
  70. Zakharova F.M., Damgaard D., Mandelshtam M.Y. et al. Familial hypercholesterolemia in St. Petersburg: the known and novel mutations found in the low density lipoprotein receptor gene in Russia // *BMC Med. Genet.* 2005. Vol. 6. № 1. P. 6 (<http://www.biomedcentral.com/1471-2350-6-6>) (всего 10 с.).

## ДИНАМИКА ИЗМЕНЕНИЙ ВЕЛИЧИН ДАВЛЕНИЯ И КРОВОТОКА В ЛЕГОЧНОЙ АРТЕРИИ ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ПРЕССОРНЫХ ВАЗОАКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

*Академик РАМН ТКАЧЕНКО Б. И., ЕВЛАХОВ В. И., ПОЯСОВ И. З.*

*ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,  
Санкт-Петербург*

**Ткаченко Б. И., Евлахов В. И., Поясов И. З.** Динамика изменений величин давления и кровотока в легочной артерии при применении прессорных вазоактивных веществ // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 14–20. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

В острых опытах на кошках показано, что при внутривенном введении катехоламинов легочный кровоток всегда возрастает, а давление в легочной артерии может повышаться (в большинстве опытов) или снижаться. В ответ на применение адреналина величина изменения давления в легочной артерии у животных различна при одинаковом приросте легочного кровотока, тогда как в условиях применения норадреналина давление и кровоток в легочной артерии увеличиваются в разной степени. При внутривенном введении ангиотензина изменения легочного кровотока неоднозначны (увеличение или уменьшение), при этом давление в легочной артерии, независимо от направленности изменений легочного кровотока, возрастает или снижается. В ответ на применение указанных прессорных препаратов сдвиги давления в легочной артерии достигают максимальных значений и заканчиваются, как правило, раньше, чем изменения легочного кровотока. Следовательно, при применении прессорных вазоактивных веществ между направленностью изменений, величинами сдвигов давления и кровотока в легочной артерии, временем достижения их максимальных значений, а также длительностью проявления изменений этих показателей отсутствует линейная зависимость.

*Ключевые слова:* легочная гемодинамика, давление и кровоток в легочной артерии, корреляционный анализ, адреналин, норадреналин, ангиотензин.

**Tkachenko B. I., Evlakhov V. I., Poyassov I. Z.** Dynamic changes of pulmonary pressure and flow following pressor vasoactive drugs intravenous injection // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 14–20. Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg.

In acute experiments on the mongrel anesthetized cats it was shown that following intravenous injection of catecholamines pulmonary flow always increases, meanwhile pulmonary pressure (in the most of the experiments) can be increased or decreased. After epinephrine injection the values of pulmonary pressure were varied comparing with the pulmonary flow equal increases. Norepinephrine caused the different changes both of the pulmonary pressure and flow. Angiotensin intravenous injection evoked various (elevating or lowering) changes of the pulmonary flow. In these conditions the pulmonary pressure can be increased or decreased independently from the direction of the pulmonary flow shifts. Following intravenous injection of these pressor vasoactive drugs pulmonary pressure reaches its maximal levels and returns to the initial values earlier, than pulmonary flow does. Thus we concluded that in the case of intravenous injection of pressor vasoactive drugs linear correlation is not revealed between the direction of the shifts of the pulmonary pressure and flow, their values and the time of the maximal level and duration of their changes.

*Key words:* pulmonary hemodynamics, pulmonary pressure, pulmonary flow, correlation analysis, epinephrine, norepinephrine, angiotensin.

В литературе практически не освещен вопрос о характере соотношений давления и кровотока в легочной артерии при повышении артериального давления в ответ на применение прессорных вазоактивных веществ. Имеющиеся же данные о направленности и величинах сдвигов показателей гемодинамики легких в ответ на применение катехоламинов [2, 8, 12, 18] и ангиотензина [9, 14, 16] противоречивы. Так, в работе [2] приводятся сведения о том, что адреналин может вызывать увеличение или уменьшение давления в легочной артерии, тогда как применение норадреналина приводит к его повышению [13]. Легочный кровоток при внутривенном введении катехоламинов, по данным ряда авторов [1, 4, 8, 12, 21],

возрастает, в то время как в условиях применения ангиотензина он не изменяется [9, 16]. Однако в клинической практике у человека измерение кровотока в легочной артерии производится, как правило, дискретно [21], что не позволяет судить о характере его взаимосвязи с давлением в легочной артерии в случае динамических сдвигов этих показателей при действии на систему кровообращения прессорных вазоактивных веществ. В клинической литературе представлены лишь единичные сведения по анализу соотношений давления и кровотока в легочной артерии [17, 20]. В экспериментальных же исследованиях на животных, несмотря на представленные данные о динамике сдвигов давления и кровотока в легоч-

ной артерии, в частности, при применении катехоламинов [12], анализ характера взаимосвязи между этими показателями отсутствует. В то же время применяемая в клинике неинвазивная оценка величины давления в легочной артерии по анализу легочного кровотока и показателей внутрисердечной гемодинамики правого сердца основана на допущении линейной зависимости между этими показателями [6, 10, 11, 19]. Однако такие исследования проводятся у человека, как правило, только в условиях стабильных значений давления и кровотока в легочной артерии, что не позволяет судить о том, каков будет характер их соотношений в случае динамических изменений при прессорных сдвигах артериального давления.

Целью работы было проведение исследования динамики, направленности и величин изменений давления и кровотока в легочной артерии, а также характера взаимосвязи между ними при применении прессорных вазоактивных веществ у кошек.

#### МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено на 23 кошках массой 3,5–5,0 кг под нембуталовым наркозом (35–40 мг/кг, внутримышечно) при вскрытой грудной клетке и искусственной вентиляции легких, осуществляемой аппаратом «Фаза-9». Измерение газового состава артериальной и венозной крови у животных осуществляли при помощи газоанализатора ABL-3 (Radiometer, Дания). Артериальное давление у животных регистрировали в левой бедренной артерии тензодатчиком ПДП-400. Кровоток в легочной артерии у животных измеряли манжеточным датчиком ультразвукового расходомера T-106 (Transonic, США). Давление в легочной артерии измеряли тензодатчиком ПДП-400 при помощи тонкого эластичного катетера диаметром 2 мм, проведенного в легочную артерию через ушко правого предсердия и полость правого желудочка, минуя последовательно трикуспидальный и полулунный клапаны. Этот метод близок к таковому, применяемому при катетеризации легочной артерии в клинике у человека [5]. Среднюю величину давления в легочной артерии рассчитывали при помощи компьютера по регистрируемым максимальным и минимальным значениям давлений. Частоту сердечных сокращений у животных измеряли тахометром по интервалу R-R электрокардиограммы, регистрируемой во 2-м стандартном отведении. Вазоактивные вещества катехоламины (адреналин и норадреналин) и ангиотензин в дозах соответственно 2,5 мкг/кг и 5,0 мкг/кг вводили болюсно в левую бедренную вену последовательно. Вначале применяли адреналин, а затем, через 10 мин после возвращения к исходным значениям исследуемых показателей, внутривенно вводили норадреналин и аналогично, с таким же временным интервалом, – ангиотензин. Примененные

дозы вазоактивных веществ вызывали у животных повышение артериального давления примерно на 50–60% относительно исходного уровня.

Величины изменений исследуемых показателей оценивались в течение всего времени развития их сдвигов после применения прессорных веществ. С этой целью были выбраны временные точки 4, 8, 12, 16, 20, 40 и 80 с, в которых во всех опытах производилось измерение значений исследуемых показателей. Это позволило определить время достижения их максимальных значений, а также рассчитать коэффициент линейной корреляции не только между максимальными значениями давления в легочной артерии и соответствующими ему величинами легочного кровотока, но и в динамике.

Измеряемые показатели артериального давления, а также давления и кровотока в легочной артерии регистрировали на чернильно-пишущем приборе «Н-338-8П». Статистическую обработку результатов проводили с использованием t-критерия Стьюдента, оригинальных и стандартных (Axum 5,0, Math Soft Inc.) программ на компьютере IBM PC Pentium IV.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Результаты проведенных экспериментов показали, что в ответ на внутривенное введение адреналина у кошек кровотоки в легочной артерии возрастали во всех 23 опытах. При этом, однако, направленность сдвигов давления в легочной артерии была неоднозначной: оно повышалось в 78% и снижалось в 22% наблюдений. При внутривенном введении норадреналина (21 опыт), так же как и в случае применения адреналина, легочный кровоток во всех случаях увеличивался. Вместе с тем, в отличие от опытов с адреналином, давление в легочной артерии практически всегда, в 90% опытов, повышалось и лишь в 2 (10%) – было отмечено его снижение. Следовательно, в ответ на применение катехоламинов кровотоки в легочной артерии всегда увеличивается, тогда как давление в легочной артерии может как повышаться (что имело место в большинстве наблюдений при применении норадреналина), так и снижаться, что было отмечено при внутривенном введении адреналина.

Поскольку катехоламины при внутривенном введении оказывают влияние как на  $\alpha$ -, так и на  $\beta$ -адренорецепторы сосудов [3], можно было полагать, что снижение давления в легочной артерии в 22% опытов в ответ на применение адреналина и в 10% при применении норадреналина явилось результатом большей активации катехоламинами  $\beta$ -адренорецепторов легочных сосудов. По данным литературы [1–3], адреналин обладает большим сродством, чем норадреналин, к  $\beta$ -адренорецепторам. Однако артериальное давление практически во всех про-

веденных опытах с применением катехоламинов у животных возрастало примерно в равной степени, на 50–60% относительно исходного уровня. Поэтому можно полагать, что отмеченное в 16% наблюдений уменьшение давления в легочной артерии на фоне увеличения в ней кровотока в ответ на применение катехоламинов не было обусловлено преимущественным их действием на  $\beta$ -адренорецепторы сосудов, так как в последнем случае артериальное давление должно было бы снижаться.

В этой связи представляло интерес выяснить направленность сдвигов давления и кровотока в легочной артерии при применении прессорного вазоактивного вещества с иными, по сравнению с катехоламинами, механизмами действия на сердечно-сосудистую систему. В качестве такого прессорного вещества был выбран ангиотензин, который, по данным литературы [3], вызывает констрикцию преимущественно артериальных сосудов спланхнической области и сосудов легких [7, 9, 14].

В проведенных нами исследованиях (21 опыт) при применении ангиотензина у кошек в 48% наблюдений давление и кровоток в легочной артерии одновременно возрастали, а в 19% опытов они уменьшались, т.е. в 67% случаев были отмечены однонаправленные между собой, хотя и различные по знаку сдвиги этих показателей. Однако в 33% опытов у животных в ответ на внутривенное введение ангиотензина имели место разнонаправленные сдвиги давления и кровотока в легочной артерии: в 14% наблюдений давление в легочной артерии снижалось, а кровоток – возрастал, в 19% – наоборот, давление – повышалось, а кровоток в легочной артерии уменьшался. Следовательно, как и в ответ на применение катехоламинов, при внутривенном введении ангиотензина у животных в 33% опытов были отмечены разнонаправленные сдвиги давления и кровотока в легочной артерии. Однако, в отличие от применения катехоламинов, в ответ на внутривенное введение ангиотензина кровотоки в легочной артерии мог как увеличиваться, так и уменьшаться.

Таким образом, при применении прессорных вазоактивных веществ в большинстве опытов изменения давления и кровотока в легочной артерии были однонаправлены. Вместе с тем при указанных воздействиях на систему кровообращения у животных имели место и разнонаправленные между собой сдвиги этих показателей. При внутривенном введении катехоламинов, на фоне отмеченного во всех опытах возрастания легочного кровотока, давление в легочной артерии могло повышаться (в большинстве опытов) или снижаться. В случае же применения ангиотензина кровотоки в легочной артерии мог возрастать или уменьшаться. При этом, вне зависимости от знака сдвигов легочного кровотока, давление в легочной артерии могло увеличиваться или снижаться. Полученные данные свидетельствуют о том, что при применении прессорных вазоактивных веществ у животных изменения давления и кровотока в легочной артерии не однозначны.

Результаты проведенных экспериментов показали также, что время достижения максимальных значений давления и кровотока в легочной артерии при применении прессорных вазоактивных веществ, как правило, не совпадает (табл. 1). Так, в условиях применения катехоламинов, независимо от знака изменений давления в легочной артерии, его максимальные изменения имели место к 13–16 с, тогда как максимальные сдвиги легочного кровотока были отмечены лишь к 20–22 с, т.е. позже по сравнению с временем достижения максимальных значений давления в легочной артерии. При применении ангиотензина максимальные сдвиги давления в легочной артерии также имели место к 12–16 с, а максимальные сдвиги легочного кровотока – к 22–36 с, т.е. позже по сравнению с временем достижения максимальных значений давления в легочной артерии. Как следует из данных табл. 1, временной сдвиг между максимальными значениями давления и кровотока в легочной артерии мог составлять от 4 до 12 с. Лишь в опытах, в которых давление и кровоток в легочной артерии у кошек в ответ на внутривенное введение ангиотензина возрастали, максимальные

Таблица 1

Время достижения максимальных значений и длительность изменений давления (ДЛА) и кровотока (КрЛА) в легочной артерии и коэффициент корреляции между ними при применении прессорных вазоактивных веществ (в секундах,  $M \pm m$ )

Препарат	Знак ДЛА	Знак КрЛА	Время максимума ДЛА	Время максимума КрЛА	Временной сдвиг ДЛА–КрЛА	Длительность изменений ДЛА	Длительность изменений КрЛА	Коэффициент корреляции ДЛА–КрЛА
Адреналин	+	+	13±2	21±3	8±2	120±15	160±12	0,22
	–	–	16±3	20±3	4±1	85±5	150±10	
Норадреналин	+	+	16±1	21±2	5±2	140±12	180±15	0,89
Ангиотензин	+	+	41±4	40±3	1±1	230±10	290±25	0,16
	–	+	20±2	36±2	12±3	200±15	120±12	
	+	–	15±3	22±3	7±2	80±20	100±20	
	–	–	12±1	16±2	4±1	80±12	160±18	



величины этих показателей были отмечены примерно в одно и то же время – к 40 с, т.е. временной сдвиг практически отсутствовал (табл.1).

Таким образом, в большинстве наблюдений у животных, как при однонаправленных, так и разнонаправленных между собой сдвигах легочного давления и кровотока в ответ на применение прессорных вазоактивных веществ, максимальные изменения давления в легочной артерии имели место раньше, чем легочного кровотока, т.е. между этими показателями был выявлен временной (фазовый) сдвиг.

Поскольку время достижения максимальных значений давления и кровотока в легочной артерии при внутривенном введении прессорных вазоактивных веществ было различным, представляло интерес выяснить длительность изменений этих показателей, т.е. время их возвращения к исходному уровню.

Как следует из данных табл. 1, в зависимости от примененного препарата временной интервал, в течение которого давление в легочной артерии возвращалось к исходному уровню, составлял примерно от 80 до 200 с после указанных воздействий на систему кровообращения, тогда как легочный кровоток возвращался к исходному значению позже – лишь к 100–300 с (табл.1). Так, при применении адреналина в случае возрастания давления в легочной артерии оно возвращалось к исходному уровню к  $120 \pm 15$  с, тогда как легочный кровоток – только к  $160 \pm 12$  с. При уменьшении давления в легочной артерии в ответ на применение адреналина время различий возвращения этих показателей к исходным значениям было ещё более выраженным и составляло соответственно  $85 \pm 5$  с и  $150 \pm 10$  с (табл.1). В случае внутривенного введения норадреналина давление в легочной артерии возвращалось к исходному значению также раньше, чем легочный кровоток (соответственно  $140 \pm 12$  с и  $180 \pm 15$  с). Аналогичная закономерность характера временных сдвигов этих показателей имела место и в опытах с применением ангиотензина: давление в легочной артерии возвращалось к исходному значению раньше, чем кровоток. Если последний возрастал, время восстановления исследуемых показателей к исходному уровню было более длительным, чем при применении катехоламинов. Так, при увеличении давления и кровотока в легочной артерии после применения ангиотензина они возвращались к исходному уровню соответственно к  $230 \pm 10$  с и  $290 \pm 25$  с. В случае же снижения давления в легочной артерии на фоне возрастания легочного кровотока время восстановления этих показателей при внутривенном введении ангиотензина составляло соответственно  $200 \pm 15$  с и  $120 \pm 12$  с (табл.1). При уменьшении легочного кровотока в ответ на применение ангиотензина различия во времени возвращения к исходным значениям давления и кровотока в

легочной артерии были практически такими же, как и в случае применения катехоламинов: независимо от знака изменений давления в легочной артерии оно возвращалось к исходному уровню к 80 с, тогда как кровотока – только к 100–160 с (табл.1).

Таким образом, в большинстве опытов с применением катехоламинов и ангиотензина у животных давление в легочной артерии возвращалось к исходному уровню раньше, чем кровоток. Следовательно, между этими показателями было отмечено не только различное время достижения максимальных значений, но и динамический временной сдвиг (неодинаковая скорость возвращения к исходным значениям).

С целью анализа величин сдвигов давления и кровотока в легочной артерии, измеряемых в разных физических единицах (мм рт. ст. и мл/мин, соответственно), нами было проведено сравнение их изменений в процентах по отношению к исходному уровню после применения вазоактивных веществ. Кроме того, поскольку в этих условиях время достижения максимальных значений исследуемых показателей было различным, их величины оценивали во время максимальных изменений давления в легочной артерии.

Оказалось, что при внутривенном введении прессорных вазоактивных веществ величины давления и кровотока в легочной артерии оказались неодинаковыми. Так, при применении адреналина у 18 кошек давление в легочной артерии повышалось на  $14 \pm 4\%$ , а кровотока – на  $32 \pm 6\%$ . У 5 животных давление в легочной артерии, напротив, снижалось на  $-10 \pm 4\%$ , тогда как легочный кровоток возрастал на  $33 \pm 4\%$ , т.е. практически на такую же величину, как и у животных с отмеченным повышением давления в легочной артерии. Следует также подчеркнуть, что у кошек, при повышении кровотока в легочной артерии примерно в равной мере, величины прироста давления в легочной артерии изменялись различно (от 6 до 35%). Так, у 13 кошек давление в легочной артерии возрастало на  $10 \pm 4\%$ , а кровотока – на  $33 \pm 4\%$  (группа А на рис. 1). У 5 кошек прирост давления в легочной артерии составлял  $25 \pm 8\%$ , т.е. был более выраженным, чем у животных в группе А, в то время как кровоток в легочной артерии увеличивался на  $30 \pm 6\%$  (группа Б на рис.1). У 5 животных со снижением давления в легочной артерии на  $-10 \pm 4\%$  легочный кровоток возрастал на  $33 \pm 4\%$  (группа В на рис. 1). Следовательно, при применении адреналина, несмотря на одинаковый по величине прирост легочного кровотока, давление в легочной артерии могло возрастать в разной степени, равно как и снижаться.

В условиях применения норадреналина у животных давление и кровотока в легочной артерии в большинстве опытов (19 из 21) возрастали, однако

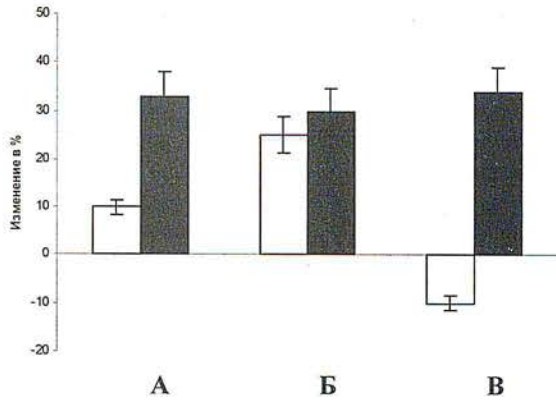


Рис. 1. Направленность и величины изменений давления и кровотока в легочной артерии у кошек при применении адреналина в дозе 2,5 мкг/кг.

Обозначения: светлые столбики – давление в легочной артерии, темные – кровоток в легочной артерии. Вертикальные линии – средняя ошибка средней. Шкала – изменения показателей в процентах относительно исходного уровня.

А – у животных с малой величиной прироста давления, Б – с большей величиной прироста давления в легочной артерии, В – при его снижении

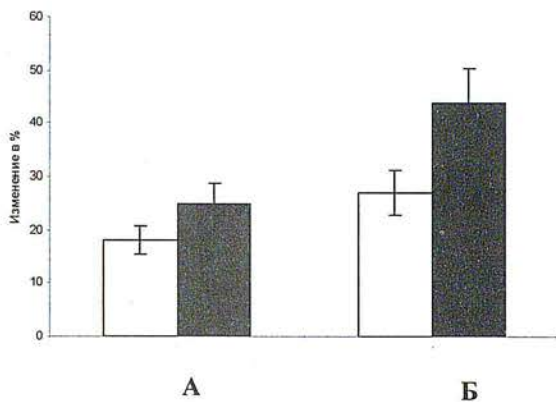


Рис. 2. Характер и величина изменения давления и кровотока в легочной артерии у животных при применении норадреналина в дозе 2,5 мкг/кг при разной степени возрастания этих показателей:

А – при малом приросте, Б – при большем приросте.

Остальные обозначения те же, что на рис. 1

величины их изменений были различными, несмотря на одинаковые прессорные сдвиги артериального давления (50–60%). Так, у 14 животных давление в легочной артерии повышалось на  $18 \pm 4\%$ , а легочный кровоток – на  $25 \pm 5\%$  относительно исходного уровня (группа А на рис. 2). Однако у 5 кошек приросты этих показателей составили соответственно  $27 \pm 6\%$  и  $44 \pm 18\%$  (группа Б на рис. 2), т.е. давление и кровоток в легочной артерии возрастали в большей степени, чем у животных в группе А. Следовательно, в опытах с применением норадреналина у кошек отмечены разные относительные величины прироста этих показателей по сравнению с исходным уровнем даже при их однонаправленных сдвигах.

Однако наиболее вариabельными оказались величины сдвигов давления и кровотока в легочной артерии при внутривенном введении ангиотензина, который, как и катехоламины, вызывал повышение артериального давления примерно на 50–60% в большинстве наблюдений. В ответ на применение ангиотензина было отмечено не только увеличение, но и уменьшение легочного кровотока, а также разнонаправленные сдвиги давления в легочной артерии.

Так, у 10 кошек давление в легочной артерии повышалось на  $18 \pm 3\%$  при возрастании легочного кровотока на  $27 \pm 5\%$ , (группа А на рис.3). У 3 кошек давление в легочной артерии, напротив, уменьшалось на  $-16 \pm 6\%$ , тогда как легочный кровоток увеличивался на  $15 \pm 6\%$  (группа Б на рис. 3), т.е. в меньшей степени, чем у животных в группе А. Следовательно, у кошек с отмеченным повышением легочного кровотока при внутривенном введении ангиотензина величины его прироста были различными, а сдвиги давления в легочной артерии – разнонаправленными. У кошек со снижением легочного кровотока в ответ на применение ангиотензина сдвиги давления в легочной артерии также были неоднозначными. Так, у 4 животных давление в легочной артерии возрастало на  $11 \pm 6\%$ , а кровоток уменьшался на  $-17 \pm 6\%$  (группа В на рис. 3), а у 4 кошек давление в легочной артерии, напротив, снижалось на  $-11 \pm 5\%$ , при этом легочный кровоток у них уменьшался на  $-14 \pm 3\%$  (группа Г на рис. 3), т.е. практически на такую же величину, как у животных группы В (рис. 3).

Таким образом, в условиях применения ангиотензина величины сдвигов давления и кровотока в легочной артерии были различными, как и в ответ на внутривенное введение катехоламинов. Важно также отметить, что в случае применения ангиотензина давление в легочной артерии могло как возрастать, так и уменьшаться при снижении легочного кровотока практически на одинаковую величину. Эти данные

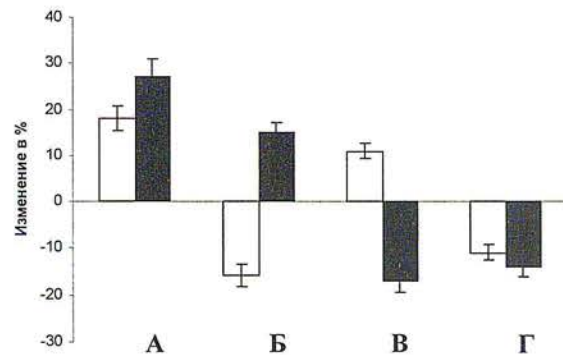


Рис. 3. Направленность и величина изменения давления и кровотока в легочной артерии у кошек при применении ангиотензина в дозе 5,0 мкг/кг:

А, Б – при увеличении легочного кровотока, В, Г – при снижении легочного кровотока.

Остальные обозначения те же, что на рис. 1

свидетельствуют об участии различных механизмов в изменениях легочного давления и кровотока при применении прессорных вазоактивных веществ.

Поскольку в ответ на применение катехоламинов и ангиотензина у животных были отмечены разная направленность и величины сдвигов давления и кровотока в легочной артерии, представляло также интерес провести корреляционный анализ характера взаимосвязи между этими показателями.

Оказалось, что коэффициент корреляции между величинами изменений этих показателей составил при применении адреналина во всех опытах 0,22, норадреналина – 0,89, ангиотензина – 0,16 (табл. 1). Следовательно, при рассмотрении результатов экспериментов у животных без их разделения на группы по знаку давления в легочной артерии в ответ на применение адреналина и ангиотензина между давлением и кровотоком в легочной артерии отмечена слабая корреляционная (линейная) взаимосвязь. Это обусловлено тем, что, как уже отмечалось, при внутривенном введении адреналина при возрастании легочного кровотока имели место разнонаправленные сдвиги давления в легочной артерии, а при применении ангиотензина – не только давления, но и легочного кровотока. Однако в случае одинакового по величине прироста легочного кровотока при применении адреналина давление в легочной артерии могло возрастать в разной степени, равно как и снижаться, а в ответ на применение ангиотензина величины сдвигов давления и кровотока в легочной артерии были различными. В случае же внутривенного введения норадреналина степень линейной взаимосвязи между этими показателями оказалась высокой, поскольку давление и кровоток в легочной артерии увеличивались практически у всех животных, т.е. характер их сдвигов совпадал. Однако и при применении этого препарата у кошек отмечены разные величины прироста исследуемых показателей по отношению к исходному уровню, а также временной сдвиг между ними, т.е. различное время достижения максимальных значений давления и кровотока в легочной артерии (табл. 1).

Таким образом, данные проведенного корреляционного анализа взаимосвязи величин изменений давления и кровотока в легочной артерии в их временной динамике после применения прессорных веществ позволяют заключить, что в большинстве случаев линейная взаимосвязь между величинами сдвигов исследуемых показателей не проявляется, что может иметь значение в клинической практике при расчете и оценке значения легочного сосудистого сопротивления.

Как известно из литературы [1, 4, 5], легочное сосудистое сопротивление рассчитывается по формуле Пуазейля путем деления разности средних величин

давлений в легочной артерии и левого предсердия на величину кровотока в легочной артерии. Последний же в клинической практике оценивается, как правило, дискретно, что не позволяет судить о характере его взаимосвязи с давлением в легочной артерии при временных сдвигах этих показателей. Результаты проведенных нами экспериментов на животных непрерывным измерением давления и кровотока в легочной артерии и анализом их временной динамики в ответ на применение прессорных вазоактивных веществ с различными механизмами действия на сердечно-сосудистую систему показали, что между давлением и кровотоком в легочной артерии линейная взаимосвязь, как правило, отсутствует. Поэтому расчет легочного сосудистого сопротивления по формуле Пуазейля, предполагающий линейный характер взаимосвязи давления и кровотока в легочной артерии, может привести к неправильным выводам относительно действительного изменения сопротивления сосудов легких, например, при применении фармацевтических препаратов или функциональных нагрузках на систему кровообращения, приводящих к динамическим сдвигам этих показателей. В последнем случае такой расчет должен проводиться только в условиях непрерывного измерения давления и кровотока в легочной артерии с оценкой характера взаимосвязи и временного сдвига между ними.

Итак, проведенные исследования позволили установить, что при применении прессорных вазоактивных веществ у животных изменения давления и кровотока в легочной артерии были не однозначными. При внутривенном введении катехоламинов легочный кровоток всегда возрастал, а давление в легочной артерии могло повышаться (в большинстве опытов) или снижаться. В ответ на применение ангиотензина, в отличие от катехоламинов, легочный кровоток мог увеличиваться или уменьшаться, при этом давление в легочной артерии, независимо от направленности изменений легочного кровотока, возрастало или снижалось. Величина изменения давления в легочной артерии в случае применения адреналина у животных была различной при одинаковом приросте легочного кровотока, тогда как в условиях применения норадреналина и давление, и кровоток в легочной артерии увеличивались в разной степени. При применении ангиотензина величины сдвигов давления и кровотока в легочной артерии были различными, как и в ответ на внутривенное введение катехоламинов. В ответ на применение прессорных вазоактивных веществ сдвиги давления в легочной артерии, как правило, достигали максимальных значений и заканчивались раньше, чем изменения легочного кровотока. Корреляционный анализ показал, что при указанных воздействиях на систему

кровообращения в большинстве случаев между характером (знаком), величинами сдвигов давления и кровотока в легочной артерии, временем достижения их максимальных значений, а также длительностью изменений этих показателей линейная зависимость отсутствует. Полученные данные свидетельствуют об участии различных механизмов в изменениях давления и кровотока в легочной артерии при применении прессорных вазоактивных веществ.

### Литература

1. *Грипти М.* Патофизиология легких: Пер. с англ. М.: Бином, 1997. 306 с.
2. *Дворецкий Д.П., Ткаченко Б.И.* Гемодинамика в легких. М.: Медицина, 1987.
3. *Машиковский М.Д.* Лекарственные средства: Пособие по фармакотерапии для врачей. В 2 т. Т. 1. М.: Медицина, 1994. 357 с.
4. Руководство по клинической физиологии дыхания / Под ред. Л.Л. Шика, Н.Н. Канаева. Л.: Медицина, 1980. 376 с.
5. *Ругенюс Ю.Ю.* Микрокатетеризация сердца через левую подключичную вену. Вильнюс: Минтис, 1975. 200 с.
6. *Ayabakan C., Ozkutlu S.* Normal patterns of flow in the superior caval, hepatic and pulmonary veins as measured using Doppler echocardiography during childhood // *Cardiol. Young.* 2003. Vol. 13. № 2. P. 143–151.
7. *Barnes P.J., Liu S.F.* Regulation of pulmonary vascular tone // *Pharmacol. Rev.* 1999. Vol. 47. № 1. P. 87–131.
8. *Cheung P.Y., Barrington K.J.* The effects of dopamine and epinephrine on hemodynamics and oxygen metabolism in hypoxic anesthetized piglets // *Crit. Care.* 2001. Vol. 5. № 3. P. 158–166.
9. *Chimoskey J.E., Blacker P.C., Taquini A.C., Bohr D.F.* Effects of angiotensin on pulmonary and systemic hemodynamics // *Am. J. of Physiol.* 1964. Vol. 202. № 4. P. 690–694.
10. *Friedberg M.K., Feinstein J.A., Rosenthal D.N.* A novel echocardiographic Doppler method for estimation of pulmonary arterial pressures // *J. Am. Soc. Echocardiogr.* 2006. Vol. 19. № 5. P. 559–562.
11. *Hedenstiera G.* Pulmonary perfusion during anesthesia and mechanical ventilation // *Minerva Anesthesiol.* 2005. Vol. 71. № 4. P. 319–324.
12. *Jaillard S., Houfflin-Debarge V., Riou Y.* et al. Effects of catecholamines on the pulmonary circulation in the ovine fetus // *Am. J. Physiol. (Regul. Integr. Comp. Physiol.)* 2001. Vol. 281. № 2. P. R607–R614.
13. *Kaye A.D., Hoover J.M., Baber S.R.* et al. Effects of norepinephrine on alpha-subtype receptors in the feline pulmonary vascular bed // *Crit. Care Med.* 2004. Vol. 32. № 11. P. 2300–2303.
14. *Keith I.M.* The role of the endogenous lung neuropeptides in regulation of the pulmonary circulation // *Physiol. Res.* 2000. Vol. 49. № 3. P. 519–537.
15. *Klöss T., Brückner U.B., Leinberger H.* Pulmonary pressure-flow relation after trauma and hemorrhagic shock // *Res. Exp. Med. (Berl.)* 1986. Vol. 186. № 5. P. 325–336.
16. *Marshall R.P.* The pulmonary renin-angiotensin system // *Curr. Pharm. Des.* 2003. Vol. 9. № 9. P. 715–722.
17. *Onuki T., Itaoka T., Kei J.* et al. Correlation between slopes of pulmonary blood flow-driving pressure curve and routine pulmonary function // *Nihon. Kyobu. Shikkan. Gakkai. Zasshi.* 1990. Vol. 28. № 3. P. 428–433.
18. *Pagnamenta A., Fesler P., Vandinivit A.* et al. Pulmonary vascular effects of dobutamine in experimental pulmonary hypertension // *Crit. Care Med.* 2003. Vol. 31. № 4. P. 1140–1146.
19. *Störk T.V., Müller R.M., Piske G.J.* et al. Noninvasive determination of pulmonary artery wedge pressure: comparative analysis of pulsed Doppler echocardiography and right heart catheterization // *Crit. Care Med.* 1990. Vol. 18. № 10. P. 1158–1163.
20. *Vizza C.D., Letizia C., Badagliacca R.* et al. Plasma adrenomedullin and endothelin-1 concentration during low-dose dobutamine infusion: Relationship between pulmonary uptake and pulmonary vascular pressure/flow characteristics // *Regul. Pept.* 2006. Vol. 136. № 1–3. P. 85–91.
21. *Witman A.C., Flrming J.W.* The effect of epinephrine on the pulmonary circulation in man // *Clin. Invest.* 1951. Vol. 30. № 3. P. 707–717.

## ИНАКТИВАЦИЯ ГЕНА РЕГУЛЯТОРА ТРАНСКРИПЦИИ RGG ИЗМЕНЯЕТ ЭКСПРЕССИЮ СЕКРЕТИРУЕМЫХ ФАКТОРОВ ПАТОГЕННОСТИ И ВИРУЛЕНТНОСТЬ *STREPTOCOCCUS PYOGENES*

РОЖДЕСТВЕНСКАЯ А. С., ДМИТРИЕВ А. В., ГРАБОВСКАЯ К. Б.,  
академик РАМН ТОГОЛЯН А. А.

ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,  
Санкт-Петербург

**Рождественская А. С., Дмитриев А. В., Грабовская К. Б., Тоголян А. А.** Инактивация гена регулятора транскрипции Rgg изменяет экспрессию секретируемых факторов патогенности и вирулентность *Streptococcus pyogenes* // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 21–27. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 12.

В настоящей статье представлены данные о влиянии инактивации гена *rgg*, кодирующего глобальный регулятор транскрипции генома *Streptococcus pyogenes* – белок Rgg, на экспрессию секретируемых факторов патогенности и на проявление вирулентности при моделировании стрептококковой инфекции на лабораторных мышах. Среди четырех проанализированных штаммов, в которых ген *rgg* был инактивирован методом инсерционного мутагенеза, наибольшие изменения в экспрессии факторов патогенности произошли в штамме NZ131, что отразилось на изменении его вирулентности. В то же время в штаммах 5005, SF370 и CS101 инактивация гена *rgg* не приводила к глобальному изменению вирулентных свойств, что свидетельствует о штаммовой специфической активности белка-регулятора Rgg у *S. pyogenes*.

**Ключевые слова:** *Streptococcus pyogenes*, регуляция транскрипции, белок-регулятор Rgg, вирулентность, модельная инфекция, микрочиповый анализ.

**Rozhdestvenskaja A. S., Dmitriyev A. V., Grabovskaja K. B., Totolyan A. A.** Inactivation of the transcription regulator gene Rgg leads to changes in the expression of secreted pathogenicity factors and the virulence of *Streptococcus pyogenes* // Med. Acad. Journ. 2008. T. 8. № 2. P. 21–27. Research Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg.

This study presents the data on the changes in expression of virulence factors and virulent properties due to the inactivation of global regulatory protein gene, *rgg*, in four *Streptococcus pyogenes* strains. The largest changes in expression of pathogenic proteins and virulence properties were observed in the strain NZ131. In other strains (5005, SF370, CS101) the *rgg* gene inactivation did not result in the changes in virulence, which demonstrates the strain-specificity in the activity of Rgg regulatory protein.

**Key words:** *Streptococcus pyogenes*, transcriptional regulation, Rgg regulatory protein, virulence, experimental infection, microarray.

### ВВЕДЕНИЕ

*Streptococcus pyogenes* (стрептококк группы А) является возбудителем многих заболеваний человека, включая скарлатину, поражения сердца, почек и сосудов, кожные заболевания, а также инвазивные, высоколетальные заболевания (некротизирующий фасцит и др.) [9]. В основе такого разнообразия стрептококковых заболеваний лежит способность *S. pyogenes* адаптироваться, размножаться и вызывать патологические процессы в изменяющихся и часто неблагоприятных для него условиях в разных органах и тканях. С этой целью *S. pyogenes* экспрессирует большое количество факторов, чей синтез контролируется на уровне транскрипции генов многими глобальными белками-регуляторами и двухкомпонентными регуляторными системами. К настоящему времени у *S. pyogenes* обнаружено 13 двухкомпонентных регуляторных систем и 40 белков-регуляторов транскрипции, в том числе глобальные регуляторы транскрипции (Mga, Rgg, белки семейства RALP),

совместное функционирование которых приводит к образованию регуляторной «паутины» [17]. Даже небольшие изменения в этой «паутине» существенно влияют на метаболизм микроба и, в частности, на проявление вирулентных свойств при взаимодействии с организмом хозяина.

К настоящему времени у *S. pyogenes* лишь белок-регулятор Mga и двухкомпонентная регуляторная система CovRS/CsrRS охарактеризованы достаточно подробно [13, 16, 22, 28, 35], тогда как другие белки-регуляторы и двухкомпонентные системы остаются практически неизученными.

Белок-регулятор Rgg *S. pyogenes* относится к семейству Rgg-подобных белков, обнаруженных у ряда грамположительных микробов, таких как *S. pyogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mutans*, *Lactococcus lactis* и др. [15, 26, 29, 30, 33, 36]. По данным компьютерного моделирования, все Rgg-подобные белки содержат участок «спираль–поворот–спираль», за счет которого они

взаимодействуют с промоторными областями генов, активируя или репрессируя их транскрипцию. У перечисленных микроорганизмов Rgg-подобные белки непосредственно влияют на транскрипцию генов, смежно расположенных с *rgg*-подобными генами, и, по-видимому, опосредованно влияют на транскрипцию многих других генов, расположенных в различных областях генома [25, 30, 31, 52].

У всех штаммов *S. pyogenes* белок Rgg активирует транскрипцию гена одного из ведущих факторов патогенности – эритрогенного токсина В, SpeB [1, 5, 21]. Однако Rgg-регулоны (наборы генов, регулируемые белком Rgg) варьируют от штамма к штамму. Так, например, в постлогарифмической стадии роста штаммов 5005 (серотип M1), SF370 (M1) и CS101 (M49) Rgg-регулоны представлены 3, 45 и 13 генами соответственно, что было установлено с использованием микрочиповой технологии [1]. В штамме NZ131 (серотип M49) белок Rgg влияет на транскрипцию 567 генов, в том числе многих генов патогенности [5, 6, 7, 10], среди которых можно отметить гены стрептолизина О (*slo*), C5a пептидазы (*scpA*), ДНКазы (*mf-3*), НАД-гликогидролазы (*nga*), уровни транскрипции которых у *rgg* мутантного штамма NZ131 увеличились в 4, 7, 6 и 14 раз, и эритрогенного токсина В (*speB*), уровень транскрипции которого уменьшился в 59 раз по сравнению со штаммом NZ131 дикого типа [10]. У *rgg* мутантов других штаммов (SF370, 5005, CS101) не было отмечено изменений в транскрипции генов патогенности, за исключением *speB*, уровень транскрипции которого уменьшился в 37, 35 и 71 раз соответственно по сравнению со штаммами дикого типа [1].

На фенотипические свойства микробов влияет не только регуляция транскрипции генов, но и многие другие механизмы, включая деградацию транскриптов определенных генов [3], регуляцию на уровне трансляции, а также деградацию, посттрансляционную модификацию белков [27] и др. Исходя из этого, целью настоящей работы является характеристика уровней экспрессии факторов патогенности штаммами *S. pyogenes* дикого типа и их *rgg* мутантами, а также изучение влияния изменений в их экспрессии в результате инактивации гена *rgg* на вирулентность штаммов.

#### МЕТОДИКА

В работе были использованы штаммы *S. pyogenes* дикого типа NZ131 (серотип M49), CS101 (M49), SF370 (M1), 5005 (M1) [11, 14, 23, 34] и их *rgg* мутантные штаммы [1, 5]. Штаммы выращивали в течение ночи при 37°C в бульоне Todd-Hewitt Broth (Difco, США) или на агаризованных средах с добавлением 1,5% бараньих эритроцитов.

Экспрессию SpeB определяли по наличию зоны протеолиза вокруг колонии, посеянной уколом на агаризованную среду с добавлением 10% обезжиренного молока и выращенной в течение ночи. Уровень экспрессии САМР-фактора определяли по размеру зоны лизиса эритроцитов, добавленных в концентрации 1,5% в агаризованную среду, вследствие совместного действия САМР-фактора *S. pyogenes* и фосфолипазы С *Staphylococcus aureus*, посеянных штрихом перпендикулярно друг другу.

Для определения ДНКазной активности штаммы переседали уколом на агаризованную среду, содержащую метиленовый зеленый, и выращивали в течение ночи. Зона просветления вокруг колонии свидетельствовала о наличии у штамма секретлируемых ДНКаз, об уровне экспрессии которых можно было судить по диаметру зоны просветления.

Активность стрептолизина О (SLO) определяли по ранее опубликованной методике [4]. Для этого штаммы *S. pyogenes*, выращенные в течение ночи, центрифугировали (4000 об/мин, 10 мин), надосадочную жидкость стерилизовали фильтрованием через 0,22 мкм фильтры (Millipore, США) и отбирали 2 пробы объемом по 1 мл. Одну пробу обрабатывали ингибитором SLO (раствор холестерина в хлороформе, 25 мкг/мл) в течение 30 мин при 37°C. После этого в каждую аликвоту добавляли дитиотрейтол до конечной концентрации 4 мМ, и смесь инкубировали при комнатной температуре в течение 10 мин. В каждую пробу добавляли по 0,5 мл 2% бараньих эритроцитов в физиологическом растворе и инкубировали 30 мин при 37°C. Затем реакционную смесь центрифугировали (3000 об/мин, 5 мин), и поглощение надосадочной жидкости измеряли при длине волны 541 нм. За полный (100%-й) лизис эритроцитов принимали таковой, вызванный добавлением дистиллированной воды.

Для определения НАД-гликогидролазной активности штаммов делали серию 2-кратных разведений стерильной надосадочной жидкости 10 мл ночной культуры, как описано в [4]. С этой целью к 100 мкл каждого разведения добавляли никотинамиддинуклеотид (Sigma, США) до конечной концентрации 0,67 мМ (в качестве субстрата для НАД-гликогидролазы) и инкубировали при 37°C в течение часа. Затем добавляли по 40 мкл 5 М NaOH и инкубировали еще один час в темноте. Флуоресценцию нерасщепленного никотинамиддинуклеотида измеряли при длине волны 365 нм и определяли то наименьшее разведение надосадочной жидкости (титр), в котором НАД-гликогидролазная активность отсутствовала.

Вирулентность штаммов оценивали с использованием стрептококковой инфекции на беспородных лабораторных мышах (вес 14–16 г). Для этого штаммы выращивали при 37°C в 40 мл бульона

Todd-Hewitt Broth в течение ночи, клетки центрифугировали и отмывали физиологическим раствором. Отмытые клетки ресуспендировали в физиологическом растворе, готовили ряд 10-кратных разведений и подсчитывали количество колониеобразующих единиц (КОЕ) в каждом разведении методом высева на агаризованные среды. Животным вводили внутривенно по 0,5 мл микробной суспензии с различными концентрациями возбудителя (от  $10^6$  до  $6 \times 10^8$  КОЕ/животное), в зависимости от использованного штамма. Для анализа вирулентных свойств возбудителя при каждой конкретной дозе заражения использовали по 6 мышей. Всего было использовано 378 мышей. Наблюдения вели в течение 10 дней после заражения. Для подтверждения гибели животных именно от стрептококковой инфекции делали счетные высевы из селезенок. Вирулентность штаммов оценивали по коэффициенту летальности:

$$K = \frac{\sum_{i=1}^n \frac{N_i}{i}}{N},$$

где  $N_i$  – количество мышей, павших в  $i$  сутки;  
 $N$  – общее число животных, использованных для анализа данной дозы заражения.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

**Экспрессия секретируемых факторов патогенности штаммами дикого типа и их *rgg* мутантами.** В данной работе проанализирована экспрессия ряда секретируемых факторов патогенности (SpeB, CAMP фактора, НАД-гликогидролазы, ДНКаз и SLO) штаммами *S. pyogenes*. Установлено, что у штаммов дикого типа (NZ131, CS101, SF370, 5005) экспрессия этих белков различна. Так, например, экспрессия секретируемых ДНКаз была максимальной у штамма SF370 и практически отсутствовала у штамма NZ131 (рис. 1). НАД-гликогидролазная активность была максимальной у штамма 5005 и превышала таковую в штамме SF370 в 128 раз (рис. 2). Экспрессия SLO была максимальной у штамма SF370 (рис. 3). Экспрессия SpeB оказалась максимальной у штамма SF370, о чем свидетельствовал максимальный диаметр зоны протеолиза (рис. 4), а продукция CAMP фактора – у штамма NZ131.

Как и у *rgg* мутантного штамма NZ131 [4], у *rgg* мутантных штаммов 5005, CS101 и SF370 не было обнаружено экспрессии SpeB (рис. 4), для активации которого необходим белок Rgg [5, 21]. В то же время инактивация гена *rgg* в штаммах NZ131, CS101, SF370 и 5005 по-разному повлияла на экспрессию

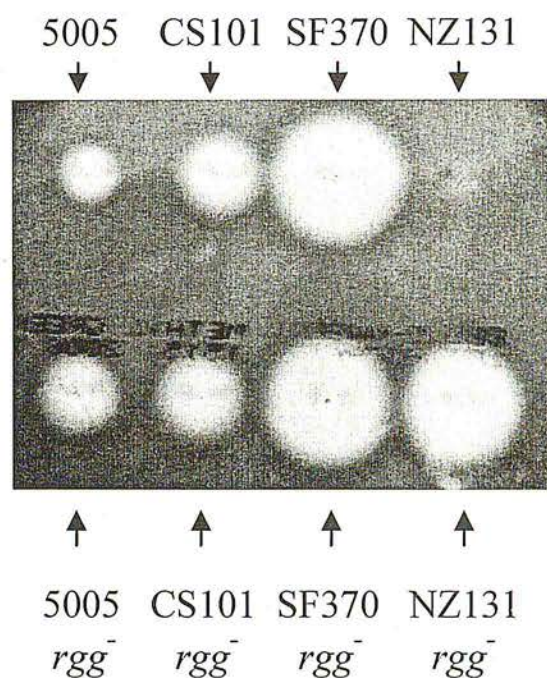


Рис. 1. ДНКазная активность штаммов дикого типа (вверху) и *rgg* мутантов (внизу), выращенных в течение ночи на агаризованной среде, содержащей метиленовый зеленый. Диаметры зон просветления вокруг колоний свидетельствуют об уровнях экспрессии секретируемых ДНКаз

других секретируемых факторов патогенности. Наибольшие изменения в экспрессии факторов патогенности в результате инактивации гена *rgg* наблюдались в штамме NZ131, в котором экспрессия ДНКаз, НАД-гликогидролазы и SLO увеличилась в 5, 16 и 2 раза соответственно (рис. 1, 2, 3). В целом, изменения в уровнях экспрессии факторов патогенности вследствие инактивации гена *rgg* соответствовали таковым, которые могли быть предсказаны на основании микрочипового анализа транскрипции генома [1, 10].

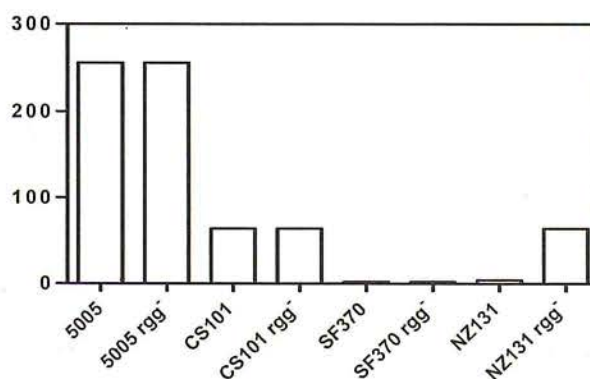


Рис. 2. НАД-гликогидролазная активность штаммов дикого типа и *rgg* мутантов.

По оси ординат – титры, представленные в виде значений наименьших разведений надосадочных жидкостей, в которых отсутствовала НАД-гликогидролазная активность

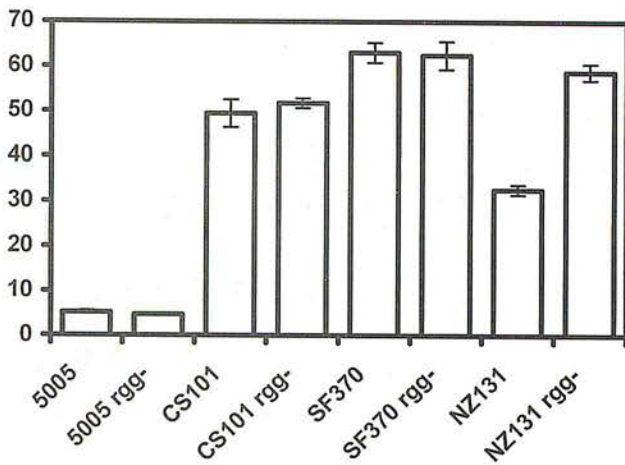


Рис. 3. Процент лизиса эритроцитов (значения по оси ординат), вызванного стрептолизином О (SLO), экспрессируемым штаммами дикого типа и *rgg* мутантами

**Подбор условий для моделирования стрептококковой инфекции на лабораторных животных.**

В настоящей работе стрептококковая инфекция моделировалась на лабораторных мышах методом внутрибрюшинного заражения. В качестве отрицательного контроля был выбран физиологический раствор и введен 10 мышам контрольной группы. В течение 10-дневного периода наблюдения не погибла ни одна мышь, что свидетельствовало о возможности использования физиологического раствора для приготовления суспензий *S. pyogenes*. Для каждого из анализируемых штаммов были предварительно подобраны оптимальные дозы возбудителей (КОЕ/животное), существенно меньшие LD<sub>100</sub>, но тем не менее приводящие к гибели нескольких животных

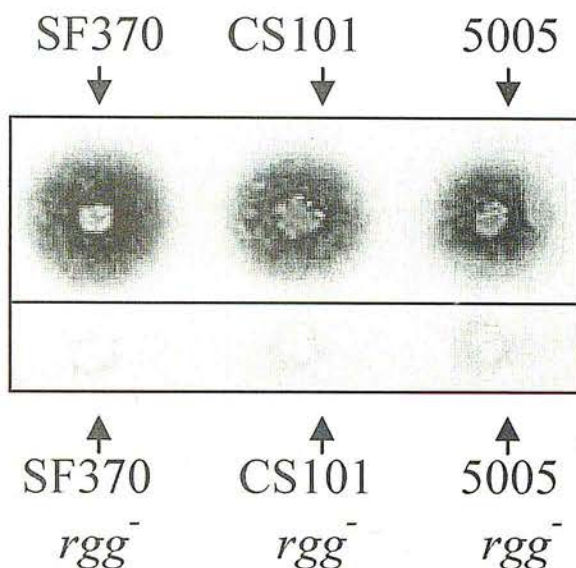


Рис. 4. Экспрессия эритрогенного токсина SpeB, представленная в виде зоны протеолиза вокруг колоний штаммов дикого типа (вверху), и отсутствие экспрессии у *rgg* мутантов (внизу)

в каждой экспериментальной группе. На рис. 5 приведена динамика гибели животных при использовании различных доз штамма SF370, свидетельствующая об адекватности предлагаемой модели для данного исследования.

**Характеристика вирулентности штаммов *S. pyogenes* дикого типа и их *rgg* мутантов.** В результате моделирования инфекции на лабораторных мышах было обнаружено, что среди штаммов дикого типа наиболее вирулентным является штамм 5005, а наименее вирулентным – штамм NZ131. При использовании дозы заражения 10<sup>8</sup> КОЕ/животное, они характеризовались коэффициентами летальности *K* = 1 и *K* = 0 соответственно, в то время как коэффициенты летальности штаммов CS101 и SF370 имели промежуточные значения.

Как отмечено выше, штамм NZ131 оказался практически авирулентным для мышей при дозе 10<sup>8</sup> КОЕ/животное, обычно используемой для моделирования инфекции. Увеличение дозы до 6×10<sup>8</sup> КОЕ/животное приводило к падежу животных на 7-е и 9-е сутки эксперимента, что соответствует *K* = 0,04. В то же время штамм NZ131, мутантный по гену *rgg*, вызывал идентичную динамику падежа животных и характеризовался идентичным коэффициентом летальности при дозе заражения в 6 раз меньшей, составившей 10<sup>8</sup> КОЕ/животное (рис. 5).

Инактивация гена *rgg* у других штаммов (5005, CS101, SF370) не привела к столь значительному изменению вирулентных свойств, как в штамме NZ131. Так, например, идентичные динамики смертности животных и коэффициенты *K* наблюдались при дозах заражения 7×10<sup>7</sup> КОЕ штамма CS101 и 10<sup>8</sup> КОЕ *rgg* мутантного штамма CS101 (рис. 5). И штамм дикого типа 5005, и его *rgg* мутантный штамм характеризовались идентичными динамиками смертности и *K* при использовании дозы 7×10<sup>5</sup>, а также дозы 7×10<sup>7</sup> КОЕ/животное.

Доказательством гибели животных от стрептококковой инфекции явился тот факт, что из селезенок всех погибших животных высевался *S. pyogenes* в количестве от 10<sup>3</sup> до 10<sup>9</sup> КОЕ, а из селезенок животных, выживших к концу эксперимента, *S. pyogenes* не высевался. В целом, значительных отличий в вирулентности между штаммами *rgg* мутант – дикий тип отмечено не было, за исключением *rgg* мутантного штамма NZ131, вирулентность которого увеличилась в 6 раз по сравнению со штаммом NZ131 дикого типа.

**ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

По мере внедрения новых методов для изучения патогенных микроорганизмов стало понятным, что проявление вирулентных свойств микробов зависит не только от наличия определенных генов патоген-



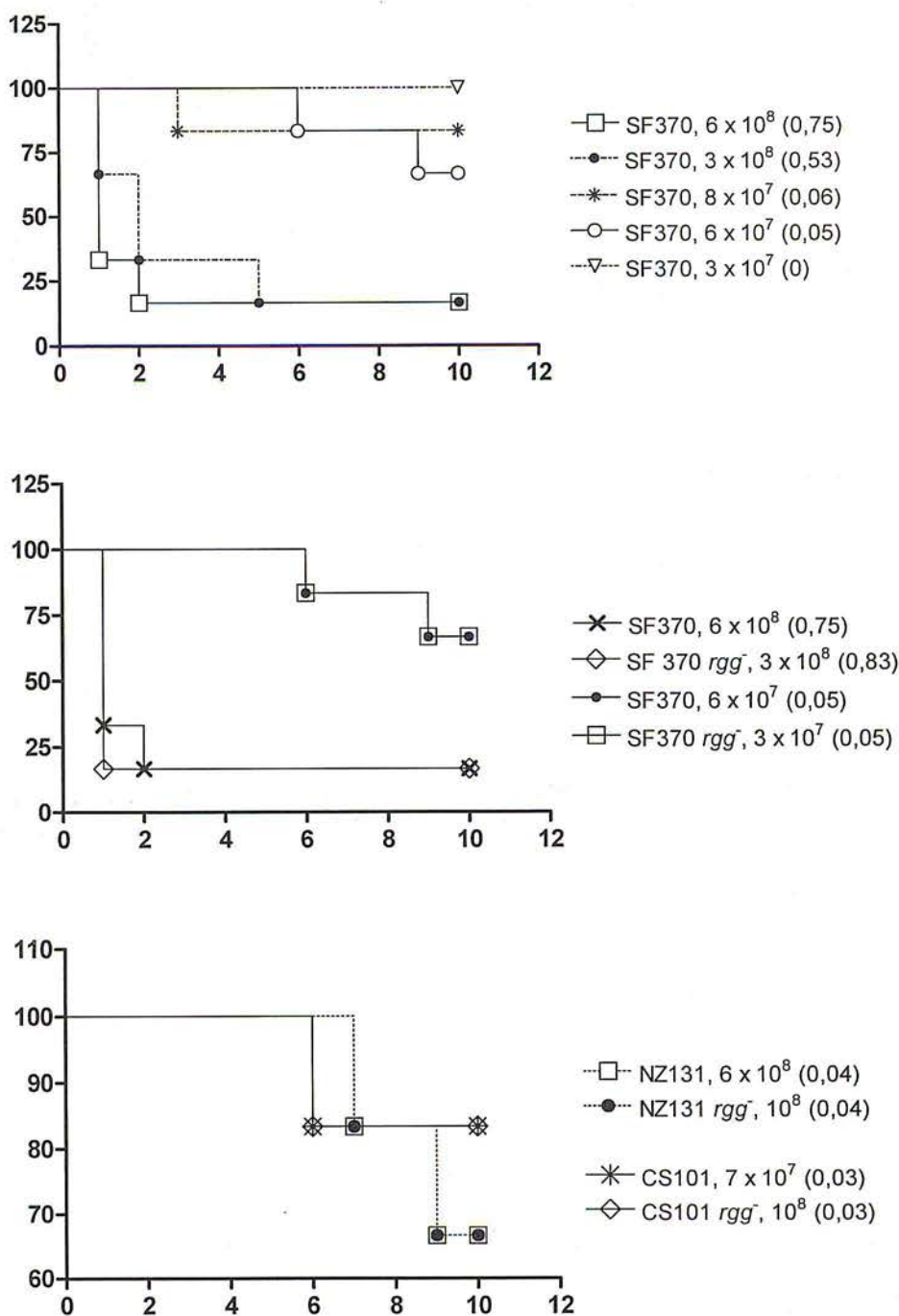


Рис. 5. Динамика гибели мышей вследствие внутрибрюшинной инфекции различными дозами штаммов *S. pyogenes* дикого типа и *rgg* мутантов (коэффициент летальности приведен в скобках).  
 На оси абсцисс – период наблюдения за животными после заражения (в днях),  
 на оси ординат – процент выживших животных

ности, но и от регуляции их экспрессии на уровне транскрипции и/или трансляции. Действительно, даже единичные аминокислотные замены в последовательностях белков-регуляторов транскрипции могут существенно повлиять на транскрипцию регулируемых генов патогенности и, как следствие, на вирулентность штаммов [19, 35, 37].

Как было показано ранее, штаммы, изучаемые в настоящей работе, характеризуются различными Rgg-регулонами, т.е. наборами генов, чья транскрип-

ция существенно изменяется вследствие инактивации гена *rgg* [1]. По данным микрочиповой технологии, наибольшие изменения в транскрипции генов вирулентности произошли в штамме NZ131 [1, 10]. Не исключено, что именно эти изменения могли найти отражение в проявлении вирулентности штаммов при стрептококковой инфекции. Однако не всегда изменение уровней транскрипции генов приводит к изменениям в фенотипических свойствах микроорганизма. Известно, что деградация матричных РНК [3],

регуляция на уровне трансляции, а также деградация, посттрансляционная модификация белков [27] и другие процессы могут приводить к изменениям в экспрессии белков, что часто не соответствует ожидаемым данным, предсказанным на основании микрочипового анализа транскрипции.

В настоящей работе результаты анализа транскрипции генов патогенности у штаммов *S. pyogenes* были подтверждены на уровне фенотипа – уровне экспрессии кодируемых факторов патогенности (SLO, SpeB, CAMP фактора, ДНКаз и НАД-гликогидролазы). При этом единственным сходным фенотипическим свойством, отмеченным у всех *rgg* мутантных штаммов, явилось отсутствие экспрессии SpeB, что подтверждает данные о прямом связывании белка Rgg с промоторной областью гена *speB* и активации его транскрипции [24]. Среди других факторов патогенности наиболее значительные изменения произошли в штамме NZ131, в котором в результате инактивации гена *rgg* экспрессия секретируемых SLO, НАД-гликогидролазы и ДНКаз увеличилась в 2, 16 и 5 раз соответственно. Эти данные свидетельствуют о штаммовых специфических механизмах регуляции транскрипции у *S. pyogenes*, что отмечено также и у других патогенных видов – *Streptococcus pneumoniae*, *Bordetella bronchiseptica*, *Bordetella pertussis* [8, 12].

При моделировании стрептококковой инфекции на лабораторных мышах оказалось, что *rgg* мутантный штамм NZ131 проявил сходную динамику гибели животных и сходный коэффициент летальности при дозе в 6 раз меньшей, чем штамм NZ131 дикого типа, что, в частности, может быть объяснено значительным увеличением экспрессии перечисленных выше факторов патогенности и, как следствие, повышением вирулентности. Кроме того, важным представляется тот факт, что в этом штамме инактивация гена *rgg* приводила к изменению транскрипции 567 генов, существенно изменяя метаболизм микроба [10], тогда как в штаммах 5005, CS101 и SF370 *rgg* инактивация повлияла лишь на 3, 13 и 45 генов соответственно [1]. Эти данные, по-видимому, объясняют, почему в штаммах 5005, SF370 и CS101 инактивация гена *rgg* не привела к значительным изменениям вирулентности.

Следует отметить, что у всех *rgg* мутантных штаммов экспрессия эритрогенного токсина В отсутствовала по сравнению со штаммами дикого типа. Однако отсутствие экспрессии SpeB не повлияло на вирулентные свойства штаммов SF370, 5005 и CS101. Несмотря на то, что SpeB играет существенную роль при инвазивных инфекциях [18, 20], этот белок, по-видимому, не является важным фактором патогенности при внутрибрюшинном заражении мышей, что подтверждает ранее опубликованные данные [2].

Таким образом, полученные в настоящем исследовании данные демонстрируют специфическое для разных штаммов участие белка Rgg – регулятора транскрипции в экспрессии секретируемых факторов патогенности и в проявлении штаммами *S. pyogenes* вирулентных свойств.

Благодарим Королеву И. В. за помощь в проведении экспериментов.

Настоящее исследование поддержано грантом Президента РФ МД-374.2007.4, грантом Регионального общественного фонда содействия отечественной медицине и грантами РФФИ №06-04-48949 и №06-04-08026-офи.

### Литература

1. Дмитриев А.В., McDowell E.J., Kappeler K.V. с соавт. Влияние белка Rgg – глобального регулятора транскрипции на метаболизм *Streptococcus pyogenes* // Материалы IX съезда Всерос. общества эпидемиологов, микробиологов и паразитологов. М., 2007. Т. 2. С. 228.
2. Ashbaugh C. D., Wessels M. R. Absence of a cysteine protease effect on bacterial virulence in two murine models of human invasive group A streptococcal infection // Infect. Immunol. 2001. Vol. 69. P. 6683–6688.
3. Barnett T. C., Bugrysheva J. V., Scott J. R. Role of mRNA stability in growth phase regulation of gene expression in the group A streptococcus // J. Bacteriol. 2007. Vol. 189. P. 1866–1873.
4. Bricker A. L., Cywes C., Ashbaugh C. D. et al. NAD<sup>+</sup>-glycohydrolase acts as an intracellular toxin to enhance the extracellular survival of group A streptococci // Mol. Microbiol. 2002. Vol. 44. P. 257–269.
5. Chaussee M. S., Ajdic D., Ferretti J. J. The *rgg* gene of *Streptococcus pyogenes* positively influences extracellular SPE B production // Infect. Immunol. 1999. Vol. 67. P. 1715–1722.
6. Chaussee M. S., Somerville G. A., Reitzer L. et al. Rgg coordinates virulence factor synthesis and metabolism in *Streptococcus pyogenes* // J. Bacteriol. 2003. Vol. 185. P. 6016–6024.
7. Chaussee M. S., Sylva G. L., Sturdevant D. E. et al. Rgg influences the expression of multiple regulatory loci to coregulate virulence factor expression in *Streptococcus pyogenes* // Infect. Immunol. 2002. Vol. 70. P. 762–770.
8. Cummings C. A., Bootsma H. J., Relman D. A. et al. Species- and strain-specific control of a complex, flexible regulon by *Bordetella BvgAS* // J. Bacteriol. 2006. Vol. 188. P. 1775–1785.
9. Cunningham M. W. Pathogenesis of group A streptococcal infections // Clin. Microbiol. Rev. 2000. Vol. 13. P. 470–511.
10. Dmitriev A.V., McDowell E.J., Kappeler K.V. et al. The Rgg regulator of *Streptococcus pyogenes* influences the utilization of nonglucose carbohydrates, prophage induction, and expression of the NAD-glycohy-

- drolase virulence operon // J. Bacteriol. 2006. Vol. 188. P. 7230–7241.
11. Haanes E. J., Heath D. G., Cleary P. P. Architecture of the vir regulons of group A streptococci parallels opacity factor phenotype and M protein class // J. Bacteriol. 1992. Vol. 174. P. 4967–4976.
  12. Hendriksen W. T., Silva N., Bootsma H. J. et al. Regulation of gene expression in *Streptococcus pneumoniae* by response regulator 09 is strain dependent // J. Bacteriol. 2007. Vol. 189. P. 1382–1389.
  13. Federle M.J., McIver K.S., Scott J.R. A response regulator that represses transcription of several virulence operons in the group A streptococcus // J. Bacteriol. 1999. Vol. 181. P. 3649–3657.
  14. Ferretti J. J., McShan W. M., Ajdic D. et al. Complete genome sequence of an M1 strain of *Streptococcus pyogenes* // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. Vol. 98. P. 4658–4663.
  15. Fujiwara T., Hoshino T., Ooshima T. et al. Purification, characterization, and molecular analysis of the gene encoding glucosyltransferase from *Streptococcus oralis* // Infect. Immunol. 2000. Vol. 68. P. 2475–2483.
  16. Graham M.R., Smoot L.M., Migliaccio C. A. et al. Virulence control in group A streptococcus by a two-component gene regulatory system: global expression profiling and *in vivo* infection modeling // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2002. Vol. 99. P. 13855–13860.
  17. Kreikemeyer B., McIver K. S., Podbielski A. Virulence factor regulation and regulatory networks in *Streptococcus pyogenes* and their impact on pathogen-host interactions // Trends Microbiol. 2003. Vol. 11. P. 224–232.
  18. Kuo C. F., Wu J. J., Lin K. Y. et al. Role of streptococcal pyrogenic exotoxin B in the mouse model of group A streptococcal infection // Infect. Immunol. 1998. Vol. 66. P. 3931–3935.
  19. Loughman J. A., Caparon M. G. Contribution of invariant residues to the function of Rgg family transcription regulators // J. Bacteriol. 2007. Vol. 189. P. 650–655.
  20. Lukomski S., Montgomery C. A., Rurangirwa J. et al. Extracellular cysteine protease produced by *Streptococcus pyogenes* participates in the pathogenesis of invasive skin infection and dissemination in mice // Infect. Immunol. 1999. Vol. 67. P. 1779–1788.
  21. Lyon W. R., Gibson C. M., Caparon M. G. A role for trigger factor and an rgg-like regulator in the transcription, secretion and processing of the cysteine proteinase of *Streptococcus pyogenes* // EMBO J. 1998. Vol. 17. P. 6263–6275.
  22. McIver K. S., Heath A. S., Green B. D. et al. Specific binding of the activator Mga to promoter sequences of the *emm* and *scpA* genes in the group A streptococcus // J. Bacteriol. 1995. Vol. 177. P. 6619–6624.
  23. McShan W.M., Savic D. J., Karasawa T. et al. The *Streptococcus* genome era // International Congress Series. 2006. Vol. 1289. P. 171–174.
  24. Neely M. N., Lyon W. R., Runft D. L. et al. Role of RopB in growth phase expression of the SpeB cysteine protease of *Streptococcus pyogenes* // J. Bacteriol. 2003. Vol. 185. P. 5166–5174.
  25. Qi F., Chen P., Caufield P. W. Functional analyses of the promoters in the lantibiotic mutacin II biosynthetic locus in *Streptococcus mutans* // Appl. Environ. Microbiol. 1999. Vol. 65. P. 652–658.
  26. Qi F., Chen P., Caufield P. W. Purification and biochemical characterization of mutacin I from the group I strain of *Streptococcus mutans*, CH43, and genetic analysis of mutacin I biosynthesis genes // Appl. Environ. Microbiol. 2000. Vol. 66. P. 3221–3229.
  27. Reid S. D., Chaussee M. S., C. D. Doern et al. Inactivation of the group A *Streptococcus* regulator *srv* results in chromosome wide reduction of transcript levels, and changes in extracellular levels of Sic and SpeB // FEMS Immunol. Med. Microbiol. 2006. Vol. 48. P. 283–292.
  28. Ribardo D. A., McIver K. S. Defining the Mga regulon: comparative transcriptome analysis reveals both direct and indirect regulation by Mga in the group A streptococcus // Mol. Microbiol. 2006. Vol. 62. P. 491–508.
  29. Samen U. M., Eikmanns B. J., Reinscheid D. J. The transcriptional regulator RovS controls the attachment of *Streptococcus agalactiae* to human epithelial cells and the expression of virulence genes // Infect. Immunol. 2006. Vol. 74. P. 5625–35.
  30. Sanders J. W., Leenhouts K., Burghoorn J. et al. A chloride-inducible acid resistance mechanism in *Lactococcus lactis* and its regulation // Mol. Microbiol. 1998. Vol. 27. P. 299–310.
  31. Skaugen M., Andersen E. L., Christie V. H. et al. Identification, characterization, and expression of a second, bicistronic, operon involved in the production of lactocin S in *Lactobacillus sakei* L45 // Appl. Environ. Microbiol. 2002. Vol. 68. P. 720–727.
  32. Sulavik M. C., Clewell D. B. Rgg is a positive transcriptional regulator of the *Streptococcus gordonii* *gtfG* gene // J. Bacteriol. 1996. Vol. 178. P. 5826–5830.
  33. Sulavik M. C., Tardif G., Clewell D. B. Identification of a gene, *rgg*, which regulates expression of glucosyltransferase and influences the Spp phenotype of *Streptococcus gordonii* Challis // J. Bacteriol. 1992. Vol. 174. P. 3577–3586.
  34. Sumbly P., Porcella S. F., Madrigal A. G. et al. Evolutionary origin and emergence of a highly successful clone of serotype M1 group A *Streptococcus* involved multiple horizontal gene transfer events // J. Infect. Dis. 2005. Vol. 192. P. 771–782.
  35. Vahling C.M., McIver K.S. Identification of residues responsible for the defective virulence gene regulator Mga produced by a natural mutant of *Streptococcus pyogenes* // J. Bacteriol. 2005. Vol. 187. P. 5955–5966.
  36. Vickerman M. M., Sulavik M. C., Clewell D. B. Oral streptococci with genetic determinants similar to the glucosyltransferase regulatory gene, *rgg* // Infect. Immunol. 1995. Vol. 63. P. 4524–4527.
  37. Vickerman M.M., Wang M., Baker L.J. An amino acid change near the carboxyl terminus of the *Streptococcus gordonii* regulatory protein Rgg affects its abilities to bind DNA and influence expression of the glucosyltransferase gene *gtfG* // Microbiol. 2003. Vol. 149. P. 399–406.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ С ХОЛИНЕРГИЧЕСКОЙ СИСТЕМОЙ ПРИ ВОСПАЛЕНИИ

Член-корреспондент РАМН САПРОНОВ Н. С., НЕЖИНСКАЯ Г. И., ВЛАДЫКИН А. Л.

ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,  
Санкт-Петербург

**Сапронов Н. С., Нежинская Г. И., Владыкин А. Л.** Взаимодействие белков плазмы крови с холинергической системой при воспалении // Мед. академ. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 28–39. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

Анализ литературы показал, что белки плазмы крови обладают полифункциональным действием. Общим свойством для IgG и CRP является их взаимодействие с Fcγ-рецепторами клеток-мишеней (эндотелиоциты, клетки моноцитарно-макрофагального ряда, нейтрофилы, лимфоциты); физиологическим отличием – возможность альбумина и IgG связываться с неонатальными Fc-рецепторами эндотелия, сохраняясь в нативном виде. Белки могут взаимодействовать между собой (IgG, CRP), с катионными белками (CRP), ацетилхолином (альбумин, CRP), обладать собственной нуклеазной, пептидазной, амилитической, бактерицидной активностью (IgG), окислительно-восстановительными свойствами, транспортными функциями (альбумин), про- и противовоспалительными свойствами. Противовоспалительные эффекты альбумина связаны с его влиянием на анизотропные свойства мембран и нейтрализацию медиаторов воспаления, IgG – с элиминацией антигенов, конкуренцией с ауто- и аллергенспецифическими антителами за связывание с Fcγ-рецепторами, каталитическими эффектами, усилением антианафлактогенных эффектов холинолитиков, CRP – с модуляцией функций клеток иммунной системы, удалением продуктов деградации клеток. Изменение продукции белков, вызывающее нарушение холинергической регуляции сосудистого тонуса и ряда метаболических реакций, приводит к усилению провоспалительного ответа. Эти данные расширяют представления о функциях белков плазмы крови и показывают возможность сочетанного применения белков с холинергическими антагонистами при воспалении.

*Ключевые слова:* альбумин, иммуноглобулин G, C-реактивный белок, В-лимфоциты, холинергическая система.

**Sapronov N. S., Nezhinskaya G. I., Vladykin A. L.** Interaction of plasma proteins with cholinergic system during inflammation // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 28–39. Research Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg, 197376.

Literature data analysis revealed that plasma proteins have polyfunctional action. The common property of IgG and CRP is their ability to bind to Fcγ-receptors of the target cells (endotheliocytes, monocytes, macrophages, neutrophils, lymphocytes). Moreover IgG and albumin bind to endothelial cell neonatal Fc-receptors which protect these proteins from catabolic degradation. Proteins are able to interact with each other (IgG, CRP), with cationic proteins (CRP), with acetylcholine (albumin, CRP); to possess own nuclease, peptidase, amylolytic enzyme activity and bactericidal action (IgG); to have redox properties, transport functions (albumin), pro- and antiinflammatory properties. Antiinflammatory effects of albumin are connected with its influence on cellular membrane anisotropic properties and inflammatory mediators neutralization; IgG eliminates antigens, competes with autoantibodies and allergenspecific antibodies for the binding to Fcγ-receptors, has self catalytic activity and ability to enhance the antianaphylactic effects of cholinergic antagonists; CRP modulates immune cells functions and binds with decay products of disintegrated cells. Alteration in proteins production leads to disturbances in cholinergic regulation of vascular tone and several metabolic reactions and so intensifies the proinflammatory response. These data extend our notion about functions of plasma proteins and may have implications in combined application of proteins with cholinergic antagonists during inflammation.

*Key words:* albumin, immunoglobulin G, C-reactive protein, B-lymphocytes, cholinergic system.

Среди белков в качестве аллостерических модификаторов мускариновых холинорецепторов известны протамин, поли-L-аргинин, поли-L-лизин, основной катионный белок эозинофилов, общим свойством которых является наличие положительно заряда молекулы при физиологических значениях рН [52, 53]. Аллостерические модификаторы, влияя на мускариновые холинорецепторы клеток-мишеней, изменяют их функции, а влияя на тормозные m<sub>2</sub>-холинорецепторы, локализованные на пресинаптической мембране холинергического синапса, участвуют в регуляции выброса ацетилхолина холинергически-

ми волокнами [35, 37]. Отрицательно заряженные белки (поли-L-глутаминовая кислота) и полисахариды (гепарин) отменяют модулирующий эффект положительно заряженных белков [40]. Анализ результатов холинергической регуляции воспаления [7] позволяет считать, что эти механизмы являются ведущими в фармакологических эффектах канонических (ацетилхолин, холинергические препараты) и неканонических (серотонин, холин, тестостерон, галантамин) лигандов мускариновых и никотиновых холинорецепторов при подавлении воспалительных процессов. Можно предположить, что белки плазмы

крови, обладая полифункциональностью (связывающие, коллоидные, буферные и другие свойства [8]), будут влиять на развитие воспаления. Анализ влияния основных фракций белков плазмы крови – иммуноглобулина G (IgG), альбумина, С-реактивного белка (CRP) – на функции ацетилхолина открывает возможности регуляции холинергических механизмов нервных и ненервных (эндотелиальные клетки, лимфоциты и другие неиннервируемые клетки) клеток при воспалении и других заболеваниях.

#### ОБЩИЕ СВОЙСТВА ОСНОВНЫХ ФРАКЦИЙ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Известно, что плазменная концентрация альбумина и IgG, фракция которых составляет 70% белков крови, зависит от единого механизма – их взаимодействия с неонатальными Fc-рецепторами (FcRn) [43]. FcRn являются высококонсервативными рецепторами, экспрессирующимися внутри почти всех ядросодержащих клеток организма. Они участвуют в транспорте белков-лигандов через клеточные барьеры. Основные эффекты захвата плазменных белков крови связывают с тем, что эндотелиальные клетки артериол и капилляров неспецифически (путем пиноцитоза) интернализуют альбумин или IgG из кровеносного русла. Интернализованные белки при низких значениях pH среды эндосом связываются с независимыми сайтами FcRn, которые защищают их от разрушения протеолитическими ферментами и обеспечивают последующий экзоцитоз альбумина и IgG в нативном виде в кровеносное русло [27]. Связывание с рецептором одного из белков не облегчает связывание другого белка тем же рецептором, но они не конкурируют друг с другом за места связывания с рецептором [45]. Кинетические исследования FcRn-зависимого механизма связывания альбумина и IgG показали, что молярное соотношение взаимодействия этих белков с FcRn равняется 35:1, т. е. при физиологических условиях в единицу времени FcRn предотвращают разрушение 35 молекул альбумина и 1 молекулы IgG. Однако в рециркуляции концентрации альбумина и IgG, в частности, для мыши составляют 40 и 1,8 мг/мл, а для человека – 40 и 10 мг/мл соответственно, что не соответствует молярному соотношению концентраций альбумина и IgG, обеспечиваемому FcRn-зависимым механизмом. Объясняется это тем, что в условиях насыщения FcRn в циркуляцию возвращается такое же количество альбумина, которое синтезируется организмом, а количество IgG, возвращаемое в циркуляцию, в 4 раза превышает уровень его физиологической продукции [46]. Подобный механизм существенно сберегает энергетические ресурсы, затрачиваемые *de novo*, на синтез альбумина и обеспечивает достаточный уровень IgG в организме.

Альбумин является негликозилированным отрицательно заряженным глобулярным белком (молекулярная масса 66 кДа), молекула которого построена из 585 аминокислот. Для обеспечения его структуры и функций наиболее важными из аминокислот являются остатки лизина, несущие положительный заряд, и аспарагиновой кислоты, имеющие отрицательный заряд. Остатки цистеина, образующие 17 дисульфидных мостиков, обеспечивают конформационную подвижность третичной структуры, а остаток свободного цистеина – окислительно-восстановительные свойства белка [76]. Установлено, что единственный остаток цистеина Cys34, благодаря высокой массовой доле фракции альбумина в плазме, формирует до 80% пула свободных тиоловых групп, являющихся основой антиоксидантного потенциала крови [10, 74]. Основные функции альбумина (средняя концентрация в плазме человека – 45 мг/мл) заключаются в создании онкотического давления и поддержании объема циркулирующей крови, обеспечении реологических свойств крови, транспорте эндогенных молекул, связывании лекарственных препаратов, нейтрализации медиаторов воспаления [20]. Известно, что альбумин обладает слабой ферментативной активностью [57], а остатки лизина, несущие положительный заряд, входящие в состав отрицательно заряженной молекулы белка, позволяют предположить наличие у него свойств аллостерического модификатора м-холинорецепторов. Подобные предположения требуют детального изучения.

Таким образом, альбумин – это полифункциональный отрицательно заряженный белок с широким спектром взаимодействия с лигандами разной химической структуры. Связывание альбумина с неонатальными Fc-рецепторами позволяет избежать превалирования процессов катаболизма и сохранить его концентрацию в сыворотке крови для создания онкотического давления, поддержания объема циркулирующей крови и обеспечения реологических свойств крови.

Фракция IgG крови (630–1350 мг/дл) представлена белками (молекулярная масса 150 – 170 кДа), построенными из двух легких (L) и двух тяжелых (H) полипептидных цепей, имеющих доменную структуру, формирующими (Fab)<sub>2</sub>- и Fc-фрагменты молекулы иммуноглобулина. Специфическая антигенсвязывающая функция IgG (взаимодействие антитела с антигеном) реализуется с помощью (Fab)<sub>2</sub>-фрагмента. Через Fc-фрагмент IgG происходит его взаимодействие с Fc-рецепторами (FcγR) клеток-мишеней и C1q компонентом системы комплемента [55, 84]. Активирующие функции IgG осуществляются через высокоаффинные FcγRI и низкоаффинные FcγRII рецепторы [41], а ингибиторные – через FcγRIIB [43]. Несмотря на неоднородность пула IgG, обусловленную изоти-

пическими различиями и специфичностью к определенным антигенам, белок катализирует образование активных форм кислорода в фагосомах и межклеточном пространстве в очаге воспаления [101]. Благодаря наличию высококонсервативных остатков триптофана в 36 и 37 положении, молекулы IgG способны катализировать реакцию между синглетным кислородом, образующимся в ходе «окислительного взрыва» нейтрофилов и макрофагов, и молекулами воды, участвующими в процессе в качестве источника электронов, с образованием высокореактивных агентов – перекиси водорода и озона [68]. В свою очередь, озон, помимо цитотоксической активности, проявляет свойства сигнальной молекулы, участвуя в регуляции продукции провоспалительных цитокинов IL-6 и TNF $\alpha$  [23]. Показано, что катализирующая активность IgG, связанная с утилизацией синглетного кислорода, может играть важную роль в регуляции воспаления при развитии реакции Артюса [102] и в патогенезе формирования атеросклеротических бляшек [107]. Кроме того, IgG играет существенную роль в реализации ряда метаболических реакций организма. В крови здоровых индивидуумов определяют невысокие концентрации каталитических антител, способных к гидролитическому расщеплению полисахаридов, и антител с протеолитической, нуклеазной активностью [36]. Показано, что в крови больных при системных аутоиммунных заболеваниях (ревматоидный артрит, системная красная волчанка и др.) определяются каталитические IgG-антитела с ДНК- и РНКазной, пептидазной, амилолитической активностью, что указывает на возможное их участие в патогенезе этих процессов [49, 66]. Однако высокие концентрации IgG, обладающих серинподобной протеазной активностью, в крови пациентов с сепсисом и эндотоксическим шоком коррелируют с низким уровнем смертности. Протективный эффект протеолитических IgG-антител при эндотоксическом шоке связывают с их способностью катализировать гидролиз VIII фактора свертывания, подавляя таким образом процесс диссеминированного внутрисосудистого тромбообразования [48]. Взаимодействие IgG с ацетилхолином, а также его влияние на холинэргическую систему нервных и нервно-нервных клеток (лимфоциты, клетки моноцитарно-макрофагального ряда, нейтрофилы и другие неиннервируемые клетки) практически остались вне поля зрения.

Таким образом, данные литературы свидетельствуют, что другая основная фракция белков плазмы крови – IgG – также является полифункциональной молекулой, взаимодействующей с неонатальными Fc-рецепторами, что позволяет поддерживать его физиологический уровень в плазме крови. Кроме иммунологических функций (связывание с антигеном, опсонизирующая функция и функции взаимодей-

ствия с регуляторными Fc $\gamma$ -рецепторами), молекулы IgG проявляют ферментативные свойства, присущие белкам других классов: способность катализировать образование активных форм кислорода перекиси водорода и озона, гидролитическое разрушение белков, полисахаридов, нуклеиновых кислот.

CRP – филогенетически древний, высококонсервативный белок, синтезируемый в печени, является белком острой фазы воспаления у человека. Молекула CRP построена из 5 нековалентно связанных идентичных субъединиц, состоящих из 206 аминокислотных остатков (молекулярная масса около 23 кДа). Субъединицы CRP симметрично расположены вокруг центральной поры, поэтому нативная молекула CRP имеет форму диска, по обе стороны которого расположены сайты взаимодействия белка с лигандами [16]. В период развития острой фазы воспаления плазменная концентрация CRP удваивается каждые 8 ч, достигая пикового уровня к 48 ч. Период полувыведения CRP из плазмы крови составляет 4–6 ч. Разрешение воспалительного процесса сопровождается быстрым снижением уровня CRP в крови [70]. Лиганды для CRP могут быть классифицированы как лиганды его фосфорилхолинспецифического сайта, лиганды-поликатионы и лиганды-полианионы [54]. Основными лигандами фосфорилхолинспецифического сайта CRP являются фосфорилхолин и фосфорилхолинсодержащие вещества – фосфатидилхолин (лецитин), L- $\alpha$ -лизофосфатидилхолин (лизолецитин), фосфатидилэтаноламин, С-полисахарид пневмококков [54]. Изучение взаимодействия очищенного CRP с ацетилхолином показало, что белок дозозависимо ингибирует его разрушение ацетилхолинэстеразой, что свидетельствует о связывании ацетилхолина с CRP и предупреждении разрушения нейромедиатора ферментом. Ацетилхолин в комплексе с CRP почти полностью утрачивает способность возбуждать m $_2$ -холинорецепторы, локализованные в синоатриальном узле, в результате чего снижается его гипотензивное действие [2]. Очевидно, что взаимодействие ацетилхолина с CRP приводит к изменению физиологических функций нейромедиатора.

Связывание лигандов через фосфорилхолинспецифический сайт происходит по кальцийзависимому механизму, связывание поликатионов и полианионов – без участия ионов кальция. Сайт связывания CRP с лигандами-поликатионами (поли-L-лизин, поли-L-аргинин, возможно, некоторые богатые аргинином белки) структурно и функционально отличается от фосфорилхолинспецифического сайта [15, 28]. Взаимодействие CRP с гистонами (естественные положительно заряженные белки, богатые лизином и аргинином), в отличие от синтетических катионных белков (поли-L-лизин, поли-L-аргинин), нуждается в присутствии ионов кальция. Увеличение concentra-

ции фосфорилхолина отменяет эффекты взаимодействия CRP с гистонами [29]. Можно предположить, что CRP способен также взаимодействовать с другими катионными белками, например с катионным белком эозинофилов, являющимся аллостерическим модификатором  $m_2$ -холинорецепторов, изменяя таким образом функции рецептора. Гликозаминогликан гепарин является полианионным лигандом для CRP, взаимодействие которого с CRP зависит от концентрации катионных белков: невысокие концентрации гепарина способствуют образованию комплексов CRP–поли-L-лизин в условиях избытка поликатиона. Однако гепарин в концентрации, эквивалентной концентрации поли-L-лизина, приводит к полному распаду комплексов CRP–поли-L-лизин и образованию комплексов гепарин–поли-L-лизин. Аналогичным образом гликозаминогликан хондроитинсульфат влияет на стабильность комплексов CRP–поли-L-аргинин [72]. Приведенные данные позволяют предположить, что ряд высокомолекулярных гликозаминогликанов, присутствующих в плазме крови (гепарин) или в составе межклеточного матрикса (гепарин, хондроитинсульфат), способны модулировать лигандную активность CRP в отношении катионных белков в области клеток-мишеней, где проявляется эффекторная функция CRP. Показано, что CRP способен также взаимодействовать с иммуноглобулинами, в частности, с IgG и иммунными комплексами. Взаимодействие субъединиц CRP с нативным IgG является низкоаффинным, а с агрегированным IgG – высокоаффинным. В этом взаимодействии участвует фосфорилхолинспецифичный сайт CRP и углеводы F(ab)<sub>2</sub>-фрагмента иммуноглобулина, что приводит к изменению функций белков [64]. Кроме взаимодействия CRP с различными лигандами, белок связывается с FcγR макрофагов, нейтрофилов, В-лимфоцитов [105]. Высокоаффинными рецепторами для CRP являются FcγRII, а низкоаффинными – FcγRI [26]. Взаимодействие CRP с FcγRII приводит к ингибиторному эффекту, если белок взаимодействует с рецепторами, цитоплазматические домены которых содержат ITIM-последовательность (FcγRIIB), или к стимулирующему – если он связывает рецепторы, имеющие ITAM-последовательность (FcγRIIA и FcγRIIC) [88].

Как видно из изложенного, CRP также является полифункциональным белком, взаимодействующим с Fcγ-рецепторами макрофагов, нейтрофилов, В-лимфоцитов. Белок обладает множественной лигандной активностью: способен связывать полианионы, поликатионы, IgG, иммунные комплексы, ацетилхолин.

Таким образом, общим свойством для IgG и CRP является их связывание с Fcγ-рецепторами на эндотелиоцитах, клетках моноцитарно-макрофагального ряда, нейтрофилах, В-лимфоцитах, обеспечивая

активирующий или ингибирующий эффект клетками-мишеней. Физиологическим отличием белков друг от друга является возможность альбумина и IgG сохраняться в нативном виде в эндотелии путем взаимодействия с неонатальными Fc-рецепторами. Единый рецепторный механизм приводит к частичному перекрытию функций альбумина и IgG. Кроме того, белки плазмы крови могут влиять друг на друга (CRP и IgG), взаимодействовать с положительно заряженными белками, модифицируя таким образом функции м-холинорецепторов, связываться с ацетилхолином (альбумин и CRP), изменяя свои функции и функции нейромедиатора. Кроме рецепторного взаимодействия с клетками-мишенями, альбумин обладает окислительно-восстановительными свойствами, являясь одной из основных фракций белков плазмы крови, обеспечивает трансэндотелиальные потоки жидкости между кровью и внеклеточным пространством. Обладая неспецифической лигандной активностью, альбумин участвует в транспорте и связывании эндогенных и экзогенных молекул. IgG обладает ДНК- и РНКазной, пептидазной, амилолитической активностью, способностью катализировать образование активных форм кислорода.

#### ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ ЭФФЕКТЫ БЕЛКОВ ПЛАЗМЫ КРОВИ

Хорошо известно, что противовоспалительные эффекты альбумина связаны с подавлением «окислительного взрыва» нейтрофилов и макрофагов [17, 47, 79], снижением адгезии полиморфноядерных нейтрофилов к клеткам эндотелия [50], ингибированием продукции цитокинов и экспрессии интегринов лейкоцитами крови [65, 79], регуляцией проницаемости эндотелиального барьера для белков плазмы крови и уменьшением их оттока в интерстиций [59], увеличением концентрации восстановленного глутатиона в эпителиальных клетках легкого, фибробластах и лимфоцитах, обеспечивая таким образом защиту клеток от повреждающего действия перекиси водорода [18]. Показано, что при остром воспалительном процессе плазменная концентрация альбумина существенно снижается [81]. Применение альбумина у больных с сепсисом [74], острыми повреждениями легких [75] нормализует тиоловый антиоксидантный статус крови и в ряде случаев может уменьшать развитие отека легких при острых поражениях органа и остром респираторном дистресс-синдроме [56, 60], однако механизм этих эффектов остается малоизученным. На модели анафилактического шока у морских свинок показано, что само по себе введение альбумина (0,5 г/кг) на его патохимической стадии (за 30 мин до введения разрешающей дозы) существенно ограничивает развитие анафилаксии, тогда как введение его вместе с антагонистом м-холино-

рецепторов метацином (2 мг/кг) полностью отменяет эффект альбумина [5]. Возможно, что альбумин, обладая неспецифической связывающей функцией [39] и слабой эстеразной активностью [57], может связывать препарат, отменяя бронхолитический и противовоспалительный эффекты препаратов (холинергического антагониста и препарата IgG). Однако эти предположения требуют детального изучения. На модели эндотоксического шока у мышей установлено, что введение альбумина (0,4 г/кг) через 1 или 5 ч после его индукции полностью нивелирует дисфункцию эндотелия и частично предотвращает развитие гипотензии [61]. Противовоспалительный эффект альбумина при эндотоксическом шоке связывают со снижением экспрессии NF-κB, iNOS и уменьшением продукции NO и супероксид-аниона ( $O_2^-$ ) клетками эндотелия, а также уменьшением продукции NO и экспрессии iNOS в органах-мишенях – легких, сердце [61, 92]. Не исключается, что противовоспалительные эффекты альбумина могут быть частично вызваны его собственной антиоксидантной активностью, проявляющейся в нейтрализации продуктов свободнорадикальных реакций, протекающих в активированных эндотелиоцитах и клетках ретикулоэндотелиальной системы [50, 76]. Антиоксидантная активность альбумина в кровеносном русле обеспечивается несколькими структурно-функциональными особенностями молекулы альбумина: наличием высокореактивной тиогруппы Cys34, взаимодействующей с NO и окислителями ( $O_2^-$ ,  $H_2O_2$ ,  $-OH$ ,  $ONOO^-$ ,  $\cdot NO_2$ ,  $HOCl$ ); способностью альбумина связывать ионы железа, меди и амфипатические молекулы (жирные кислоты, гем, биллирубин), катализирующие протекание многих окислительно-восстановительных реакций [71, 77]. Кроме того, гидрофобный кор молекулы альбумина катализирует процесс окисления NO с образованием S-нитрозотиолов, обладающих также противовоспалительной активностью [78]. На модели эндотоксического шока подтверждено, что эти эффекты имеют место в объяснении протективного действия альбумина, связанного со снижением системного воспалительного ответа [58, 94].

Изучение влияния бычьего сывороточного альбумина на анизотропные свойства клеточных мембран показало, что белок снижает текучесть мембран свежемозолированных гладкомышечных клеток аорты крыс и текучесть мембран в культуре ткани фибробластов, эндотелиальных и гладкомышечных клеток. Напротив, арахидоновая кислота – продукт деградации мембранных фосфолипидов фосфолипазой  $A_2$  и основной предшественник простагландинов и лейкотриенов – увеличивает текучесть мембран эндотелиальных и гладкомышечных клеток [13]. Показано, что несмотря на то, что бычий сывороточный аль-

бумин вызывает дозозависимое интенсивное высвобождение арахидоновой кислоты из эндотелиальных и гладкомышечных клеток аорты крыс, конечный эффект его действия выражается в уменьшении текучести клеточных мембран [13]. Объяснение этого феномена сводится к тому, что альбумин, обладая несколькими высокоаффинными сайтами для жирных кислот, способен связывать высвобождаемую из клеток арахидоновую кислоту, действие которой в провоспалительном ответе проявляется в концентрациях, превышающих в 40 раз концентрацию белка [85]. Подобный механизм действия альбумина подтверждается данными о том, что модифицированный по остаткам аргинина бычий сывороточный альбумин, с нарушенной структурой сайтов связывания жирных кислот, теряет способность модифицировать текучесть клеточных мембран и не вызывает высвобождение из них арахидоновой кислоты. Влияние альбумина на анизотропные свойства мембран является специфическим свойством этого белка, которое отсутствует у других модельных белков – IgG и миоглобина [13].

Таким образом, приведенные данные показали возможные механизмы влияния альбумина на сосудистую проницаемость и регуляцию барьерной функции эндотелия, что может иметь место при развитии отека ткани в ходе воспаления. Можно предположить, учитывая снижение текучести клеточной мембраны под действием альбумина, а также конкурентные отношения его с арахидоновой кислотой, что белок способен оказывать мембраностабилизирующее действие на клетки воспаления (тучные клетки, базофилы) и тормозить продукцию медиаторов воспаления.

Эффективность применения очищенного мономерного IgG человека при трансплантации костного мозга, терапии первичных иммунодефицитов, идиопатической тромбоцитопенической пурпуре, болезни Кавасаки, ревматоидного артрита, системной красной волчанки, рассеянного склероза объясняют конкурентным взаимодействием нормальных и патогенных белков (IgG1, IgG2 и др.) за связывание с FcγR на клетках-мишенях (иммунные клетки, нейтрофилы и другие клетки) [87, 93]. Вместе с тем показано, что взаимодействие антигена с патогенными IgG резко повышает avidность комплекса к связыванию его с FcγR, которое IgG-препарат способен преодолеть лишь при значительном увеличении дозы, которая, в свою очередь, индуцирует активацию механизмов катаболизма IgG, снижая его концентрацию в плазме крови [83]. Связывание IgG с FcRn, главным образом в эндотелиальных клетках артериол и капилляров, обеспечивает сохранение пула антигенспецифических антител и предотвращение их катаболизма [27]. Однако известно, что у FcRn-дефицитных мышей



наблюдается существенное уменьшение периода полужизни сывороточных IgG, а введение им экзогенных IgG сопровождается интенсивным клиренсом белка [95]. Очевидно, что оценка механизмов действия IgG, связанная с обсуждением его воздействия на активирующие FcγR, достаточно противоречива. Наряду с этим, протективный эффект препарата IgG при аутоиммунной тромбоцитопении [25], аутоиммунной гемолитической анемии, ревматоидном артрите [9], нефротоксическом нефрите [43] связывают с активацией или увеличением экспрессии ингибиторных FcγRIIB. Однако молекулярный механизм преобладания эффекта ингибиторных FcγRIIB над эффектом активации антигенспецифических FcγR на клетках воспаления не доказан. Эти факты позволяют предполагать наличие альтернативных оценок терапевтической эффективности IgG-препарата, которые могут быть связаны, в частности, с ацетилхолинзависимыми механизмами. Присутствие ацетилхолина в ненейронных клетках совпадает с его локализацией в эпителиальных клетках (дыхательных путей, желудочно-кишечного тракта, кожи), клетках эндотелия, плаценты, циркулирующих клетках крови (нейтрофилы, базофилы и др.), иммунных клетках (лимфоциты, клетки моноцитарно-макрофагального ряда). Молекулярные механизмы действия ненейронного ацетилхолина связаны с модуляцией активности никотиновых и мускариновых холинорецепторов на плазматической мембране клеток-мишеней по ауто/паракринному механизму [103]. Передача сигнала через холинорецепторы запускает множество внутриклеточных событий: активацию трансмембранных ионных потоков (натрия, калия, кальция), активацию тирозинкиназ, G-белков и MAPK, мобилизацию внутриклеточного кальция; увеличение концентрации цГМФ; выделение NO, простагландинов и других биологически активных молекул [44, 51]. Очевидно, что активность холинергической системы в неиннервируемых клетках может играть важную роль в патогенезе различных заболеваний. Так, у серопозитивных носителей цитомегаловируса, вируса простого герпеса, вируса гепатита А и *Helicobacter pylori*, имеющих признаки хронического инфекционно-воспалительного процесса и высокие титры IgG к инфекционным агентам, наблюдается существенное снижение активности холинергической системы эндотелия. Отсутствие реакции изменения тонуса сосудов в ответ на введение ацетилхолина (эндотелийзависимая вазодилатация), по сравнению с ответом сосудов на введение натрия нитропрусида (донатор окиси азота) или аденозина (стимуляция аденозиновых рецепторов гладкомышечных клеток) (эндотелийнезависимая вазодилатация), связано с дисфункцией эндотелия, может также свидетельствовать о высоком риске возникновения атеросклероза коронарных артерий [73].

Анализ данных литературы показывает, что холинергическая система нервных и неиннервируемых клеток играет ключевую роль в патогенезе анафилактического шока [6]. Известно, что дисфункция m<sub>2</sub>-холинорецепторов приводит к усилению выброса вагусным нервом ацетилхолина, действие которого связано с бронхоконстрикцией при воздействии аллергена [104]. Бронхолитический эффект мускариновых антагонистов (метацин, атропин, ипратропия бромид и др.) при анафилаксии объясняют блокадой m<sub>2</sub>-холинорецепторов легочной ткани [1]. Изучение на модели анафилактического шока у морских свинок возможностей его коррекции препаратом IgG (1 мг/кг), или мускариновым антагонистом метацином (2 мг/кг), или комбинацией метацина с IgG (одновременное введение за 30 мин до инъекции разрешающей дозы аллергена) показало, что комбинация препаратов (метацин+IgG) практически полностью предупреждает его развитие, в отличие от отдельного применения этих препаратов. Само по себе применение IgG или метацина приводит к частичному ограничению развития анафилактической реакции [4]. Можно предположить наличие суммации нервных (эффекты блокады холинергических эфферентных путей) и ненервных механизмов (эффекты блокады продукции аллергенспецифических IgE-антител В-лимфоцитами). Основываясь на известных данных [82], допустимым представляется то, что избыток ацетилхолина, образующийся при блокаде m-холинорецепторов, будет стимулировать n-холинорецепторы на эндотелиоцитах, существенно снижая экспрессию молекул адгезии (VCAM-1, E-селектин) и продукцию хемокинов (MCP-1, RANTES, IL-8) эндотелиоцитами, а также адгезию и миграцию лейкоцитов через эндотелиальный барьер. Аналогичные эффекты наблюдаются у агониста n-холинорецепторов никотина, которые отменяются его антагонистом мекамиламином [82].

Известно, что при остром воспалительном процессе у человека, связанном с отеком ткани, увеличивается плазменная концентрация IgG [81], а при анафилактическом шоке у морских свинок – системный иммунный ответ [67]. Введение метацина (2 мг/кг за 30 мин до шока) приводит к снижению антителогенеза и достигает базального уровня при введении комплекса метацин+IgG (2 и 1 мг/кг соответственно). Эти данные не исключают представления о возможности влияния антагониста m-холинорецепторов метацина на функции В-лимфоцитов при системном иммунном ответе. Предположения подтверждаются тем, что повторные введения разрешающей дозы антигена (через каждые 2 нед) не приводили к манифестации анафилактического шока [67].

Таким образом, роль IgG при заболеваниях, в патогенезе которых имеет место воспаление, объясняют конкурентным взаимодействием нормальных и патогенных белков (IgG1, IgG2 и др.) за связывание с Fcγ-рецепторами на клетках-мишенях, активацией или увеличением экспрессии ингибиторных Fcγ-рецепторов (FcγRIIB), не исключается участие нервных и ненервных ацетилхолинзависимых механизмов.

Защитную роль CRP при воспалении объясняют его способностью связывать продукты деградации клеток, в частности ядерные антигены (гистоны, малые ядерные рибонуклеопротеиновые частицы) [31]. Не исключается также, что CRP, связывая и инактивируя ацетилхолин [3], по-видимому, способен также взаимодействовать с холинергическими препаратами, в структуре которых присутствует триметиламмонийная группировка (метацин, бензогексоний, холина альфосцерат, неостигмин и др.). Подтверждается это тем, что применение метацина (2 мг/кг) совместно CRP (1 мг/кг) на патохимической стадии анафилактического шока отменяло антианафилактические эффекты метацина [67]. В то же время введение морским свинкам очищенного CRP человека одновременно с сенсibilизирующим агентом (0,1 мл нормальной лошадиной сыворотки подкожно) существенно снижало анафилактическую реакцию [5]. Возможным объяснением этих эффектов может служить образование комплекса CRP с FcγR на лейкоцитах. Подтверждается это тем, что протеолитическая обработка макрофагов и нейтрофилов мышей и человека перед введением CRP в культуральную среду увеличивает связывание CRP с FcγRII, что может являться следствием увеличения плотности FcγRII на поверхности клеточной мембраны и повышением способности рецепторов к кластеризации [42]. Связывание CRP с FcγRIIB на В-лимфоцитах мышей запускает каскад реакций с участием SH2-содержащей инозитолфосфатазы (SHIP), что предотвращает возможность активации рецепторов лимфоцитов с ITAM-последовательностью [69]. Эти эффекты могут играть важную роль в очаге локального воспаления, так как нарастание концентрации протеаз макрофагов и нейтрофилов, в частности эластазы и катепсина G, может способствовать связыванию CRP с FcγR [88] и модулировать функции В-лимфоцитов [105], снижая уровень провоспалительного ответа. Косвенно это подтверждают данные о том, что у трансгенных мышей, экспрессирующих встроенный ген CRP кролика, наблюдается снижение воспалительного ответа на введение липополисахарида или провоспалительных медиаторов (PAF) и цитокинов (IL-1β и TNFα) [106]. Экзогенный CRP (человека, кролика) также защищает мышей от заражения *Streptococcus pneumoniae* [63, 90, 91].

Единый рецепторный механизм связывания IgG и CRP, опосредуемый через FcγR на клетках моноцитарно-макрофагального ряда, нейтрофилах, лимфоцитах, позволяет говорить о частичном перекрытии функций белков [88]. Однако известно, что сшивка комплексов [IgG-FcγR] на поверхности клеток-мишеней и формирование иммунных комплексов зависит от наличия антигена [38, 89]. Образование комплексов [CRP-FcγR] связано с участием структурных элементов ядра, образующихся в результате апоптоза клеток, увеличения концентрации фосфолипидов, освобождающихся из разрушенных мембран клеток, поликатионных белков, образуемых нейтрофилами в очаге воспаления [21, 30, 32]. Активация FcγR на лейкоцитах приводит к реализации эффекторных функций клеток: антителозависимой клеточной цитотоксичности [33], фагоцитозу [11], «окислительному взрыву» полиморфноядерных лейкоцитов [24, 100], продукции медиаторов воспаления [12].

Известно также, что одной из мишеней действия CRP являются клетки эндотелия кровеносных сосудов [16]. Повышенный уровень CRP в сыворотке крови является маркером системного воспаления, связанного с нарушением вазодилататорной функции эндотелия [34]. Клинические данные, свидетельствующие о дисфункции эндотелия у пациентов с ревматоидным артритом и системной красной волчанкой, интерпретируются также в свете того, что они опосредованы взаимодействием CRP и циркулирующих иммунных комплексов с FcγR эндотелия [80, 96]. Считается, что для проявления эффектов CRP в модуляции сосудистой реакции необходима экспрессия высокоаффинных FcγRIIB на эндотелиальных клетках [16, 88]. Показано, что у FcγRIIB<sup>+/+</sup> мышей введение CRP (5 мг/мл) снижает индуцируемое ацетилхолином расширение изолированного участка сонной артерии. Напротив, у мышей с фенотипом FcγRIIB<sup>-/-</sup> CRP приводит к усилению вазодилататорного эффекта ацетилхолина [62]. Эти данные свидетельствуют о том, что эффект ингибиторных FcγRIIB у FcγRIIB<sup>+/+</sup> мышей маскирует эффекты активирующих FcγR, возможно FcγRIII, хотя их экспрессия эндотелиоцитами мышей до сих пор не доказана. В пользу FcγR-зависимого механизма действия CRP на сосудистый тонус свидетельствует то, что IgG дозозависимо уменьшает активацию eNOS в культуре эндотелиоцитов аорты быка, инициированную VEGF [62]. Известно, что CRP является одним из факторов, влияющим на эндотелийзависимую сосудистую реакцию, вызываемую ацетилхолином [62], вазодилатирующий эффект которого зависит от увеличения продукции NO и Ca<sup>2+</sup>-кальмодулинзависимой активации eNOS эндотелиоцитов, связанной с возбуждением m<sub>3</sub>-холинорецепторов на их поверхности [14, 19].

К этой группе факторов могут быть также отнесены CD8<sup>+</sup> Т-лимфоциты, экспрессирующие ICAM-1, и антитела к окисленным липопротеинам низкой плотности [86]. Оценка влияния CRP на скорость потока крови при эндотелийзависимом (10 мкг/мин CRP и 50 мкг/мин ацетилхолина) и эндотелийнезависимом (2 мкг/мин CRP и 8 мкг/мин натрия нитропрусида) ответе показала, что между концентрациями ацетилхолина и CRP существует обратно пропорциональная зависимость [86]. Высокие концентрации CRP снижают реакцию эндотелия и сосудистую реакцию в ответ на воздействие ацетилхолина, а при определенных условиях снижают экспрессию eNOS и продукцию NO в культуре эндотелиальных клеток [34, 97, 98, 99]. На изолированном участке сонной артерии мышей показано, что ацетилхолин увеличивает уровень внутриклеточного синтеза цГМФ, а CRP отменяет эффект нейромедиатора и не влияет на накопление цГМФ, индуцированное натрия нитропруссидом [62]. Введение препарата CRP в концентрациях 2 мг/л (базальная концентрация CRP в крови) или 20 мг/л (концентрации CRP в крови при остром воспалительном процессе) в аорту крыс или во внутреннюю грудную артерию (*internal mammary artery*) человека предупреждало вазоконстрикторный эффект адrenomиметика фенилэфрина [62]. Введение CRP и фенилэфрина в культуральную среду срезов артерии с разрушенным эндотелием не влияло на констрикторный эффект адrenomиметика. Предварительная обработка срезов артерии, с ненарушенным эндотелиальным слоем, неселективным ингибитором NO-синтазы (метилловый эфир нитро-L-аргинина) и последующая инкубация с CRP и фенилэфрином отменяла гипореактивность сосудов к фенилэфрину, вызываемую CRP. Эти данные свидетельствуют об участии NO, продуцируемого эндотелием, в реализации дилатирующего эффекта CRP. Инкубация срезов аорты крысы, спазмированных фенилэфрином, с CRP сопровождалась незначительным, но статистически значимым увеличением чувствительности сосудов к ацетилхолину, вазодилатирующий эффект которого реализуется только в условиях целостности эндотелиальной выстилки сосудов. Инкубация спазмированных участков аорты с CRP и введение в культуральную среду натрия нитропрусида отменяло дилатацию сосудов. Одним из факторов увеличения эффективности NO-зависимого механизма вазодилатации, связанного с CRP, является усиление синтеза тетрагидробиоптерина в эндотелиоцитах, приводящего к повышению продукции NO без изменения уровня экспрессии eNOS [22]. Можно предположить, что единый NO-зависимый молекулярный механизм регуляции сосудистого тонуса CRP и ацетилхолином может являться основой взаимодействия медиатора белковой природы и нейромедиатора на уровне

сосудистой стенки в разные фазы воспалительного процесса.

Анализ данных литературы по оценке противовоспалительного эффекта CRP показывает, что защитную роль белка связывают с его способностью ускорять клиренс продуктов некротического распада клеток, с запуском каскада ингибиторных реакций через FcγRIIB на В-лимфоцитах, снижая таким образом уровень провоспалительного ответа. Возможно, что провоспалительное действие CRP опосредовано преимущественно его взаимодействием с FcγR эндотелия, приводящим к нарушению его вазодилаторной функции, и воздействием на FcγR клеток воспаления (тучные клетки, базофилы). Кроме того, высокие концентрации CRP снижают реакцию эндотелия и сосудистую реакцию в ответ на воздействие ацетилхолина, экспрессию eNOS и продукцию NO в эндотелиальных клетках. Эти предположения требуют детального подтверждения.

Таким образом, белки плазмы крови участвуют в противовоспалительном ответе. Среди них альбумин обладает собственной антиоксидантной активностью, возможностью катализировать процессы окисления NO с образованием S-нитрозотиолов, обладающих также собственной противовоспалительной активностью, влиянием на сосудистую проницаемость и барьерную функцию эндотелия, на анизотропные свойства мембран, оказывая мембраностабилизирующее действие на клетки воспаления (тучные клетки, базофилы). IgG способен элиминировать антигены, конкурировать с аутоантителами, аллергенспецифическими антителами, оказывать каталитическое действие в осуществлении ряда метаболических реакций в противовоспалительном ответе, усиливать антианафилактические эффекты антагониста м-холинорецепторов. Противовоспалительное действие CRP на определенных этапах воспаления вызвано модулированием функций клеток иммунной системы, а также связыванием продуктов деградации клеток. Наличие дисфункции в продукции плазменных белков может привести к преобладанию провоспалительного ответа, приводящего при остром процессе к отеку ткани и увеличению активности системного иммунного ответа, к усилению развития анафилактического и эндотоксического шока. Высокие концентрации белка, в частности, CRP, нарушая регуляцию сосудистого тонуса на уровне NO-зависимого молекулярного механизма, снижают реакцию эндотелия в ответ на воздействие ацетилхолина, усиливая таким образом воспалительный процесс. Наличие существенных различий в кинетических характеристиках рециркуляции белков плазмы крови позволяет оптимально подойти к выбору доз препаратов альбумина и IgG для сочетанного применения с холинергическими антагонис-

тами в терапии воспалительного процесса с учетом особенностей патогенеза заболевания. Модуляция уровня CRP в качестве альтернативного механизма может играть важную роль в регуляции сосудистого тонуса при воспалении. Полученные данные могут иметь важное значение в практическом использовании комбинаций холинергических средств с препаратами белков при лечении заболеваний, в патогенезе которых воспаление играет существенную роль.

### Литература

1. Гуцин И. С. Взаимодействие клеток иммунного и эффекторного звеньев аллергического ответа и возможные пути его фармакологического контроля // Иммунология. 1994. №4. С. 8–9.
2. Назаров П. Г., Крылова И. Б., Нежинская Г. И. и др. С-реактивный белок: фактор воспаления, связывающий и инактивирующий ацетилхолин // Цитокины и воспаление. 2006. Т. 5. № 4. С. 32–35.
3. Назаров П. Г., Нежинская Г. И., Бутюгов А. А. и др. Петраксины и нейромедиаторы // Мед. иммунол. 2006. Т. 8. № 2–3. С. 161.
4. Нежинская Г. И., Назаров П. Г., Евдокимова Н. Р. и др. Холинергическая регуляция анафилактического шока: влияние С-реактивного белка // Цитокины и воспаление. 2004. Т. 3. № 1. С. 44–48.
5. Нежинская Г. И., Лосев Н. А., Назаров П. Г. и др. Влияние ацетилхолина и С-реактивного белка на регуляцию анафилактического шока у морских свинок // Экспер. и клин. фармакол. 2005. Т. 68. № 4. С. 49–52.
6. Нежинская Г. И., Лосев Н. А., Сапронов Н. С. Холинергическая система лимфоцитов // Экспер. и клин. фармакол. 2006. Т. 69. № 6. С. 63–67.
7. Нежинская Г. И., Владыкин А. Л., Сапронов Н. С. Фармакологический анализ неканонических лигандов никотиновых холинорецепторов // Психофармакология и биологическая наркология. 2007. Т. 7. Вып. 2. С. 1526–1530.
8. Харкевич Д. А. Фармакология. М.: ГЭОТАР-Медицина, 2003.
9. Akilesh S., Petkova S., Sproule T. J. et al. The MHC class I-like Fc receptor promotes humorally mediated autoimmune disease // J. Clin. Invest. 2004. Vol. 113. № 9. P. 1328–1333.
10. Alvarez B., Ferrer-Sueta G., Freeman B. A. et al. Kinetics of peroxynitrite reactions with amino acids and human serum albumin // J. Biol. Chem. 1999. Vol. 274. № 2. P. 842–848.
11. Anderson C. L., Shen L., Eicher D. M. et al. Phagocytosis mediated by three distinct Fc gamma receptor classes on human leukocytes // J. Exp. Med. 1990. Vol. 171. № 4. P. 1333–1345.
12. Anegon I., Cuturi M. C., Trinchieri G. et al. Interaction of Fc receptors (CD16) with ligands induces transcription of IL-2 receptor (CD25) and lymphokine genes and expression of their products in human NK cells // J. Exp. Med. 1988. Vol. 167. № 2. P. 452–472.
13. Beck R., Bertolino S., Abbot S. E. et al. Modulation of arachidonic acid release and membrane fluidity by albumin in vascular smooth muscle and endothelial cells // Circulation Research. 1998. Vol. 83. № 9. P. 923–931.
14. Birdsall N. J., Chan S. C., Eveleigh P. et al. The modes of binding of ligands to cardiac muscarinic receptors // Trends Pharmacol. Sci. 1989. Suppl. P. 31–34.
15. Black S., Agrawal A., Samols D. The phosphocholine and the polycation-binding sites on rabbit C-reactive protein are structurally and functionally distinct // Mol. Immunol. 2003. Vol. 39. № 16. P. 1045–1054.
16. Black S., Kushner I., Samols D. C-reactive protein // J. Biol. Chem. 2004. Vol. 279. P. 48487–48490.
17. Camacho M., Balagangadhar R. T., Torbati D. et al. Pulmonary and extrapulmonary effects of increased colloid osmotic pressure during endotoxemia in rats // Chest. 2001. Vol. 120. № 5. P. 1655–1662.
18. Cantin A. M., Paquette B., Richter M. et al. Albumin-mediated regulation of cellular glutathione and nuclear factor kappa B activation // Am. J. Respir. Crit. Care Med. 2000. Vol. 162. P. 1539–1546.
19. Caulfield M. P., Birdsall N. J. International Union of Pharmacology. XVII. Classification of muscarinic acetylcholine receptors // Pharmacol. Rev. 1998. Vol. 50. № 2. P. 279–290.
20. Chaudhury C., Mehnaz S., Robinson J. M. et al. The major histocompatibility complex-related Fc receptor for IgG (FcRn) binds albumin and prolongs its lifespan // J. Exp. Med. 2003. Vol. 197. № 3. P. 315–322.
21. Chi M., Tridandapani A., Zhong W. et al. C-reactive protein induces signaling through FcγRIIa on HL-60 granulocytes // J. Immunol. 2002. Vol. 168. № 3. P. 1413–1418.
22. Clapp B. R., Hirschfield G. M., Storry C. et al. Inflammation and endothelial function: direct vascular effects of human C-reactive protein on nitric oxide bioavailability // Circulation. 2005. Vol. 111. № 12. P. 1530–1536.
23. Cohen M. D., Sisco M., Li Y. et al. Ozone-induced modulation of cell-mediated immune responses in the lungs // Toxicol. Appl. Pharmacol. 2001. Vol. 171. № 2. P. 71–84.
24. Crockett-Torabi E., Fantone J. C. Soluble and insoluble immune complexes activate human neutrophil NADPH oxidase by distinct Fcγ receptor-specific mechanisms // J. Immunol. 1990. Vol. 145. № 9. P. 3026–3032.
25. Crow A. R., Song S., Freedman J. et al. IVIg-mediated amelioration of murine ITP via FcγRIIB is independent of SHIP1, SHP-1, and Btk activity // Blood. 2003. Vol. 102. P. 558–560.
26. Crowell R. E., Du Clos T. W., Montoya G. et al. C-reactive protein receptors on the human monocytic cell line U-937: evidence for additional binding to FcγRI // J. Immunol. 1991. Vol. 147. № 10. P. 3445–3451.

27. *Dall'Acqua W. F., Kiener P. A., Wu H.* Properties of Human IgG1s Engineered for Enhanced Binding to the Neonatal Fc Receptor (FcRn) // *J. Biol. Chemistry.* 2006. Vol. 281. № 33. P. 23514–23524.
28. *Dougherty T. J., Gewurz H., Siegel J. N.* Preferential binding and aggregation of rabbit C-reactive protein with arginine-rich proteins // *Mol. Immunol.* 1991. Vol. 28. № 10. P. 1113–1120.
29. *Du Clos T. W., Zlock L. T., Marnell L.* Definition of a C-reactive protein binding determinant on histones // *J. Biol. Chem.* 1991. Vol. 266. № 4. P. 2167–2171.
30. *Du Clos T. W., Zlock L. T., Hicks P. S.* et al. Decreased autoantibody levels and enhanced survival of (NZB x NZW)F1 mice treated with C-reactive protein // *Clin. Immunol. Immunopathol.* 1994. Vol. 70. № 1. P. 22–27.
31. *Du Clos T. W.* The interaction of C-reactive protein and serum amyloid P component with nuclear antigens // *Mol. Biol. Rep.* 1996. Vol. 23. P. 253–260.
32. *Du Clos T. W.* Function of C-reactive protein // *Ann. Med.* 2000. Vol. 32. № 4. P. 274–278.
33. *Fanger M. W., Graziano R. F., Shen L.* et al. FcγR in cytotoxicity exerted by mononuclear cells // *Chem. Immunol.* 1989. Vol. 47. P. 214–253.
34. *Fichtlscherer S., Rosenberger G., Walter D. H.* et al. Elevated C-reactive protein levels and impaired endothelial vasoreactivity in patients with coronary artery disease // *Circulation.* 2000. Vol. 102. № 9. P. 1000–1006.
35. *Fraser C. M., Wang C. D., Robinson D. A.* et al. Site-directed mutagenesis of m1 muscarinic acetylcholine receptors: conserved aspartic acids play important roles in receptor function // *Mol. Pharmacol.* 1989. Vol. 36. № 6. P. 840–847.
36. *Friboulet A., Avalle B., Debat H.* et al. A possible role of catalytic antibodies in metabolism // *Immunol. Today.* 1999. Vol. 20. № 10. P. 474–475.
37. *Fryer A. D., Maclagan J.* Muscarinic inhibitory receptors in pulmonary parasympathetic nerves in the guinea-pig // *Br. J. Pharmacol.* 1984. Vol. 83. № 4. P. 973–978.
38. *Gerber J. S., Mosser D. M.* Reversing lipopolysaccharide toxicity by ligating the macrophage Fcγ receptors // *J. Immunol.* 2001. Vol. 166. № 11. P. 6861–6868.
39. *Hansen U. K., Chuang V., Otagiri M.* Practical aspects of the ligand-binding and enzymatic properties of human serum albumin // *Biological and Pharmaceutical Bulletin.* 2002. Vol. 25. № 6. P. 695–704.
40. *Hu J., Wang S. Z., Forray C.* et al. Complex allosteric modulation of cardiac muscarinic receptors by protamine: a potential model for putative endogenous ligands // *Mol. Pharmacol.* 1992. Vol. 42. № 2. P. 311–324.
41. *Hulett M. D., Hogarth P. M.* Molecular basis of Fc receptor function // *Adv. Immunol.* 1994. Vol. 57. P. 1–127.
42. *Isashi Y., Yamashita T., Nagasawa S.* et al. The mechanism by which proteolysis enhances the ligand-binding activity of guinea pig type II Fc receptor for IgG (FcγRIIB) // *J. Biochem.* 1998. Vol. 123. № 5. P. 959–967.
43. *Kaneko Y., Nimmerjahn F., Madaio M. P.* et al. Pathology and protection in nephrotoxic nephritis is determined by selective engagement of specific Fc receptors // *J. Exp. Med.* 2006. Vol. 203. № 3. P. 789–797.
44. *Kawashima K., Fujii T.* The lymphocytic cholinergic system and its contribution to the regulation of immune activity // *Life Sci.* 2003. Vol. 74. № 6. P. 675–696.
45. *Kim J., Bronson C. L., Hayton W. L.* et al. Albumin turnover: FcRn-mediated recycling saves as much albumin from degradation as the liver produces // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2006. Vol. 290. № 2. P. G352–G360.
46. *Kim J., Hayton W. L., Robinson J. M.* et al. Kinetics of FcRn-mediated recycling of IgG and albumin in human: pathophysiology and therapeutic implications using a simplified mechanism-based model // *Clin. Immunol.* 2007. Vol. 122. № 2. P. 146–155.
47. *Kouoh F., Gressier B., Luyckx M.* et al. Antioxidant properties of albumin: Effect on oxidative metabolism of human neutrophil granulocytes // *Farmacol.* 1999. Vol. 54. № 10. P. 695–699.
48. *Lacroix-Desmazes S., Bayry J., Kaveri S. V.* et al. High levels of catalytic antibodies correlate with favorable outcome in sepsis // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2005. Vol. 102. № 11. P. 4109–4113.
49. *Lacroix-Desmazes S., Wootla B., Delignat S.* et al. Pathophysiology of catalytic antibodies // *Immunol. Lett.* 2006. Vol. 103. № 1. P. 3–7.
50. *Lang J. D. Jr., Figueroa M., Chumley P.* et al. Albumin and hydroxyethyl starch modulate oxidative inflammatory injury to vascular endothelium // *Anesthesiology.* 2004. Vol. 100. № 1. P. 51–58.
51. *Lawand N. B., Lu Y., Westlund K. N.* Nicotinic cholinergic receptors: potential targets for inflammatory pain relief // *Pain.* 1999. Vol. 80. P. 291–299.
52. *Lee N. H., El-Fakahany E. E.* Allosteric antagonists of the muscarinic acetylcholine receptor // *Biochem. Pharmacol.* 1991. Vol. 42. № 2. P. 199–205.
53. *Lee N. H., El-Fakahany E. E.* Allosteric interactions at the m1, m2 and m3 muscarinic receptor subtypes // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1991. Vol. 256. № 2. P. 468–479.
54. *Lee R. T., Takagahara I., Lee Y. C.* Mapping the binding areas of human C-reactive protein for phosphorylcholine and polycationic compounds. Relationship between the two types of binding sites // *J. Biol. Chem.* 2002. Vol. 277. № 1. P. 225–232.
55. *Lee K. Y., Lee J. S.* Immunoglobulin G has a role for systemic protein modulation in vivo: a new concept of protein homeostasis // *Med. Hypotheses.* 2006. Vol. 67. № 4. P. 848–855.
56. *Lewis C. A., Martin G. S.* Understanding and managing fluid balance in patients with acute lung injury // *Curr. Opin. Crit. Care.* 2004. Vol. 10. № 1. P. 13–17.

57. *Liederer B. M., Borchardt R.* Enzymes involved in the bioconversion of ester-based prodrugs // *J. Pharmaceutical Sci.* 2006. Vol. 95. № 6. P. 1177–1195.
58. *Liu L., Yan Y., Zeng M.* et al. Essential roles of S-nitrosothiols in vascular homeostasis and endotoxic shock // *Cell.* 2004. Vol. 116. № 4. P. 617–628.
59. *Lum H., Siflinger-Birnboim A., Blumenstock F.* et al. Serum albumin decreases transendothelial permeability to macromolecules // *Microvasc. Res.* 1991. Vol. 42. № 1. P. 91–102.
60. *Martin G. S., Mangialardi R. J., Wheeler A. P.* et al. Albumin and furosemide therapy in hypoproteinemic patients with acute lung injury // *Crit. Care Med.* 2002. Vol. 30. № 10. P. 2175–2182.
61. *Meziani F., Kremer H., Tesse A.* et al. Human serum albumin improves arterial dysfunction during early resuscitation in mouse endotoxic model via reduced oxidative and nitrosative stresses // *Am. J. Pathol.* 2007. Vol. 171. № 6. P. 1753–1761.
62. *Mineo C., Gormley A. K., Yuhanna I. S.* et al. FcγRIIb mediates C-reactive protein inhibition of endothelial NO synthase // *Circ. Res.* 2005. Vol. 97. № 11. P. 1124–1131.
63. *Mold C., Nakayama S., Holzer T. J.* et al. C-reactive protein is protective against *Streptococcus pneumoniae* infection in mice // *J. Exp. Med.* 1981. Vol. 154. № 5. P. 1703–1708.
64. *Motie M., Brockmeier S., Potempa L. A.* Binding of model soluble immune complexes to modified C-reactive protein // *J. Immunol.* 1996. Vol. 156. № 11. P. 4435–4441.
65. *Nathan C., Xie Q. W., Halbwachs-Mecarelli L.* et al. Albumin inhibits neutrophil spreading and hydrogen peroxide release by blocking the shedding of CD43 (sialophorin, leukosialin) // *J. Cell. Biol.* 1993. Vol. 122. № 1. P. 243–256.
66. *Nevinsky G. A., Buneva V. N.* Human catalytic RNA- and DNA-hydrolyzing antibodies // *J. Immunol. Methods.* 2002. Vol. 269. P. 235–249.
67. *Nezhinskaya G. I., Vladykin A. L., Sapronov N. S.* Cholinergic modulation of anaphylactic shock: plasma proteins influence // *Life Sci.* 2007. Vol. 80. P. 2342–2346.
68. *Nieva J., Wentworth P.* The antibody-catalyzed water oxidation pathway—a new chemical arm to immune defense? // *Trends Biochem. Sci.* 2004. Vol. 29. № 5. P. 274–285.
69. *Nimmerjahn F., Ravetch J. V.* Fcγ receptors: old friends and new family members // *Immunity.* 2006. Vol. 24. № 1. P. 19–28.
70. *Pepys M. B., Hirschfield G. M.* C-reactive protein: a critical update // *J. Clin. Invest.* 2003. Vol. 111. № 12. P. 1805–1812.
71. *Peters T. Jr.* Serum albumin: recent progress in the understanding of its structure and biosynthesis // *Clin. Chem.* 1977. Vol. 23. № 1. P. 5–12.
72. *Potempa L. A., Gewurz H.* Influence of heparin on interactions between C-reactive protein and polycations // *Mol. Immunol.* 1983. Vol. 20. № 5. P. 501–509.
73. *Prasad A., Zhu J., Halcox J. P.* et al. Predisposition to atherosclerosis by infections: role of endothelial dysfunction // *Circulation.* 2002. Vol. 106. № 2. P. 184–190.
74. *Quinlan G. L., Margaron M. P., Mumby S.* et al. Administration of albumin to patients with sepsis syndrome: a possible beneficial role in plasma thiol repletion // *Clin. Sci.* 1998. Vol. 95. № 4. P. 459–465.
75. *Quinlan G. J., Mumby S., Martin G. S.* et al. Albumin influences total plasma antioxidant capacity favorably in patients with acute lung injury // *Crit. Care Med.* 2004. Vol. 32. № 3. P. 755–759.
76. *Quinlan G. J., Martin G. S., Evans T. W.* Albumin: biochemical properties and therapeutic potential // *Hepatology.* 2005. Vol. 41. № 6. P. 1211–1219.
77. *Radi R., Bush K. M., Cosgrove T. P.* et al. Reaction of xanthine oxidase derived oxidants with lipid and protein of human plasma // *Arch. Biochem. Biophys.* 1991. Vol. 286. № 1. P. 117–125.
78. *Rafikova O., Rafikov R., Nudler E.* Catalysis of S-nitrosothiol formation by serum albumin: the mechanism and implication in vascular control // *Proc. Natl. Acad. Sci.* 2002. Vol. 99. № 9. P. 5913–5918.
79. *Rhee P., Wang D., Ruff P.* et al. Human neutrophil activation and increased adhesion by various resuscitation fluids // *Crit. Care Med.* 2000. Vol. 28. № 1. P. 74–78.
80. *Ròman M. J., Shanker B. A., Davis A.* et al. Prevalence and correlates of accelerated atherosclerosis in systemic lupus erythematosus // *N. Engl. J. Med.* 2003. Vol. 349. P. 2399–2406.
81. *Ruot B., Becherea F., Bayle G.* et al. The response of liver albumin synthesis to infection in rats varies with the phase of the inflammatory process // *Clin. Sci. (Lond.).* 2002. Vol. 102. № 1. P. 107–114.
82. *Saeed R. W., Varma S., Peng-Nemeroff T.* et al. Cholinergic stimulation blocks endothelial cell activation and leukocyte recruitment during inflammation // *J. Exp. Med.* 2005. Vol. 201. № 7. P. 1113–1123.
83. *Samuelsson A., Towers T. L., Ravetch J. V.* Anti-inflammatory activity of IVIG mediated through the inhibitory Fc receptor // *Science.* 2001. Vol. 291. P. 484–486.
84. *Scallan B. J., Tam S. H., McCarthy S. G.* et al. Higher levels of sialylated Fc glycans in immunoglobulin G molecules can adversely impact functionality // *Mol. Immunol.* 2007. Vol. 44. № 7. P. 1524–1534.
85. *Simard J. R., Zunszain P. A., Hamilton J. A.* et al. Location of high and low affinity fatty acid binding sites on human serum albumin revealed by NMR drug-competition analysis // *J. Mol. Biol.* 2006. Vol. 361. № 2. P. 336–351.
86. *Sinisalo J., Paronen J., Mattila K. J.* et al. Relation of inflammation to vascular function in patients with coronary heart disease // *Atherosclerosis.* 2000. Vol. 149. № 2. P. 403–411.
87. *Siragam V., Crow A. R., Brinc D.* et al. Intravenous immunoglobulin ameliorates ITP via activating Fc gamma receptors on dendritic cells // *Nat. Med.* 2006. Vol. 12. № 6. P. 688–692.

88. *Stein M. P., Mold C., Du Clos T. W.* C-reactive protein binding to murine leukocytes requires Fc $\gamma$  receptors // *J. Immunol.* 2000. Vol. 164. № 3. P. 1514–1520.
89. *Sutterwala F. S., Noel G. J., Salgame P.* et al. Reversal of proinflammatory responses by ligating the macrophage Fc $\gamma$  receptor type I // *J. Exp. Med.* 1998. Vol. 188. № 1. P. 217–222.
90. *Szalai A. J., Briles D. E., Volanakis J. E.* Role of complement in C-reactive protein-mediated protection of mice from *Streptococcus pneumoniae* // *Infect. Immunol.* 1996. Vol. 64. № 11. P. 4850–4853.
91. *Szalai A. J., VanCott J. L., McGhee J. R.* Human C-reactive protein is protective against fatal *Salmonella enterica* serovar typhimurium infection in transgenic mice // *Infect. Immunol.* 2000. Vol. 68. № 10. P. 5652–5656.
92. *Toda N., Okamura T.* The pharmacology of nitric oxide in the peripheral nervous system of blood vessels // *Pharmacol. Rev.* 2003. Vol. 55. № 2. P. 271–324.
93. *Toubi E., Etzioni A.* Intravenous immunoglobulin in immunodeficiency states: state of the art // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2005. Vol. 29. № 3. P. 167–172.
94. *Tsiotou A. G., Sakorafas G. H., Anagnostopoulos G.* et al. Septic shock: current pathogenetic concepts from a clinical perspective // *Med. Sci. Monit.* 2005. Vol. 11. № 3. P. RA76–85.
95. *Vaccaro C., Zhou J., Ober R. J.* et al. Engineering the Fc region of immunoglobulin G to modulate in vivo antibody levels // *Nat. Biotechnol.* 2005. Vol. 23. № 10. P. 1283–1288.
96. *Vaudo G., Marchesi S., Gerli R.* et al. Endothelial dysfunction in young patients with rheumatoid arthritis and low disease activity // *Ann. Rheum. Dis.* 2004. Vol. 63. № 1. P. 31–35.
97. *Venugopal S. K., Devaraj S., Yuhanna I.* et al. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells // *Circulation.* 2002. Vol. 106. № 12. P. 1439–1441.
98. *Verma S., Li S. H., Badiwala M. V.* et al. Endothelin antagonism and interleukin-6 inhibition attenuate the proatherogenic effects of C-reactive protein // *Circulation.* 2002. Vol. 105. P. 1890–1896.
99. *Verma S., Wang C. H., Li S. H.* et al. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis // *Circulation.* 2002. Vol. 106. P. 913–919.
100. *Walker B. A., Hagenlocker B. E., Stubbs Jr. E. B.* et al. Signal transduction events and Fc $\gamma$ R engagement in human neutrophils stimulated with immune complexes // *J. Immunol.* 1991. Vol. 146. № 2. P. 735–741.
101. *Wentworth A., Jones L., Wentworth P.* et al. Antibodies have the intrinsic capacity to destroy antigens // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000. Vol. 97. P. 10930–10932.
102. *Wentworth P. Jr., McDunn J. E., Wentworth A. D.* et al. Evidence for antibody-catalyzed ozone formation in bacterial killing and inflammation // *Science.* 2002. Vol. 298. P. 2195–2199.
103. *Wessler I., Kilbinger H., Bittinger F.* et al. The biological role of non-neuronal acetylcholine in plants and humans // *Jpn. J. Pharm.* 2001. Vol. 85. № 1. P. 2–10.
104. *Wessler I., Reinheimer T., Kilbinger H.* et al. Increased acetylcholine levels in skin biopsy of patients with atopic dermatitis // *Life Sci.* 2003. Vol. 72. P. 2055–2061.
105. *Whisler R. L., Newhouse Y. G., Mortensen R. F.* C-reactive protein- (CRP) mediated modulation of human B cell colony development // *J. Immunol.* 1983. Vol. 130. № 1. P. 248–253.
106. *Xia D., Samols D.* Transgenic mice expressing rabbit C-reactive protein are resistant to endotoxemia // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1997. Vol. 94. P. 2575–2580.
107. *Yan Z. Q., Hansson G. K.* Innate immunity, macrophage activation, and atherosclerosis // *Immunol. Rev.* 2007. Vol. 219. P. 187–203.

**СИАЛИДАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ КЛЕТОК ОПУХОЛЕВЫХ КЛОНОВ  
РАБДОМИОСАРКОМЫ РА-23 С ВЫСОКИМ И НИЗКИМ  
МЕТАСТАТИЧЕСКИМ ПОТЕНЦИАЛОМ**

*ПРОШИН С. Н., КАМИНСКАЯ Е. В.<sup>1</sup>, ЛЕБЕДЕВ А. А.<sup>2</sup>, БАЙРАМОВ А. А.<sup>2</sup>,  
ЯКОВЛЕВ А. Ф.<sup>3</sup>, ШАБАНОВ П. Д.<sup>2</sup>*

*Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины*

*им. А. М. Никифорова МЧС России;*

*<sup>1</sup>Институт цитологии РАН;*

*<sup>2</sup>Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова;*

*<sup>3</sup>ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных,  
Санкт-Петербург*

**Прошин С. Н., Каминская Е. В., Лебедев А. А., Байрамов А. А., Яковлев А. Ф., Шабанов П. Д.** Сиалидазная активность клеток опухолевых клонов рабдомиосаркомы РА-23 с высоким и низким метастатическим потенциалом // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. №2. С. 40–44. Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А. М. Никифорова МЧС России; Институт цитологии РАН; Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова; ВНИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных, Санкт-Петербург.

В работе проведено исследование активности лизосомальной сиалидазы и сиалидазы, ассоциированной с плазматической мембраной, в клетках опухолевых клонов рабдомиосаркомы РА-23 с высоким и низким метастатическим потенциалом. Показано, что клоны, в которых регистрируется низкая активность лизосомальной сиалидазы, характеризуются высоким метастатическим потенциалом.

*Ключевые слова:* лизосомальная сиалидаза, сиалидаза, ассоциированная с плазматической мембраной, опухолевые клетки, рабдомиосаркома РА-23.

**Proshin S. N., Kaminskaya E. V., Lebedev A. A., Bairamov A. A., Yakovlev A. F., Shabanov P. D.** Sialidase activity of tumor cells of rhabdomyosarcoma RA-23 clones with high and low metastatic potential // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. №2. P. 40–44. Department of Cell and Molecular Pathology of the Russian Center of Emergency and Radiation Medicine, Emercom of Russia; Institute of Cytology RAS; Department of Pharmacology, Military Medical Academy, Ministry of Defense of Russia; Institute of Genetics of Agricultural Animals, St. Petersburg, Russia.

The lysosomal and associated with plasmatic membrane sialidase activity in tumor cells of rhabdomyosarcoma RA-23 clones with high and low metastatic potential was studied in the paper. The clones with low lysosomal sialidase activity were characterized with high metastatic potential.

*Key words:* sialidase, sialidase associated with plasmatic membrane, tumor cells, rhabdomyosarcoma RA-23.

Считается, что изменение количества сиаловых кислот, которые являются структурным компонентом как гликопротеинов, так и гликофинголипидов, может влиять на злокачественные характеристики опухолевых клеток [14, 17]. Как известно, сиалоко-ньюгаты располагаются не только в плазматической мембране, но и в связи с внутриклеточными мембранами и органеллами, например микротрубочками и промежуточными филламентами. Так, например, выявлено, что повышенная деградация ряда гликофинголипидов (ганглиозидов) приводит к функциональным изменениям цитоскелета, что, в частности, влияет на подвижность опухолевых клеток [16, 18]. Изменение уровня связанных с плазматической мембраной сиаловых кислот обуславливает снижение адгезивности опухолевых клеток к коллагену 4-го типа и фибронектину [4, 5]. Деградация сиалоко-ньюгатов контролируется клеточными ферментами, получив-

шими общее название *сиалидазы*. К настоящему времени у млекопитающих выявлено не менее четырех типов сиалидаз, которые различаются по своей внутриклеточной локализации и субстратной специфичности. Активность различных типов сиалидаз отличается в разных органах и тканях, что указывает на важность этих ферментов в физиологических процессах [8]. Так, например, дифференцировка клеток поперечнополосатой мускулатуры сопровождается повышением активности сиалидазы, локализуемой в цитозоле, а повышение активности сиалидазы, ассоциированной с плазматической мембраной клетки, является маркером дифференцировки нейронов [15, 16]. Повышенная активность лизосомальной сиалидазы может регулировать не только количественный, но и качественный состав сиалоко-ньюгатов, в том числе и на плазматической мембране клетки. Лектины RCA и PNA, которые специфически выяв-



ляют на гликопротеинах последовательности «галактоза–N–ацетил–глюкозамин» и «галактоза–N–ацетил–галактозамин», продемонстрировали повышенное связывание с плазматической мембраной клеток меланомы В16, подвергнутых трансфекции вектором, несущим кДНК гена лизосомальной сиалидазы. Повышенная активность лизосомальной сиалидазы в клеточной линии 3У1 злокачественных фибробластов крысы супрессировала метастазирование опухолевых клеток [9].

Ранее нами было выявлено, что *in vivo* клетки опухолевых клонов рабдомиосаркомы РА-23 крыс с высоким уровнем кариотипической нестабильности характеризовались пониженным метастатическим потенциалом [1, 2]. В связи с этим представлялось важным сравнить активность лизосомальной сиалидазы и сиалидазы, ассоциированной с плазматической мембраной, в клетках опухолевых клонов рабдомиосаркомы РА-23 крыс с различным метастатическим потенциалом.

#### МЕТОДИКА

Отбор клеток опухолевых клонов перевивной органотропной рабдомиосаркомы РА-23 крыс на повышенную и пониженную частоту кариотипических нарушений и определение метастатического потенциала проводили по схеме, представленной ранее [3]. Определение активности лизосомальной сиалидазы в клетках проводили следующим образом: опухолевые клоны (n=10) гомогенизировали в калийфосфатном буфере (10 мМ) при +4°C: 0,25 М сахараза, 1 мМ ЭДТА. Фенилметилсульфонилфлюорид в концентрации 0,2 мМ был добавлен непосредственно перед гомогенизацией. Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. Далее супернатант отделяли (фракция I) и 1 мл полученной фракции I пипетировали и центрифугировали в течение 1 ч при 40000 об/мин при +4°C. Супернатант отбрасывали, а полученный осадок (фракция II) дополнительно пипетировали в небольшом объеме (220 мкл) в буфере для гомогенизации. Активность лизосомальной сиалидазы определяли против 4-метилумбеллиферил-N-ацетилнейраминовой кислоты в конечной концентрации 2 мМ. Реакционная смесь, конечный объем которой составлял 200 мкл, также содержала ацетат натрия (рН 4,6 или 5,5). После инкубации при 37°C в течение 1–2 ч реакцию останавливали добавлением 2,5 мл глицинового буфера (0,25 М глицин-NaOH, рН 10,4) и проводили флюорометрическое измерение продукта реакции 4-умбеллиферона (450 нм).

Активность сиалидазы, ассоциированной с плазматической мембраной, определяли против смеси ганглиозидов (конечная концентрация 0,5 мг/мл). Общий объем реакционной смеси составлял 100 мкл и состоял из следующих компонентов: Тритон X-100

(0,1%), бычий сывороточный альбумин (1 мг/мл) и 0,025 М ацетат натрия (рН 4,6) и образца, содержащего фермент (50 мкл включительно). После инкубации при 37°C (при умеренном встряхивании) в пробирки добавляли 50 мкл метапериодата натрия (0,6%), энергично перемешивали и инкубировали при комнатной температуре в течение 20 мин. После инкубации с метапериодатом натрия в пробирки добавляли арсенит натрия объемом 0,5 мл (10%). Далее добавляли 1,5 мл, энергично перемешивали и немедленно переносили в кипящую воду на 15 мин, после чего немедленно охлаждали в воде, добавляли циклогексан объемом 1,5 мл, энергично перемешивали с помощью встряхивателя и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин. По окончании центрифугирования отбирали верхнюю фазу (70 мкл) и измеряли при длине волны 549 нм (Hitachi). Расчет активности фермента производили по методу, предложенному ранее [8]. Активность выражали в единицах на 1 мг белка (ед/мг белка).

В эксперименте с влиянием циклофосфана на метастазирование опухолевых клеток цитостатик вводили внутривенно однократно в дозе 50 мг/кг массы животных. В работе использовали белых беспородных крыс. Статистическую обработку результатов проводили по t-критерию Стьюдента.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После проведения отбора на повышение и отбора на понижение нестабильности генома по признаку частота клеток с интерфазными мостами 5 клонов с высокой (средняя частота интерфазных мостов составила 18,5%) и 5 клонов с низкой (средняя частота – 0,5%) частотой встречаемости интерфазных мостов были протестированы на метастатический потенциал (табл. 1). Видно, что при исследованной

Таблица 1

Метастатический потенциал клеток опухолевых клонов рабдомиосаркомы РА-23 крыс

Характеристика клонов	Средняя ЧКИМ, %	Число сформировавшихся метастазов на крысу
Клоны после отбора на понижение частоты клеток с интерфазными мостами (А 1 – А 5)	0,5	107,1±23,9 (n=15)
Клоны после отбора на повышение частоты клеток с интерфазными мостами (В 1 – В 5)	18,5	28,6±7,5 (n=15)
Клоны после воздействия циклофосфана (С 1 – С 5)	7,3	4,9±2,1 (n=15)

Примечание. n – число животных в каждой группе.

Таблица 2

**Активность лизосомальной сиалидазы в клетках опухолевых клонов рабдомиосаркомы РА-23 с высоким и низким метастатическим потенциалом**

Клоны		Активность лизосомальной сиалидазы (ед/мг белка)	
		Фракция I	Фракция II
С высоким метастатическим потенциалом	A 1	0,802	1,42
	A 2	1,000	1,50
	A 3	0,350	1,40
	A 4	0,001	1,16
	A 5	0,620	1,80
Средние значения		0,555±0,183	1,46±0,10
С низким метастатическим потенциалом	B 1	1,330	2,95
	B 2	0,850	2,60
	B 3	0,700	1,84
	B 4	0,790	2,47
	B 5	1,800	3,71
Средние значения		1,094±0,304	2,71±0,31*

\*Различие достоверно относительно среднего показателя фракции II для клонов с высоким метастатическим потенциалом при  $p < 0,01$ .

Таблица 3

**Активность лизосомальной сиалидазы в клетках опухолевых клонов рабдомиосаркомы РА-23 после введения циклофосфана**

Клоны	Активность лизосомальной сиалидазы (ед/мг белка)	
	Фракция I	Фракция II
C 1	0,903	2,81
C 2	1,297	2,44
C 3	1,101	2,86
C 4	1,131	2,56
C 5	0,954	2,68
Средняя величина	1,077±0,284	2,67±0,29*

\*Различие достоверно при  $p < 0,05$  относительно активности лизосомальной сиалидазы в клетках клонов с высоким метастатическим потенциалом (см. табл. 2).

прививочной дозе (60 тыс. опухолевых клеток на крысу) популяции опухолевых клеток с повышенной нестабильностью генома имели достоверно меньший метастатический потенциал (в среднем  $28,6 \pm 7,5$  клон на крысу), чем популяции клеток с пониженной частотой встречаемости интерфазных мостов ( $107,1 \pm 23,9$ ) ( $p < 0,05$ ). Как показывают результаты (табл. 2) определения активности сиалидазы в грубой лизосомальной фракции (фракция I), более выраженная активность фермента была зарегистрирована в клонах с низким метастатическим потенциалом ( $1,094 \pm 0,304$ ). В грубой лизосомальной фракции, полученной из клонов с высоким показателем метастазирования, активность сиалидазы была ниже, однако достоверных различий между исследованными выборками клонов рабдомиосаркомы РА-23 выявить не удалось ( $p > 0,05$ ). Как показывает проведенное исследование, более 60% активности сиалидазы было зарегистрировано во фракции II (как для выборки клонов с низким, так и для выборки клонов с высоким метастатическим потенциалом), полученной в результате ультрацентрифугирования и, следовательно, являющейся обогащенной лизосомами фракцией. При этом было выявлено, что активность лизосомальной сиалидазы была существенно ( $p < 0,01$ ) ниже в клонах, характеризующихся высоким метастатическим потенциалом, по сравнению с активностью фермента в клонах с низким метастатическим потенциалом,  $1,46 \pm 0,10$  и  $2,71 \pm 0,31$  соответственно. Интересно отметить, что снижение метастатического потенциала при воздействии циклоферона (табл. 1) также сопровождалось повышением активности ( $2,67 \pm 0,29$ ) лизосомальной сиалидазы (табл. 3). Активность лизосомальной сиалидазы в мышечной ткани крыс, подвергшихся обработке циклофосфаном и без лечения, составила  $0,698 \pm 0,237$  и  $0,741 \pm 0,195$  ед/мг белка соответственно.

Поскольку были выявлены различия по активности лизосомальной сиалидазы в контрастных по способности к метастазированию (метастатическому потенциалу) клетках опухолевых клонов рабдомиосаркомы РА-23 как после отбора на повышение и понижение нестабильности генома, так и после введения циклофосфана, мы протестировали клоны, которые подверглись отбору (табл. 4), и клоны от крыс, подвергшихся воздействию циклофосфана (табл. 5), на предмет выявления активности сиалидазы, ассоциированной с плазматической мембраной (САПМ). Результаты показывают (табл. 4), что в клонах с повышенной способностью к метастазированию (высоким метастатическим потенциалом) и в клонах с пониженной способностью к метастазированию активность САПМ составила  $1,040 \pm 0,187$  и  $0,930 \pm 0,167$  ед/мг белка соответственно. Несмотря на тен-

денцию к повышению активности САПМ, среди клонов достоверных различий между исследованными показателями активности САПМ, выявить не удалось ( $p > 0,05$ ). Анализ САПМ в клонах, отпрепарованных у крыс, подвергшихся воздействию циклофосфана (табл. 5), выявил, что активность САПМ составила  $0,962 \pm 0,167$  ед/мг белка. Следует отметить, что активность САПМ в мышечной ткани как у крыс, которые не подвергались воздействию цитостатиков, так и у крыс, которые подверглись воздействию циклофосфана, составила  $0,901 \pm 0,282$  и  $0,911 \pm 0,165$  ед/мг белка соответственно.

Таблица 4

Активность сиалидазы, ассоциированной с плазматической мембраной (САПМ), в клетках опухолевых клонов рабдомиосаркомы RA-23 с высоким и низким метастатическим потенциалом

Клоны		Активность САПМ (ед/мг белка)
С высоким метастатическим потенциалом	A 1	1,20
	A 2	0,63
	A 3	0,84
	A 4	0,75
	A 5	1,51
Средние значения		0,986±0,162
С низким метастатическим потенциалом	B 1	1,24
	B 2	1,06
	B 3	0,42
	B 4	0,53
	B 5	1,13
Средние значения		0,876±0,167

Таблица 5

Активность сиалидазы, ассоциированной с плазматической мембраной (САПМ), в клетках опухолевых клонов рабдомиосаркомы RA-23 после введения циклофосфана

Клоны	Активность САПМ (ед/мг белка)
C 1	1,04
C 2	0,91
C 3	0,84
C 4	1,13
C 5	0,89
Средняя величина	0,962±0,167

#### ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

Следует отметить, что искусственным отбором на повышение и понижение частоты встречаемости клеток с интерфейсными мостами удалось затронуть комплекс признаков, которые, возможно, характеризуют уровень частоты мутаций по определенным генам, участвующим в метаболизме (как синтезе, так и гидролизе) гликолипидов и олигосахаридов. Корреляция между метастатическим потенциалом и, например, количеством сиаловых кислот, связанных с молекулами плазматической мембраны, была продемонстрирована для меланомы B16 Т-клеточной лимфомы [6, 19]. Снижение количества сиаловых кислот в составе ряда гликопротеинов и падение метастатического потенциала было зарегистрировано для WGA-резистентных клонов опухолевых клеток меланомы B16 [17]. Считается, что определенные олигосахара могут драматически влиять на метастазирование [14]. Вместе с тем в исследовании, проведенном на клетках опухолевых клонов меланомы B16, подвергнутых трансфекции кДНК гена лизосо-

мальной сиалидазы, не было зарегистрировано значимых различий по уровню сиалоконъюгатов между клонами с высоким и низким метастатическим потенциалом [18]. Показано, что изменение в клетках лимфомы мыши уровня связанных с плазматической мембраной сиаловых кислот обуславливает снижение адгезивности опухолевых клеток к коллагену 4-го типа и фибронектину [4, 5]. Повышенная активность лизосомальной сиалидазы может регулировать не только количественный, но и качественный состав сиалоконъюгатов, главным образом, на плазматической мембране клетки. Лектины RCA и PNA, которые специфически выявляют на гликопротеинах последовательности «галактоза-N-ацетил-глюкозамин» и «галактоза-N-ацетил-галактозамин», повышено связываются с плазматической мембраной клеток меланомы B16, подвергнутых трансфекции вектором, несущим кДНК гена лизосомальной сиалидазы [9]. Данный эксперимент указывает, что активность лизосомальной сиалидазы взаимосвязана со снижением молекул сиаловой кислоты на плазматической мембране, что, по-видимому, является одной из причин снижения метастатических характеристик клонов, подвергнутых трансфекции. Этими же авторами в клетках с повышенной активностью лизосомальной сиалидазы был обнаружен белок с молекулярной массой 83 кДа, который рассматривают как наиболее вероятную мишень на плазматической мембране. Интересно отметить, что клетки клонов меланомы B16 с пониженным метастатическим потенциалом были более чувствительны к апоптотическим стимулам по сравнению с клетками клонов с высоким метастатическим потенциалом. При этом наиболее выраженный эффект достигался, когда клетки подвергались стрессовому воздействию, например, культивирование опухолевых клеток проводили в среде, истощенной по ЭТС. Как показывают пробы с лектинами, не только гликопротеин с молекулярной массой 83 кДа, но и гликопротеины с молекулярной массой 75 и 85 кДа могут являться молекулами, количество сиаловых кислот на которых регулируется активностью лизосомальной сиалидазы [10, 11, 13]. При этом было показано, что гликопротеин с молекулярной массой 78 кДа может функционировать как саморегулирующийся фактор, обуславливающий подвижность клеток [12]. Повышенная активность лизосомальной сиалидазы в клеточной линии 3Y1 злокачественных фибробластов крысы супрессировала метастазирование опухолевых клеток [9]. Интересно отметить, что трансфекция данной клеточной линии вектором с кДНК гена v-fos, индуцировала еще более значимое снижение активности лизосомальной сиалидазы и повышение злокачественности опухолевых клеток. Нами была проанализирована также активность сиалидазы, ассоциированной с плазматической мембраной, в клонах с высоким и низким метастатическим потенциалом. Однако по активности САПМ значимых различий между клона-

ми, контрастными по метастатическому потенциалу, зарегистрировать не удалось. По-видимому, частота нестабильности генома при отборе опухолевых клеток на повышение частоты встречаемости интерфазных мостов возрастает в такой степени, что изменения в активности САПМ не успевают сформироваться прежде, чем происходит вымирание клеток опухолевых клонов. С другой стороны, известно, что взаимосвязь между нестабильностью генома и функциональными изменениями опухолевых клеток, характеризующими злокачественность, является справедливой лишь для определенных этапов прогрессии злокачественных опухолей. При использовании линий, злокачественность которых была повышена с помощью искусственного отбора [7], положительная корреляция между злокачественностью и нестабильностью генома может отсутствовать, а для линий, селективных на "сверхзлокачественность", может также наблюдаться обратная зависимость между злокачественностью и нестабильностью генома [2]. Как показывают полученные результаты, изменение активности лизосомальной сиалидазы является не индивидуальным, а групповым. Следовательно, распределение популяций клонов РА-23 по разной активности лизосомальной сиалидазы прямо характеризует гетерогенность клоногенных клеток по способности давать клоны-потомки с разным уровнем активности лизосомальной сиалидазы.

Таким образом, повышенное содержание молекул сиаловой кислоты на гликопротеинах клеточной мембраны способствует повышенному метастазированию опухолевых клеток, тогда как высокая активность лизосомальной сиалидазы может приводить к повышенному метаболизму сиалоконъюгатов в лизосомах клетки, снижая метастатический потенциал злокачественных опухолей.

### Литература

1. Кравцов В. Ю., Гужова И. В., Каминская Е. В., Ильинских Н. Н., Вахтин Ю. Б. Нестабильность генома и метастатический потенциал клеток рабдомиосаркомы РА-23 крыс // Доклады АН СССР. 1990. Т. 310. № 5. С. 1239–1241.
2. Кравцов В. Ю., Прошин С. Н., Яковлев А. Ф., Каминская Е. В., Вахтин Ю. Б. Мосты и многополюсные митозы в популяциях клеток рабдомиосаркомы РА-23 крыс // Бюл. эксп. биол. и мед. 1997. Т. 123. № 5. С. 569–572.
3. Прошин С. Н., Кравцов В. Ю., Яковлев А. Ф., Каминская Е. В., Вахтин Ю. Б. Селекция *in vivo* по признаку "частота клеток с мостами" в клеточных популяциях рабдомиосаркомы РА-23 крыс // Генетика. 1996. Т. 32. № 3. С. 352–356.
4. Dennis J. W., Waller C., Timpl R., Schirmacher V. Surface sialic acid reduces attachment of metastatic tumor cell to collagen type IV and fibronectin // Nature (Lond.). 1982. Vol. 300. P. 274–276.
5. Dennis J. W., Lafarté S., Waghorne C., Breitman M. L., Kerbel R. S.  $\beta$ 1–6 branching of Asn-linked oligosaccharides is directly associated with metastasis // Science. 1987. Vol. 236. P. 582–585.
6. Fogel M., Altevogt P., Schirmacher V. Metastatic potential severely altered by changes in tumor cell adhesiveness and cell-surface sialylation // J. Exp. Med. 1983. Vol. 157. P. 371–376.
7. Gisselsson D. Chromosomal instability and genomic amplification in bone and soft tissue tumours. Lund University, 2000. 73 p.
8. Hasegawa T., Yamaguchi W., Wada T., Takeda et al. Molecular cloning of mouse ganglioside sialidase and its increased expression in Neuro2a cell differentiation // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. P. 8007–8015.
9. Miyagi T., Tadashi W., Yamaguchi K. Multiple forms of mammalian sialidase and their altered expression in physiological and pathological conditions // Ialobiology and other novel forms of glycosylation / Ed. by Y. Inoue, Y. C. Lee and F. A. Troy. 1999. P. 197–205.
10. Nabi I. R., Raz A. Cell shape modulation alters glycosylation of a metastatic melanoma cell-surface antigen // Int. J. Cancer. 1987. Vol. 40. P. 396–402.
11. Nabi I. R., Raz A. Loss of metastatic responsiveness to cell shape modulation in a newly characterized B16 melanoma adhesive cell variants // Cancer Res. 1988. Vol. 48. P. 1258–1264.
12. Nabi I. R., Watanabe H., Raz A. Identification of B16–F1 melanoma autocrine motility-like factor receptor // Cancer Res. 1990. Vol. 50. P. 409–414.
13. Ota T., Kohno H., Maeda M., Tanino M., Odashima S. Involvement of peanut agglutinin-binding sugar chains in experimental metastasis of B16 melanoma cells // Oncol. Res. 1993. Vol. 5. P. 235–243.
14. Passaniti A., Hart G. W. Cell surface sialylation and tumor metastasis. Metastatic potential of B16 melanoma variants correlated with their relative numbers of specific penultimate oligosaccharide structures // J. Biol. Chem. 1988. Vol. 263. P. 7591–7603.
15. Proshin S., Yamaguchi K., Wada T., Miyagi T. Modulation of neuritogenesis by ganglioside-specific sialidase (Neu 3) in human neuroblastoma NB-1 cells // J. Neuroch. Res. 2002. Vol. 27. P. 841–846.
16. Sato K., Miyagi T. Involvement of an endogenous sialidase in skeletal muscle cell differentiation // Biochem. Biophys. Res. Com. 1996. Vol. 221. P. 826–830.
17. Tao T.-W., Burger M. M. Lectin-resistant variants of mouse melanoma cells. I. Altered metastasizing capacity and tumorigenicity // Int. J. Cancer. 1982. Vol. 29. P. 425–430.
18. Tokuyama S., Moriya S., Taniguchi S.-I. et al. Suppression of pulmonary metastasis in murine B16 melanoma cells by transfection of a sialidase cDNA // Int. J. Cancer. 1997. Vol. 73. P. 410–415.
19. Yogeewaran G., Salk P. Metastatic potential is positively correlated with cell surface sialylation of cultured marine tumor cell lines // Science. 1981. Vol. 212. P. 1541–1516.

Представлена академиком РАМН Ю. В. Лобзиным

## МЕХАНИЗМЫ НИКОТИНОВОЙ ЗАВИСИМОСТИ

СУХАНОВ И. М., ДРАВОЛИНА О. А., ЗВАРТАУ Э. Э., БЕСПАЛОВ А. Ю.

Институт фармакологии им. А. В. Вальдмана Санкт-Петербургского государственного  
медицинского университета им. акад. И. П. Павлова,  
Санкт-Петербург

**Суханов И. М., Драволина О. А., Звартау Э. Э., Беспалов А. Ю.** Механизмы никотиновой зависимости // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 45–54. Институт фармакологии им. А. В. Вальдмана Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург.

Первично-подкрепляющие свойства психоактивных веществ (ПАВ) в значительной степени определяют развитие и поддержание аддиктивного поведения, что подтверждается экспериментальными и клиническими исследованиями таких веществ, как героин, кокаин, алкоголь и др. Однако для никотина, основного психоактивного компонента табака, наличие позитивно-подкрепляющих свойств является необходимым, но не достаточным условием для формирования и поддержания никотиновой зависимости. В настоящем обзоре рассматриваются ключевые механизмы уникального аддиктивного потенциала никотина (первично- и вторично-подкрепляющие свойства, влияние на подкрепляющие свойства других стимулов, негативное подкрепление, адъюнктивное поведение, гипотеза «самотерапии», фармакокинетика). Анализ подкрепляющих свойств «малых» аддиктивных средств, таких как никотин, должен способствовать совершенствованию методов обнаружения аддиктивного потенциала фармакологических средств.

**Ключевые слова:** курение, никотин, подкрепление, никотиновая зависимость, самовведение, синдром дефицита внимания и гиперактивности, шизофрения.

**Sukhanov I. M., Dravolina O. A., Zvartau E. E., Besspalov A. Yu.** Mechanisms of nicotine dependence // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 45–54. Valdman Institute of Pharmacology, Pavlov Medical University, St. Petersburg.

Primary reinforcing effects are thought to be the main mechanism determining the development and maintenance of addictive behavior. Such conventional views are fully supported by significant bodies of experimental and clinical evidence on drug-seeking and taking behaviors in the studies on heroin, cocaine, ethanol, etc. However, for nicotine, the main psychoactive ingredient of tobacco, positive reinforcing effects are necessary but not sufficient for developing and maintaining addictive behaviors. The present review aimed at summarizing the key mechanisms underlying the unique abuse properties of nicotine (primary and secondary reinforcement, interaction with the reinforcing effects of other drug and non-drug stimuli, negative reinforcement, schedule-induced behavior, self-medication hypothesis, pharmacokinetics). It is also argued that understanding the contribution of all factors in nicotine dependence should facilitate optimization of the test batteries designed to detect abuse potential of novel and existing pharmacological agents.

**Key words:** nicotine addiction, tobacco smoking, reinforcement, self-administration, attention deficit and hyperactivity disorders, schizophrenia.

Никотин является основным психоактивным веществом (ПАВ), содержащимся в табачных листьях и ответственным за формирование и поддержание данного вида химической зависимости. Хорошо известно, что табакокурение – один из ведущих факторов риска сердечно-сосудистых и бронхо-легочных заболеваний. Однако его устранение представляет сложную задачу, несмотря на растущую в обществе поддержку и готовность большинства курильщиков в развитых странах отказаться от этой привычки. Зависимость от никотина плохо поддается терапии и легко рецидивирует, поэтому разработка новых и совершенствование существующих методов терапии никотиновой зависимости является одной из приоритетных задач медицинской науки.

Немаловажное значение имеет то, что в состав табака входит несколько сотен химических веществ, многие из которых обладают психотропными свойствами и способны взаимодействовать с никотином,

определяя суммарный аддиктивный потенциал табакокурения [5, 44]. Однако рассмотрение этого вопроса пока преждевременно из-за недостатка данных исследований и необходимости более прицельного изучения биологической активности компонентов табака.

Для большинства ПАВ с аддиктивными свойствами – героин, кокаин, алкоголь – наличие позитивных первично-подкрепляющих свойств является необходимым и достаточным условием для формирования устойчивого поведения поиска и потребления ПАВ. Это положение основано на большом количестве клинических и экспериментальных данных, полученных в опытах на различных видах лабораторных животных (обезьяны, крысы, мыши и др.) и у человека [28, 42, 56].

Среди аддиктивных ПАВ никотин занимает особое положение, так как наличие позитивно-подкрепляющих свойств является необходимым, но не

достаточным условием для формирования и поддержания никотиновой зависимости. Несмотря на то, что сравнительная эффективность позитивных первично-подкрепляющих свойств никотина в эксперименте довольно мала по сравнению с героином или кокаином, распространенность табакокурения позволяет считать, что никотин обладает сильным аддиктивным потенциалом. В настоящей статье авторы делают попытку проанализировать основные факторы, которые определяют аддиктивный потенциал никотина.

### ПОДКРЕПЛЯЮЩИЕ СВОЙСТВА НИКОТИНА

**Позитивные первично-подкрепляющие свойства никотина.** Хорошо известно, что позитивные первично-подкрепляющие стимулы характеризуются способностью увеличивать вероятность повторения поведенческой реакции, которая предшествовала их предъявлению. На этом принципе основаны практически все экспериментальные модели самовведения (СВ) наркотиков, в которых получение наркотика (путем парентеральной инфузии, предъявления жидкой или твердой фармацевтической формы для орального приема или газообразной формы для ингаляционного введения) следует практически сразу же за выполнением определенной поведенческой реакции (например, нажатия на педаль в экспериментах на крысах или обезьянах). Очевидно, что подобные оперантные реакции достаточно точно соответствуют поведению потребления наркотиков человеком в «естественных» условиях. Благодаря этому считается, что модели СВ обладают максимальной валидностью (*face validity*, «внешнее соответствие»), а принцип позитивного подкрепления применим к анализу различных форм аддиктивного поведения.

Действительно, лабораторные животные, а также люди в условиях эксперимента легко обучаются выполнению заранее заданной поведенческой реакции и поддерживают ее в соответствии с законами позитивного подкрепления. Практически все фармакологические агенты, для которых установлен аддиктивный потенциал и которые вызывают лекарственную зависимость у человека (опиаты, психостимулянты, седативные и снотворные, некоторые галлюциногены, алкоголь и т. д.), самовводятся в условиях эксперимента [8, 22, 50, 62, 65]. Общим свойством всех позитивно-подкрепляющих ПАВ (включая никотин и другие аддиктивные вещества) является активация мезокортиколимбической мозговой системы «награды», что проявляется, например, повышением высвобождения дофамина в вентральных отделах полосатого тела и снижением порогов электрической самостимуляции мозга [6, 7].

В настоящее время доказано, что никотин обладает позитивными первично-подкрепляющими свойствами и самовводится обезьянами, крысами и мышами. Однако в ранних работах по изучению СВ никотина получали в основном отрицательные результаты [21, 25]. Позже было установлено, что одним из важных условий выработки внутривенного самовведения никотина служит предварительное обучение животных определенной оперантной реакции (например, нажатиям на педаль или выглядываниям в отверстие) для получения пищевого или водного подкрепления с последующим его замещением на внутривенное введение никотина. Дополнительным условием выработки СВ никотина считается пищевая депривация (ограничение свободного доступа животных к пище вне эксперимента). Было показано, что у крыс, получающих пищу *ad libitum*, реакция СВ никотина не вырабатывается, тогда как животные в условиях пищевой депривации самовводили никотин [43]. Совершенствование методик СВ в последние годы привело к появлению работ, в которых выработка СВ никотина была продемонстрирована у животных без какого-либо предшествующего оперантного опыта или манипуляций с доступом к пище или воде [9].

Стоит отметить, что лабораторные исследования СВ никотина в экспериментах на людях менее убедительны. Так, было показано, что предъявление никотина в виде внутривенных инъекций, жевательной резинки или спрея, содержащих никотин, не способствовало выработке и поддержанию достоверного СВ ни у курильщиков, ни у некурящих [19]. Вместе с тем некоторые авторы полагают [52], что при проведении подобных исследований требуется определенная адаптация к «новой» форме никотина (например, спрею). Действительно, в ряде исследований на людях удалось даже продемонстрировать наличие у никотина эйфоризирующих свойств [53].

На основании вышеизложенного можно сделать вывод о том, что позитивные первично-подкрепляющие свойства никотина отличаются от таковых для традиционных наркотиков и требуют специальных поведенческих методов для их выявления.

Нередко указывают на такую отличительную черту СВ никотина, как низкая частота оперантной реакции и, соответственно, получения инъекций никотина [2, 55]. Эти данные, зачастую ошибочно, принимают за свидетельство низкого аддиктивного потенциала никотина (по сравнению с героином или кокаином). Следует учитывать, что временная структура СВ никотина (как и любого другого вещества) определяется в первую очередь его фармакокинетическими свойствами. Например, период полувыведения никотина у лабораторных крыс составляет около 40 мин, в то время как для кокаина примерно 10 мин.

Поэтому не вызывает удивления тот факт, что для поддержания определенной концентрации кокаина в плазме крови и мозге требуются более частые инъекции, чем для поддержания стабильной концентрации никотина. Более того, введение никотина запускает процессы десенситизации никотиновых рецепторов, что может еще больше увеличивать «рефрактерный» период, отделяющий последовательные реакции СВ никотина.

Такое объяснение низкой частоты СВ никотина полностью согласуется с классическими представлениями о большей эффективности методов СВ для исследования аддиктивного потенциала веществ с относительно коротким периодом полувыведения. Например, ранее были неоднократно отмечены трудности выработки СВ бензодиазепиновых седативных средств с длительным периодом полувыведения [3].

Период полувыведения и десенситизация рецепторов способны объяснить ряд особенностей СВ никотина лабораторными животными, но не разрешают трудностей понимания подкрепляющих свойств никотина у людей. Действительно, в отличие от экспериментов на лабораторных животных, СВ никотина курильщиками характеризуется довольно высокой частотой по сравнению с СВ героина или кокаина соответствующей популяцией зависимых людей. При среднем количестве 10 затяжек на одну сигарету курильщик, потребляющий 20 сигарет в день, получает подкрепление 200 раз. При этом следует отметить, что вдыхание дыма, содержащего никотин, обеспечивает быстрое поступление никотина в кровь и сокращает интервал между поведенческой реакцией (затяжка) и фармакологическим эффектом, повышая эффективность подкрепления. Таким образом, табакокурение имеет важные характеристики, недоступные пока для моделирования в экспериментальных условиях. Кроме того, как уже было отмечено выше, содержание большого количества психоактивных веществ в табаке не позволяет напрямую сравнивать поведение СВ никотина в лабораторных условиях с табакокурением в реальной жизни.

**Позитивные вторично-подкрепляющие свойства никотина.** Важная черта современных методик СВ никотина лабораторными животными – наличие нефармакологических, внешних стимулов, дополнительно подкрепляющих оперантное поведение [39], что не является необходимым условием для выработки и поддержания СВ кокаина или героина. Впервые влияние нефармакологических стимулов на подкрепляющее действие никотина исследовали в лаборатории С. Голдберга [32]. Было показано, что дополнительное введение зрительного стимула и формирование на его основе условного рефлекса второго порядка (т. е. приобретение визуальным стимулом способности подкреплять инструментальное

поведение) значительно увеличивает частоту оперантной реакции при внутривенном СВ никотина. При изъятии из схемы подкрепления зрительного стимула частота инструментального ответа снижалась, несмотря на то, что животные, как и прежде, получали инъекции никотина. Аналогичные результаты были получены и в серии работ лаборатории А. Кэджулы [10, 11, 14, 24]. Комбинация никотина и зрительных стимулов обеспечивала заметно более высокую частоту оперантной реакции (нажатия на педаль), чем просто инъекции никотина [24]. Взаимодействие никотина и зрительных стимулов носило супрааддитивный характер, т. е. эффект был больше, чем сумма эффектов никотина и зрительных стимулов в отдельности. Такой характер взаимодействия никотина с нефармакологическими стимулами исключает объяснение наблюдаемого увеличения поведенческой реакции неспецифическим активирующим действием никотина.

СВ никотина обычно поддерживается при использовании довольно широкого диапазона «разовых» доз этого ПАВ (например, 0,02–0,09 мг/кг [12, 23]), если внутривенные инфузии сопровождаются предъявлением внешних стимулов. В отсутствие нефармакологических стимулов никотин подкрепляет оперантное поведение в более высоком диапазоне доз [13]. Следовательно, можно сделать вывод, что вторично-подкрепляющие свойства никотина не менее важны, чем его первично-подкрепляющие свойства.

Исследования на людях полностью подтверждают этот вывод. Анестезия верхних дыхательных путей местным анестетиком лидокаином резко снижает чувство «удовлетворения» от курения [57]. Аналогичные результаты (снижение чувства «удовольствия» и ощущения «удовлетворенности») могут быть получены, если устранить зрительные и обонятельные стимулы, связанные с курением, для чего используют носовые клипсы и очки с непрозрачными стеклами [4, 54]. Более того, сравнение субъективных эффектов обычных сигарет и сигарет, не содержащих никотина, показало, что для «заядлых» курильщиков деникотинизированные сигареты практически равноценны обычным [59].

Интересно отметить, что, несмотря на важность вторично-подкрепляющих свойств никотина в выработке и поддержании СВ никотина, эффективность традиционных методов для их анализа довольно низка. Например, одним из наиболее популярных подходов является методика условнорефлекторного предпочтения места, основанная на формировании ассоциативной связи между первично-подкрепляющими свойствами фармакологических агентов и обстановкой, в которой осуществляется введение этих агентов. Результаты таких экспериментов с ни-

котином довольно противоречивы, но в целом можно утверждать, что никотин обычно вызывает довольно слабое предпочтение места, только в высоких дозах и с большей вероятностью после того, как была выработана толерантность к его аверсивным эффектам. Эти эксперименты служат напоминанием о том, что никотин обладает большим количеством эффектов помимо подкрепляющих и индивидуальная чувствительность к иным эффектам никотина (например, связанным со стимулирующим влиянием на вегетативную нервную систему) может определять вероятность формирования поведения поиска и потребления никотина.

**Негативные подкрепляющие свойства никотина.** Если к аверсивным свойствам никотина или табачного дыма может быть выработана толерантность, то длительное введение никотина ведет к появлению другого источника аверсивной стимуляции. При хроническом потреблении многих ПАВ формируется зависимость, ключевым проявлением которой является абстинентный синдром (синдром отмены, синдром лишения), проявляющийся симптомами, которые обычно противоположны «острым» эффектам самого вещества. Физическая зависимость от ПАВ в течение долгого времени считалась неотъемлемой характеристикой аддиктивного процесса (до работ Виклера, показавшего независимость позитивно-подкрепляющих свойств наркотиков от их способности вызывать физическую зависимость). Вклад физической зависимости в аддиктивный процесс заключается в том, что введение наркотика устраняет абстинентный синдром. Иными словами, курение может быть связано не столько с позитивно-подкрепляющими свойствами никотина, сколько с неприятными ощущениями, вызванными синдромом отмены при его прекращении [40].

Никотиновый абстинентный синдром, обусловленный прекращением курения, длится от 1 до 10 нед с постепенным исчезновением различных симптомов [36]. Эти симптомы делятся на 2 группы: соматические (брадикардия, ощущение желудочно-кишечного дискомфорта) и аффективные (раздражительность, дисфория, тревожность, сниженная способность к концентрации внимания и влечение к курению) [31, 51, 66].

Несмотря на наличие четких клинических характеристик никотинового абстинентного синдрома, его роль в рецидивах табакокурения признается далеко не всеми [33, 34, 41]. Вероятно, это связано с тем, что, во-первых, выраженность и тяжесть проявлений синдрома отмены никотина значительно слабее, чем у других ПАВ, вызывающих химическую зависимость [38, 61], и, во-вторых, вероятность рецидивирования табакокурения существенно не снижается после угасания абстинентного синдрома.

## ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ЭФФЕКТОВ НИКОТИНА С ФАКТОРАМИ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

**Влияние никотина на подкрепляющие свойства других стимулов.** Экспериментальные условия не позволяют полностью воспроизвести условия, в которых курильщики получают никотин. В частности, это касается воспроизведения социальных и не социальных аспектов окружающей среды, которые не только могут вступать в пространственно-временные соотношения с эффектами никотина, приобретая вторично-подкрепляющие свойства (см. выше), но и могут сами по себе обладать некоторыми подкрепляющими свойствами. Подкрепляющие свойства стимулов окружающей среды (например, социальная обстановка) способны усиливаться под действием никотина, что увеличит вероятность повторения поведения, ведущего к воспроизведению того же набора обстановочных стимулов. Таким образом, формируется порочный круг, поддерживаемый эффектами никотина, направленными на усиление значимости определенных обстановочных стимулов. В подтверждение этого тезиса Э. Донни и его коллеги показали, что никотин, получаемый животными независимо от их поведения во время экспериментальной сессии (без связи с нажатиями на педаль), увеличивает частоту оперантной реакции, подкрепляемой краткосрочными зрительными стимулами [24].

Механизм, посредством которого никотин повышает значимость обстановочных стимулов, изучен мало. Предполагается, что эти эффекты, равно как и первично-подкрепляющие, и вторично-подкрепляющие свойства никотина, связаны с активацией нейронов области вентральной покрышки (в частности, за счет повышения глутаматергического тонуса), что в свою очередь приводит в возбужденное состояние ряд структур в головном мозге, отвечающих за реагирование на предъявление фармакологических и нефармакологических подкрепляющих стимулов [17, 18, 46–48]. В результате синергичного взаимодействия никотина и нефармакологических стимулов в вентральной тегментальной области формируется очаг долговременного возбуждения – явление, которое считается основой процесса обучения и памяти [63].

О способности никотина повышать значимость внешних стимулов свидетельствуют также данные о том, что никотин улучшает внимание [60, 67], в то время как прекращение курения ухудшает способность концентрировать внимание [37]. Нами было исследовано влияние никотина на подкрепляющие свойства стимулов, ранее ассоциированных с пищевым подкреплением, при формировании новой оперантной реакции у крыс. В течение 7 дней предъявление комплекса стимулов (комбинация зрительных и звукового стимулов) сочетали с пищей. Во время заключительного теста крысам предоставляли доступ



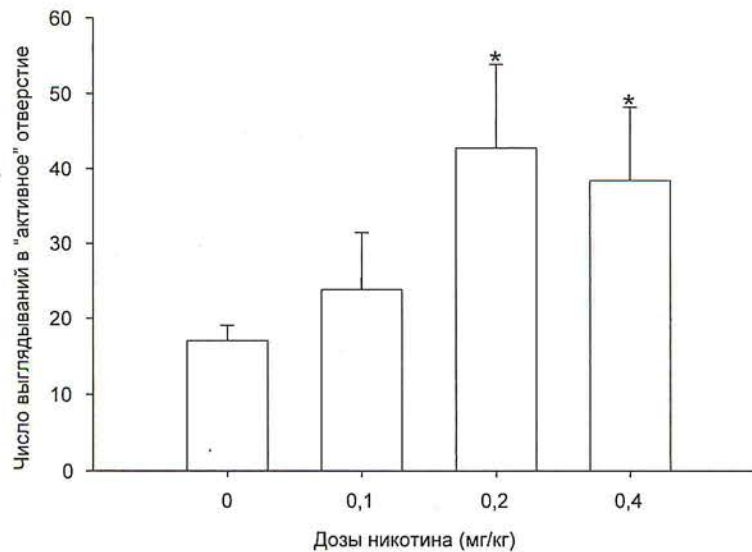


Рис. 1. Влияние никотина на выработку оперантной реакции.

В качестве подкрепляющего раздражителя использовали комплекс стимулов (зажигание лампочек внутри кормушки, выключение света в экспериментальной камере и звуковой сигнал частотой 3 кГц), ранее ассоциированный с получением пищи. Подкрепляющий раздражитель предъявлялся после выполнения оперантной реакции выглядывания в одно («активное») из двух отверстий экспериментальной камеры. Данные представлены как среднее ( $M \pm m$ ) количество выглядываний в «активное» отверстие оперантной камеры. \*  $p < 0,05$  (тест Даннетта) по сравнению с группой животных, получавших растворитель вместо никотина

к двум отверстиям для выглядывания. Одно отверстие обозначали как «активное», т. е. выглядывание в него приводило к предъявлению условного стимула без пищевого подкрепления. Выглядывание в «неактивное» отверстие не приводило ни к каким последствиям. Введение никотина перед тестом статистически значимо увеличивало число выглядываний в «активное» отверстие (рис. 1), т. е. способствовало выработке новой оперантной реакции, где в качестве подкрепления выступал условный стимул, ранее ассоциированный с пищевым подкреплением.

Эти результаты доказывают, что никотин повышает позитивно-подкрепляющие свойства других стимулов, и это взаимодействие может происходить без вовлечения ассоциативных механизмов [24]. В любом случае не вызывает сомнения, что подобные эффекты имеют существенное значение для формирования никотиновой зависимости.

**Влияние альтернативных режимов подкрепления на подкрепляющие свойства никотина.** Аддиктивный потенциал ПАВ не является абсолютной, измеряемой величиной. Его выраженность может зависеть от целого ряда факторов социальной и несоциальной среды. Одним из таких факторов может оказаться периодическое предоставление другого, «конкурирующего» вида подкрепления. Впервые подобное явление было описано Дж. Фальком, показавшим, что определенные режимы пищевого подкрепления могут усиливать вероятность альтернативных непищевых форм поведения, «разрешаемых» данной обстановкой. Самый распространенный пример таких режимов – режимы периодического под-

крепления, в основе которых лежит предъявление подкрепляющего стимула не в связи с поведением человека или подопытного животного, а на основании независимых временных критериев (например, предъявление крысам одной пищевой пеллеты каждые 60 с в течение нескольких часов). На фоне такого режима подкрепления повышается вероятность формирования случайных, «адьюнктивных», «прилагаемых» к данной обстановке форм поведения, порой выраженных чрезмерно [27]. «Адьюнктивное» поведение, его форма, зависит от возможностей, предоставляемых обстановкой. Например, у животных при наличии доступа к питьевой воде на фоне периодически предоставляемого пищевого подкрепления вырабатывается полидипсия. У людей альтернативные возможности, предоставляемые обстановкой, могут, например, регулировать частоту курения. Действительно, в экспериментальных условиях на животных было показано, что схемы периодического подкрепления способствуют быстрой выработке и поддержанию СВ низких доз никотина [64].

Считается, что режимы периодического подкрепления обладают стрессующим действием, а развивающееся на их фоне «адьюнктивное» поведение оказывает нивелирующее влияние на стресс [58]. Учитывая то, что именно чувствительность к стрессогенным факторам во многом определяет вероятность рецидивирования таких видов аддиктивного поведения, как табакокурение, периодическое, неконтролируемое подкрепление может противодействовать угашению и обеспечивать восстановление поведения поиска и потребления никотина (рис. 2).

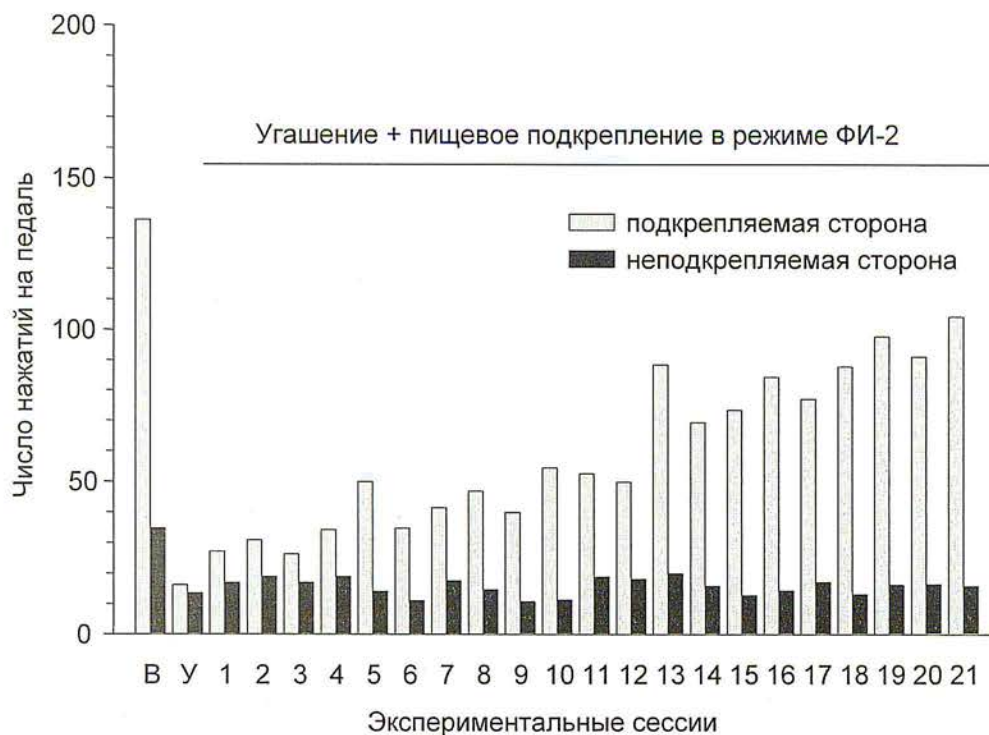


Рис. 2. Восстановление угашенного поведения, ранее ассоциированного с самовведением (СВ) никотина, при периодическом пищевом подкреплении.

В фазе выработки СВ крыс обучали выглядывать в отверстие «подкрепляемой» стороны экспериментальной камеры для получения внутривенных инфузий раствора никотина (0,03 мг/кг/инфузия; 12 двухчасовых экспериментальных сессий). Выработанное поведение СВ угашали в течение 12 экспериментальных сессий. В последующих сессиях по угашению поведения СВ никотина животным предоставляли пищевое подкрепление в режиме ФИ-2 (через фиксированный временной интервал продолжительностью 2 мин).

В – среднее ( $M \pm m$ ) число выглядываний в отверстия экспериментальной камеры во время последней сессии выработки СВ никотина (режим ФС-5, т.е. фиксированное соотношение, при котором подкреплялась каждая пятая оперантная реакция, с последующим «тайм-аут»-периодом в течение 60 с).

У – среднее число выглядываний в отверстия экспериментальной камеры во время последней сессии угашения поведения, прежде ассоциированного с СВ никотина.

#### ГИПОТЕЗА «САМОТЕРАПИИ»

Фармакологические эффекты никотина связаны с взаимодействием с различными подтипами Н-холинорецепторов, среди которых наибольший интерес в плане никотиновой зависимости вызывают: 1) рецепторы, содержащие субъединицы  $\alpha 4$  и  $\beta 2$ , с которыми связывают подкрепляющие свойства никотина; 2) рецепторы, содержащие субъединицу  $\alpha 7$ , с которой связаны прокогнитивные эффекты никотина [35, 49]. В настоящее время активно разрабатываются селективные агонисты  $\alpha 7$ -содержащих рецепторов, от которых ожидают эффективности в лечении когнитивных расстройств, связанных с шизофренией.

Эти исследования заставили обратить внимание на то обстоятельство, что в некоторых странах до 90% больных шизофренией курят, в то время как среди здоровых людей курильщики составляют только около 30%. Было установлено, что за счет глубокого вдыхания дыма больные шизофренией потребляют больше никотина, чем здоровые курильщики, а прекращение курения у больных психическими

расстройствами приводит к усилению симптомов заболеваний [16, 31].

Одной из нейрофизиологических характеристик шизофрении являются дефекты механизмов, регулирующих восприятие и обработку внешних раздражителей, что выражается в сенсорной «перегрузке» ЦНС, неспособности справиться с повышенным поступлением информации из внешней среды. Можно предположить, что никотин воздействует на этот процесс посредством стимуляции рецепторов, содержащих субъединицу  $\alpha 7$ . Это предположение подтверждается результатами экспериментов, в которых антагонисты соответствующего подтипа никотиновых рецепторов  $\alpha$ -бунгаротоксин [45] и метилликаонитин [1, 20] вызывают сенсомоторный дефицит у подопытных животных. Кроме того, была доказана генетическая связь сенсорного дефицита с дефектом хромосомного локуса, содержащего ген субъединицы  $\alpha 7$  [29, 30, 39]. Следовательно, можно предположить, что терапевтическое действие никотина у больных шизофренией основано на связывании с этими рецепторами. Этими же механизмами может

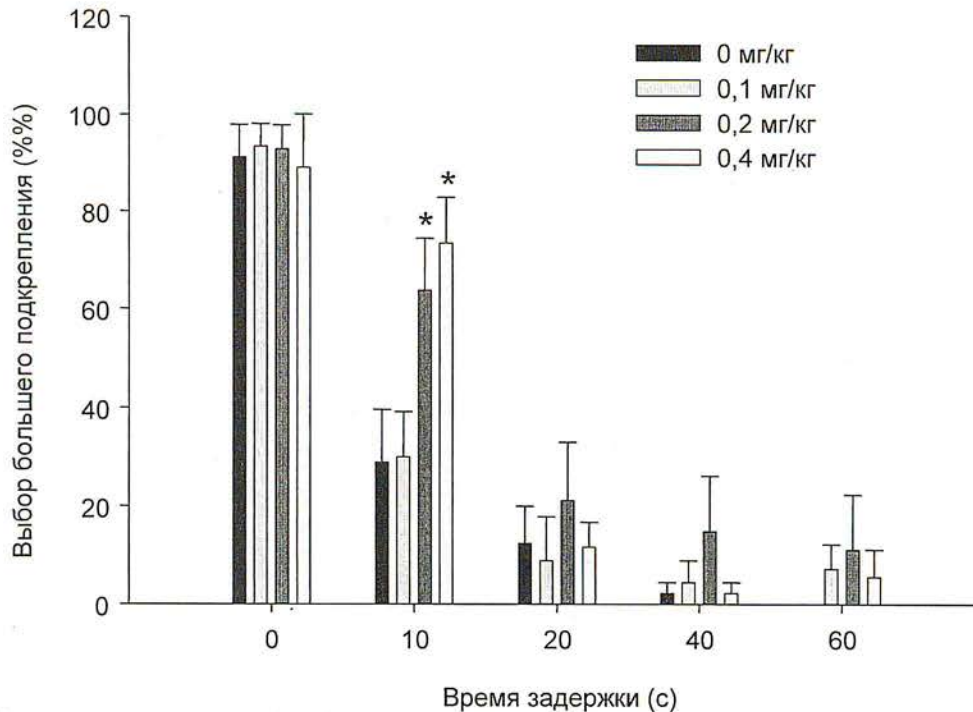


Рис. 3. Изменение вероятности выбора большего подкрепления при отсроченном предоставлении подкрепления (delay-discounting task) под действием никотина.

Животных обучали нажимать на педаль экспериментальной камеры для получения пищевого подкрепления. При нажатии на одну из педалей подкрепление (1 пеллета) предоставляли без задержки. При нажатии на другую педаль животные получали большее подкрепление (4 пеллеты) с временной задержкой (0, 10, 20, 40 или 60 с). Перед тестом вводили никотин (0,1–0,4 мг/кг) или его растворитель. \*  $p < 0,05$  (тест Даннетта) по сравнению с группой животных, получавших растворитель вместо никотина

объясняется улучшение внимания при использовании никотина у других категорий больных с когнитивными нарушениями [15].

Гипотеза «самотерапии» находит подтверждение и в экспериментах на лабораторных животных. Например, в нашей лаборатории были получены данные, указывающие на благоприятное влияние никотина на один из аспектов «исполнительного» когнитивного контроля – импульсивность. Под импульсивностью обычно понимают склонность совершать действия, которые плохо продуманы, преждевременны, чрезмерно рискованны, не соответствуют ситуации и часто имеют нежелательные последствия. Нами были использованы два метода, оценивающие разные аспекты импульсивности [26]: «импульсивный выбор» и «импульсивное действие» (поведенческое растормаживание). Модель обесценивания подкрепления при отсроченном предоставлении основана на возможности выбора между меньшим (1 пищевая пеллета), но немедленным подкреплением и большим (4 пищевые пеллеты), но отсроченным (с задержкой от 0 до 60 с) подкреплением. При кратковременной задержке животные выбирают большее подкрепление. Однако при увеличении задержки наблюдается рост вероятности выбора малого подкрепления (т. е. «импульсивный выбор»). Никотин значи-

тельно снижал импульсивный выбор при задержке подкрепления, равной 10 с (рис. 3).

Методика павловского «самоформирования» (Pavlovian autoshaping) оперантной реакции также позволяет оценить некоторые аспекты импульсивного поведения. Так, кратковременное появление в экспериментальной камере педали (предъявление условного стимула), за которым, независимо от действий животного, следует пищевое подкрепление (безусловный стимул), приводит к тому, что животные начинают реагировать на предоставляемый условный стимул, контактируя с выезжающей педалью, что расценивается как импульсивное реагирование («импульсивное действие»). Было показано, что введение никотина предотвращало «самоформирование» оперантной реакции (рис. 4).

Таким образом, указанная «дополнительная» фармакологическая активность никотина может способствовать уменьшению симптомов заболевания у психиатрических больных, а табакокурение может быть своеобразной формой самолечения.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Формирование и поддержание табакокурения – сложный и многогранный процесс, изученный

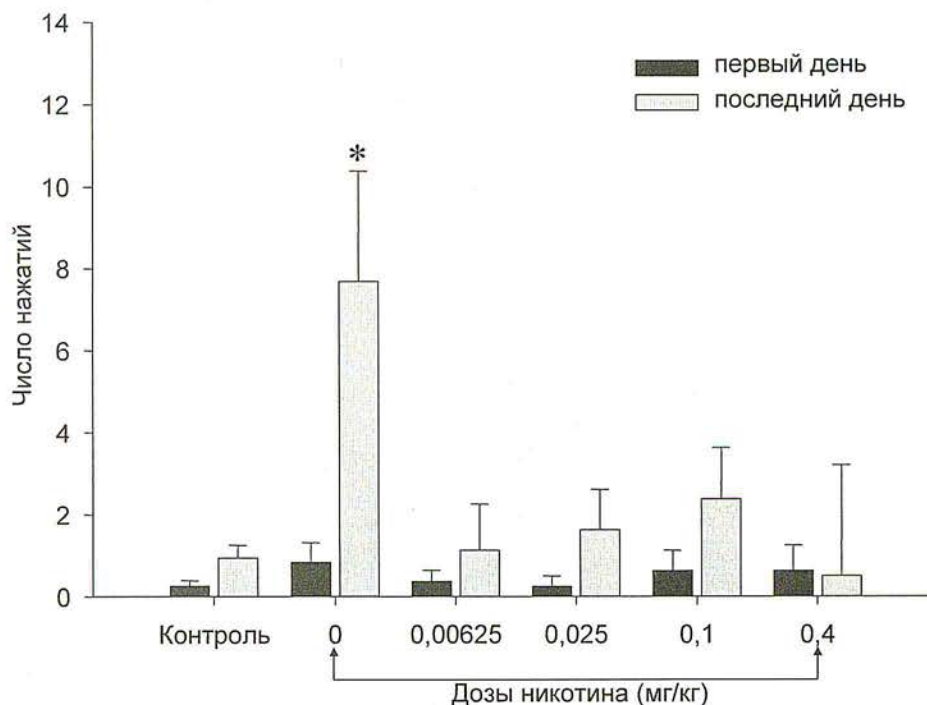


Рис. 4. «Самоформирование» оперантной реакции (autoshaping task) под влиянием никотина. Данные представлены как среднее ( $M \pm m$ ) количество нажатий на педаль оперантной камеры за экспериментальную сессию. Контрольной группе животных пищевое подкрепление предоставлялось случайным образом, независимо от появления педали в оперантной камере. Остальные пояснения в тексте

далеко не полностью. Хотя в состав табака входит несколько сотен химических веществ, несомненно, что никотин играет важнейшую роль как наиболее активное ПАВ этого растения. В отличие от большинства «классических» наркотиков (опиоиды, кокаин, амфетамины), аддиктивный потенциал никотина определяется не только участием в процессах положительного и отрицательного подкрепления. Имеющиеся данные позволяют выделить дополнительные факторы, каждый из которых не способен в полной мере объяснить особенности никотиновой зависимости, но взаимодействие которых определяет распространенность, устойчивость и рецидивирование табакокурения. Способность никотина влиять на подкрепляющие свойства иных стимулов (в первую очередь социальных), наличие у этого ПАВ прокогнитивных свойств, способствующих «терапевтическому» табакокурению при патологии, сопряженной с когнитивными расстройствами, с одной стороны, расширяет наши представления о поведенческих механизмах химической зависимости, а с другой — позволяет наметить новые направления изыскания и изучения новых средств терапии аддиктивных расстройств. Кроме того, всесторонний анализ с помощью методов поведенческой фармакологии не только подкрепляющих, но и прокогнитивных свойств ПАВ с незначительным подкрепляющим потенциалом типа никотина должен способствовать повышению чувствительности и специфичности доклинических протоколов выявления аддиктивного потенциала фармакологических средств.

#### Литература

1. Alkondon M., Pereira E. F., Wonnacott S. and Albuquerque E. X. Blockade of nicotinic currents in hippocampal neurons defines methyllycaconitine as a potent and specific receptor antagonist // *Mol. Pharmacol.* 1992. Vol. 41. № 4. P. 802–808.
2. Ator N. A. and Griffiths R. R. Nicotine self-administration in baboons // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1983. Vol. 19. № 6. P. 993–1003.
3. Ator N. A. and Griffiths R. R. Self-administration of barbiturates and benzodiazepines: a review // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1987. Vol. 27. № 2. P. 391–398.
4. Baldinger B., Hasenfratz M. and Battig K. Switching to ultralow nicotine cigarettes: effects of different tar yields and blocking of olfactory cues // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1995. Vol. 50. № 2. P. 233–239.
5. Berlin I. and Anthenelli R. M. Monoamine oxidases and tobacco smoking // *Int. J. Neuropsychopharmacol.* 2001. Vol. 4. № 1. P. 33–42.
6. Beshpalov A., Dravolina O., Belozertseva I. et al. Lowered brain stimulation reward thresholds in rats treated with a combination of caffeine and N-methyl-D-aspartate but not alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole propionate or metabotropic glutamate receptor-5 receptor antagonists // *Behav. Pharmacol.* 2006. Vol. 17. № 4. P. 295–302.
7. Beshpalov A., Lebedev A., Panchenko G. and Zvartau E. Effects of abused drugs on thresholds and breaking points of intracranial self-stimulation in rats // *Eur. Neuropsychopharmacol.* 1999. Vol. 9. № 5. P. 377–383.

8. Broadbear J. H., Winger G. and Woods J. H. Self-administration of fentanyl, cocaine and ketamine: effects on the pituitary-adrenal axis in rhesus monkeys // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2004. Vol. 176. № 3–4. P. 398–406.
9. Brower V. G., Fu Y., Matta S. G. and Sharp B. M. Rat strain differences in nicotine self-administration using an unlimited access paradigm // *Brain Res.* 2002. Vol. 930. № 1–2. P. 12–20.
10. Caggiula A. R., Donny E. C., Chaudhri N. et al. Importance of nonpharmacological factors in nicotine self-administration // *Physiol Behav.* 2002. Vol. 77. № 4–5. P. 683–687.
11. Caggiula A. R., Donny E. C., White A. R. et al. Environmental stimuli promote the acquisition of nicotine self-administration in rats // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2002. Vol. 163. № 2. P. 230–237.
12. Chaudhri N., Caggiula A. R., Donny E. C. et al. Operant responding for conditioned and unconditioned reinforcers in rats is differentially enhanced by the primary reinforcing and reinforcement-enhancing effects of nicotine // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2006. Vol. 189. № 1. P. 27–36.
13. Chaudhri N., Caggiula A. R., Donny E. C. et al. F. Self-administered and noncontingent nicotine enhance reinforced operant responding in rats: impact of nicotine dose and reinforcement schedule // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2006.
14. Chaudhri N., Caggiula A. R., Donny E. C. et al. Sex differences in the contribution of nicotine and nonpharmacological stimuli to nicotine self-administration in rats // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2005. Vol. 180. № 2. P. 258–266.
15. Craddock N. and Jones I. Genetics of bipolar disorder // *J. Med. Genet.* 1999. Vol. 36. № 8. P. 585–594.
16. Dalack G. W., Becks L., Hill E. et al. Nicotine withdrawal and psychiatric symptoms in cigarette smokers with schizophrenia // *Neuropsychopharmacology*. 1999. Vol. 21. № 2. P. 195–202.
17. Dani J. A. and de Biasi M. Cellular mechanisms of nicotine addiction // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2001. Vol. 70. № 4. P. 439–446.
18. Dani J. A., Ji D. and Zhou F. M. Synaptic plasticity and nicotine addiction // *Neuron*. 2001. Vol. 31. № 3. P. 349–352.
19. Dar R. and Frenk H. Do smokers self-administer pure nicotine? A review of the evidence // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2004. Vol. 173. № 1–2. P. 18–26.
20. Davies A. R., Hardick D. J., Blagbrough I. S. et al. Characterisation of the binding of [3H]methyllycaconitine: a new radioligand for labelling alpha 7-type neuronal nicotinic acetylcholine receptors // *Neuropharmacology*. 1999. Vol. 38. № 5. P. 679–690.
21. Deneau G. Nicotine self-administration in monkeys // *Ann. NY Acad. Sci.* 1967. Vol. 142. P. 277–279.
22. Deneau G., Yanagita T. and Seevers M. H. Self-administration of psychoactive substances by the monkey // *Psychopharmacologia*. 1969. Vol. 16. № 1. P. 30–48.
23. Donny E. C., Caggiula A. R., Rose C. et al. Differential effects of response-contingent and response-independent nicotine in rats // *Eur. J. Pharmacol.* 2000. Vol. 402. № 3. P. 231–240.
24. Donny E. C., Chaudhri N., Caggiula A. R. et al. Operant responding for a visual reinforcer in rats is enhanced by noncontingent nicotine: implications for nicotine self-administration and reinforcement // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2003. Vol. 169. № 1. P. 68–76.
25. Dougherty J., Miller D., Todd G. and Kostenbauder H. B. Reinforcing and other behavioral effects of nicotine // *Neurosci. Biobehav. Rev.* 1981. Vol. 5. № 4. P. 487–495.
26. Evenden J. L. Varieties of impulsivity // *Psychopharmacology (Berl.)*. 1999. Vol. 146. № 4. P. 348–361.
27. Falk J. L. Production of polydipsia in normal rats by an intermittent food schedule // *Science*. 1961. Vol. 133. P. 195–196.
28. Fibiger H. C., Phillips A. G. and Brown E. E. The neurobiology of cocaine-induced reinforcement // *Ciba Found. Symp.* 1992. Vol. 166. P. 96–111.
29. Freedman R., Coon H., Myles-Worsley M. et al. Linkage of a neurophysiological deficit in schizophrenia to a chromosome 15 locus // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1997. Vol. 94. № 2. P. 587–592.
30. Freedman R., Leonard S., Gault J. M. et al. Linkage disequilibrium for schizophrenia at the chromosome 15q13-14 locus of the alpha7-nicotinic acetylcholine receptor subunit gene (CHRNA7) // *Am. J. Med. Genet.* 2001. Vol. 105. № 1. P. 20–22.
31. Glassman A. H. and Covey L. S. Future trends in the pharmacological treatment of smoking cessation // *Drugs*. 1990. Vol. 40. № 1. P. 1–5.
32. Goldberg S. R. and Spealman R. D. Maintenance and suppression of behavior by intravenous nicotine injections in squirrel monkeys // *Fed. Proc.* 1982. Vol. 41. № 2. P. 216–220.
33. Gritz E. R., Carr C. R. and Marcus A. C. The tobacco withdrawal syndrome in unaided quitters // *Br. J. Addict.* 1991. Vol. 86. № 1. P. 57–69.
34. Hajek P. and Belcher M. Dream of absent-minded transgression: an empirical study of a cognitive withdrawal symptom // *J. Abnorm. Psychol.* 1991. Vol. 100. № 4. P. 487–491.
35. Hashimoto K., Iyo M., Freedman R. and Stevens K. E. Tropisetron improves deficient inhibitory auditory processing in DBA/2 mice: role of alpha 7 nicotinic acetylcholine receptors // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2005. Vol. 183. № 1. P. 13–19.
36. Hughes J. R. Tobacco withdrawal in self-quitters // *J. Consult. Clin. Psychol.* 1992. Vol. 60. № 5. P. 689–697.
37. Hughes J. R., Keenan R. M. and Yellin A. Effect of tobacco withdrawal on sustained attention // *Addict. Behav.* 1989. Vol. 14. № 5. P. 577–580.
38. Isola R., Vogelsberg V., Wemlinger T. A. et al. Nicotine abstinence in the mouse // *Brain Res.* 1999. Vol. 850. № 1–2. P. 189–196.

39. Kaufmann C. A., Suarez B., Malaspina D. et al. NIMH Genetics Initiative Millenium Schizophrenia Consortium: linkage analysis of African-American pedigrees // *Am. J. Med. Genet.* 1998. Vol. 81. № 4. P. 282–289.
40. Kenny P. J. and Markou A. Neurobiology of the nicotine withdrawal syndrome // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2001. Vol. 70. № 4. P. 531–549.
41. Killen J. D., Fortmann S. P., Kraemer H. C. et al. Who will relapse? Symptoms of nicotine dependence predict long-term relapse after smoking cessation // *J. Consult. Clin. Psychol.* 1992. Vol. 60. № 5. P. 797–801.
42. Kuhar M. J., Ritz M. C. and Boja J. W. The dopamine hypothesis of the reinforcing properties of cocaine // *Trends Neurosci.* 1991. Vol. 14. № 7. P. 299–302.
43. Lang W. J., Latiff A. A., McQueen A. and Singer G. Self administration of nicotine with and without a food delivery schedule // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1977. Vol. 7. № 1. P. 65–70.
44. Lewis A., Miller J. H. and Lea R. A. Monoamine oxidase and tobacco dependence // *Neurotoxicology.* 2007. Vol. 28. № 1. P. 182–195.
45. Luntz-Leybman V., Bickford P. C. and Freedman R. Cholinergic gating of response to auditory stimuli in rat hippocampus // *Brain Res.* 1992. Vol. 587. № 1. P. 130–136.
46. Mansvelder H. D., De Rover M., McGehee D. S. and Brussaard A. B. Cholinergic modulation of dopaminergic reward areas: upstream and downstream targets of nicotine addiction // *Eur. J. Pharmacol.* 2005. Vol. 480. № 1–3. P. 117–123.
47. Mansvelder H. D., Keath J. R. and McGehee D. S. Synaptic mechanisms underlie nicotine-induced excitability of brain reward areas // *Neuron.* 2002. Vol. 33. № 6. P. 905–919.
48. Mansvelder H. D. and McGehee D. S. Cellular and synaptic mechanisms of nicotine addiction // *J. Neurobiol.* 2002. Vol. 53. № 4. P. 606–617.
49. Martin L. F., Kem W. R. and Freedman R. Alpha-7 nicotinic receptor agonists: potential new candidates for the treatment of schizophrenia // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2004. Vol. 174. № 1. P. 54–64.
50. Olsson I. A. and Sherwin C. M. Behaviour of laboratory mice in different housing conditions when allowed to self-administer an anxiolytic // *Lab. Anim.* 2006. Vol. 40. № 4. P. 392–399.
51. Parrott A. C. Cigarette smoking: effects upon self-rated stress and arousal over the day // *Addict. Behav.* 1993. Vol. 18. № 4. P. 389–395.
52. Perkins K. A. Response to Dar and Frenk (2004), «Do smokers self-administer pure nicotine? A review of the evidence» // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2004. Vol. 175. № 2. P. 256–258.
53. Perkins K. A., Fonte C., Blakesley-Ball R. and Wilson A. S. The discriminative stimulus, subjective, cardiovascular, and reinforcing effects of nicotine as a function of light physical activity // *Nicotine. Tob. Res.* 2005. Vol. 7. № 5. P. 791–800.
54. Perkins K. A., Gerlach D., Vender J. et al. Sex differences in the subjective and reinforcing effects of visual and olfactory cigarette smoke stimuli // *Nicotine. Tob. Res.* 2001. Vol. 3. № 2. P. 141–150.
55. Pickens R. and Thompson T. Cocaine-reinforced behavior in rats: effects of reinforcement magnitude and fixed-ratio size // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1968. Vol. 161. № 1. P. 122–129.
56. Ramsey N. F. and Van Ree J. M. Reward and abuse of opiates // *Pharmacol. Toxicol.* 1992. Vol. 71. № 2. P. 81–94.
57. Rose J. E., Tashkin D. P., Ertle A. et al. Sensory blockade of smoking satisfaction // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1985. Vol. 23. № 2. P. 289–293.
58. Rupp H., Maisch B. and Brilla C. G. Schedule-induced psychological stress and molecular structures of cardiomyocytes // *Am. J. Physiol.* 1997. Vol. 272. № 3. Pt. 2. P. R776–R782.
59. Rusted J. M., Graupner L. and Greenwood K. Methodological considerations in nicotine research: the use of «denicotinised» cigarettes as the control condition in smoking studies // *Psychopharmacology (Berl.)*. 1996. Vol. 125. № 2. P. 176–178.
60. Rusted J. M. and Warburton D. M. Facilitation of memory by post-trial administration of nicotine: evidence for an attentional explanation // *Psychopharmacology (Berl.)*. 1992. Vol. 108. № 4. P. 452–455.
61. Semenova S., Bepalov A. and Markou A. Decreased prepulse inhibition during nicotine withdrawal in DBA/2J mice is reversed by nicotine self-administration // *Eur. J. Pharmacol.* 2003. Vol. 472. № 1–2. P. 99–110.
62. Shaham Y., Shalev U., Lu L., De Wit H. and Stewart J. The reinstatement model of drug relapse: history, methodology and major findings // *Psychopharmacology (Berl.)*. 2003. Vol. 168. № 1–2. P. 3–20.
63. Silva A. J., Rosahl T. W., Chapman P. F. et al. Impaired learning in mice with abnormal short-lived plasticity // *Curr. Biol.* 1996. Vol. 6. № 11. P. 1509–1518.
64. Slifer B. L. and Balster R. L. Intravenous self-administration of nicotine: with and without schedule-induction // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1985. Vol. 22. № 1. P. 61–69.
65. Weerts E. M. and Griffiths R. R. Zolpidem self-injection with concurrent physical dependence under conditions of long-term continuous availability in baboons // *Behav. Pharmacol.* 1998. Vol. 9. № 3. P. 285–297.
66. West R. and Grunberg N. E. Implications of tobacco use as an addiction // *Br. J. Addict.* 1991. Vol. 86. № 5. P. 485–488.
67. Woodson P. P., Baettig K., Etkin M. W. et al. Effects of nicotine on the visual evoked response // *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1982. Vol. 17. № 5. P. 915–920.

Представлена академиком РАМН Ю. Д. Игнатовым

## ПАТОГЕНЕТИЧЕСКИЕ ФАКТОРЫ РИСКА РАЗЛИЧНЫХ ТИПОВ МОЗГОВОГО ИНСУЛЬТА И ИХ ВЛИЯНИЕ НА ПРОГНОЗ ЗАБОЛЕВАНИЯ

*Академик РАМН СКОРОМЕЦ А. А., ШВАРЦМАН Г. И.,  
ФИШМАН Б. Б., ХАЙБУЛЛИН Т. Н.*

*Санкт-Петербургский государственный медицинский университет  
им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург,  
Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И. И. Мечникова,  
Санкт-Петербург,  
Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого,  
Великий Новгород,  
Семипалатинская государственная медицинская академия,  
Семипалатинск, Республика Казахстан*

**Скоромец А. А., Шварцман Г. И., Фишман Б. Б., Хайбуллин Т. Н.** Патогенетические факторы риска различных типов мозгового инсульта и их влияние на прогноз заболевания // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 55–61. Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, 197089; Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург, 195067; Новгородский государственный университет им. Ярослава Мудрого, Великий Новгород, 173020; Семипалатинская государственная медицинская академия, Семипалатинск, 071400, Республика Казахстан.

Проведен анализ патогенетических факторов риска мозгового инсульта у 3112 пациентов, рандомизированных по полу, возрасту и типу инсульта. Выявлен различный ранг факторов риска в зависимости от типа инсульта и пола больных. Для прогноза течения и исхода инсульта использовался индекс отягощения. Показана различная значимость факторов, отягощающих течение разных типов инсультов, с учетом гендерных различий. Отягощающее влияние на прогноз заболевания у мужчин выявлено при наличии постинфарктного кардиосклероза и острого инфаркта миокарда, у женщин – сахарного диабета, острого инфаркта миокарда и пороков сердца.

*Ключевые слова:* мозговой инсульт, патогенетические факторы риска, индекс отягощения.

**Skoromets A. A., Shvartsman G. I., Fisman B. B., Haibulin T. N.** Pathogenetic risk factors of various types of the stroke and their influence on the disease prognosis // Med. Acad. Journ. 2008. T. 8. № 2. P. 55–61. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, 197089; Mechnikov State Medical Academy, St. Petersburg, 195067; Novgorod State University, Velikiy Novgorod, 173020; Semipalatinsk State Medical Academy, Semipalatinsk, 071400, Kazakhstan.

The pathogenetic risk factors of stroke were analyzed in 3112 patients, randomized on a sex, age and type of the stroke. The various rank of risk factors, according to the type of the stroke and sex of the patients, was revealed. Index of burdening was used for the prognosis and exit of the disease. The different importance of burdening factors in different types of stroke was revealed due to gender distinctions of the patients. The postinfarction cardiosclerosis and acute infarction in males and diabetes mellitus, acute infarction and heart defects in females were detected as the most important burdening factors.

*Key words:* stroke, pathogenetic risk factors, index of burdening.

Отмеченный в последние годы рост распространенности сосудистых заболеваний обусловил увеличение частоты острых нарушений мозгового кровообращения. Они являются важнейшей медико-социальной проблемой во всех экономически развитых странах мира, занимая лидирующие места по заболеваемости и смертности во всем мире [12]. Летальность в остром периоде инсульта в России достигает 35%, увеличиваясь на 12–15% к концу первого года после перенесенного инсульта [9]. Многие пациенты имеют сопутствующие заболевания, которые увеличивают тяжесть течения и риск повторного инсульта [1].

Принципиальное значение имеет разработка концепции гетерогенности инсульта, которая обозначила

исключительное многообразие его причин и механизмов, определяющих чрезвычайный полиморфизм структурных поражений головного мозга и клинических проявлений [9].

Целью настоящего исследования явилось изучение особенностей патогенетических факторов риска у больных с различными типами мозгового инсульта с учетом индекса отягощения.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведен анализ 3112 историй болезни пациентов, госпитализированных в острейшем периоде мозгового инсульта (МИ) в неврологическое отделение, 2001–2005 гг. Из них мужчин – 1411 (45,3%),

Характеристика больных

Тип инсульта	Мужчины		Женщины		Всего	
	абс.	%		%	абс.	%
ИИ	1024	45,1	1248	54,9	2272	100,0
ВМК	288	47,4	319	52,6	607	100,0
САК	99	42,5	134	57,5	233	100,0
Итого	1411		1701	54,7	3112	100,0

женщин – 1701 (54,7%) (табл. 1). Диагноз типа МИ подтверждался данными клинико-неврологического осмотра, компьютерной томографией головного мозга, люмбальной пункцией и результатами патолого-анатомического исследования. Достоверных различий в структуре МИ в зависимости от гендерной дифференциации среди всех больных не выявлено. Так, у мужчин ишемический инсульт (ИИ) составил 72,6%, внутримозговое кровоизлияние (ВМК) – 20,4% и субарахноидальное кровоизлияние (САК) – 7,0%, у женщин – 73,4%, 18,8% и 7,9% соответственно.

Таким образом, среди всех больных мозговым инсультом доля женщин оказалась больше, чем мужчин, составив соответственно 54,7 и 45,3%. Ишемические инсульты составили 73%, внутримозговые кровоизлияния – 19,6% и субарахноидальные кровоизлияния – 7,4%. Индекс отношения ишемических инсультов к геморрагическим среди всех больных оказался весьма низким за счет значительной доли кровоизлияний, составив у мужчин 2,6, а у женщин 2,8.

Для наглядности и объективизации полученных различий между частотой патогенетических факторов среди умерших и выживших больных, а также для оценки степени их влияния на прогноз заболевания нами предложен так называемый индекс отягощения. Данный индекс определяется отношением распространенности патогенного фактора среди умерших к аналогичному показателю среди выживших больных

в группе обследования. Так, при его величине более 1,0 частота патогенного фактора превалирует среди умерших больных, оказывая тем самым усугубляющее влияние на прогноз заболевания. В то же время при индексе, равном 1,0, различия между умершими и выжившими больными отсутствуют, а при индексе, составляющем менее 1,0, искомый фактор доминирует среди выживших пациентов. И, наконец, если его величина равна 0, то изучаемый фактор отсутствует среди умерших больных.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

**Особенности ишемического инсульта.** Наиболее значимыми и распространенными факторами риска развития ИИ явились артериальная гипертензия (АГ), атеросклероз (АС) и сахарный диабет (СД) (табл. 2).

АГ отмечена чаще у женщин, чем у мужчин (87,6 и 81,7% соответственно). Показатель распространенности АС оказался приближенным к распространенности АГ. Причем его частота у мужчин оказалась выше, чем у женщин, и составила 80,2 и 73,6% соответственно. Распространенность СД у женщин почти в 2 раза превысила таковую у мужчин и составила соответственно 17,2 и 9,1%.

Достаточно существенными факторами, способствующими развитию ИИ, являются нарушения

Таблица 2

Характеристика структуры патогенетических факторов при разных типах мозгового инсульта, %

	Ишемический инсульт		Внутримозговое кровоизлияние		Субарахноидальное кровоизлияние	
	мужчины	женщины	мужчины	женщины	мужчины	женщины
Артериальная гипертензия	81,7	87,6	94,4	95,6	70,7	85,8
Атеросклероз	80,2	73,6	64,9	63,9	50,5	49,3
Сахарный диабет	9,1	17,2	7,6	8,8	3,0	5,2
Мерцательная аритмия	10,3	15,0	5,9	5,3	4,0	6,0
Экстрасистолия	6,3	6,4	2,8	6,3	4,0	3,0
Стенокардия	10,3	10,7	8,3	6,6	6,1	8,2
Постинфарктный кардиосклероз	16,6	8,5	11,8	6,6	4,0	4,5
Острый инфаркт миокарда	2,8	3,4	2,8	5,3	2,0	6,0
Пороки сердца	1,9	3,5	0,6	2,2	1,0	2,2



сердечного ритма. Наиболее значимым фактором является мерцательная аритмия (МА) – как наиболее частая причина кардиоэмболического инсульта. МА среди женщин зарегистрирована в 1,5 раза чаще, чем у мужчин (15,0 и 10,3% соответственно). ЭКГ-исследования выявили у 6,4% всех пациентов экстрасистолию (ЭС), выраженную в одинаковой степени как у женщин, так и у мужчин.

Ишемическая болезнь сердца и ее клинические проявления в 2–3 раза увеличивают вероятность возникновения ИИ или являются его осложнением, усугубляя порой течение последнего. Стенокардия (СТК) зарегистрирована у 10,3% мужчин и 10,7% женщин. Обращают на себя внимание значительные различия между частотой острого инфаркта миокарда (ОИМ) и постинфарктного кардиосклероза (ПИК). Так, частота ПИК среди всех больных в 4 раза превысила распространенность ОИМ (соответственно 12,6 и 3,1%). Причем ПИК определялся у мужчин в 2 раза чаще, чем у женщин (16,6 и 8,5% соответственно). Тогда как ОИМ регистрировался несколько чаще у женщин, чем у мужчин (3,4 и 2,8% соответственно).

Необходимо отметить, что пороки сердца (ПС) у женщин отмечены в 2,8 раза чаще, чем у мужчин (3,5 и 1,9% соответственно).

В зависимости от исходов заболевания были выявлены определенные особенности и закономерности распространенности факторов риска у больных ИИ. АГ среди умерших больных наблюдалась чаще, чем среди выживших, составив соответственно 89,8 и 81,2% у мужчин и 93,2 и 87,2% у женщин. АС, так же как и АГ, диагностировался чаще среди умерших,

чем среди выживших больных (соответственно 89,8 и 79,6% у мужчин и 82,2 и 73,0% у женщин).

Высокие показатели распространенности указанных заболеваний как среди выживших, так и среди умерших подтверждают тот факт, что АГ, являясь ведущим фактором риска развития ИИ, увеличивает распространенность и тяжесть атеросклероза, стимулирует и усугубляет атеросклеротические поражения артериальной системы. Вместе с тем указанные различия распространенности АГ и АС среди умерших и выживших больных, независимо от пола, оказались статистически недостоверными. В то же время наличие у больных СД, несомненно, повлияло на исходы ишемического типа ОНМК. Так, распространенность диабета среди умерших больных превысила аналогичный показатель по отношению к выжившим в 2,7 раза у мужчин (22,0 и 8,3% соответственно) и 1,7 раза у женщин (27,4 и 16,6% соответственно).

Анализ распространенности остальных патогенетических факторов, в зависимости от исходов инсульта, за исключением СТК, выявил их статистически достоверное превалирование в группе умерших больных, как среди мужчин, так и среди женщин. Индексы отягощения у больных ИИ при наличии МА составили 2,3 и 2,8, ПИК – 2,2 и 2,5 и ПС – 3,2 и 2,1 соответственно у мужчин и женщин (рис. 1). ЭС, при которой индекс отягощения составил 1,7 и 1,5 соответственно у мужчин и женщин, также могла способствовать негативному прогнозу заболевания. Если величина искомого индекса при наличии ОИМ у мужчин составила 2,6, то у женщин – 10,6, т. е. данный патогенетический фактор вполне мог оказаться определяющим в развитии летального исхода у женщин с ишемическим типом ОНМК.

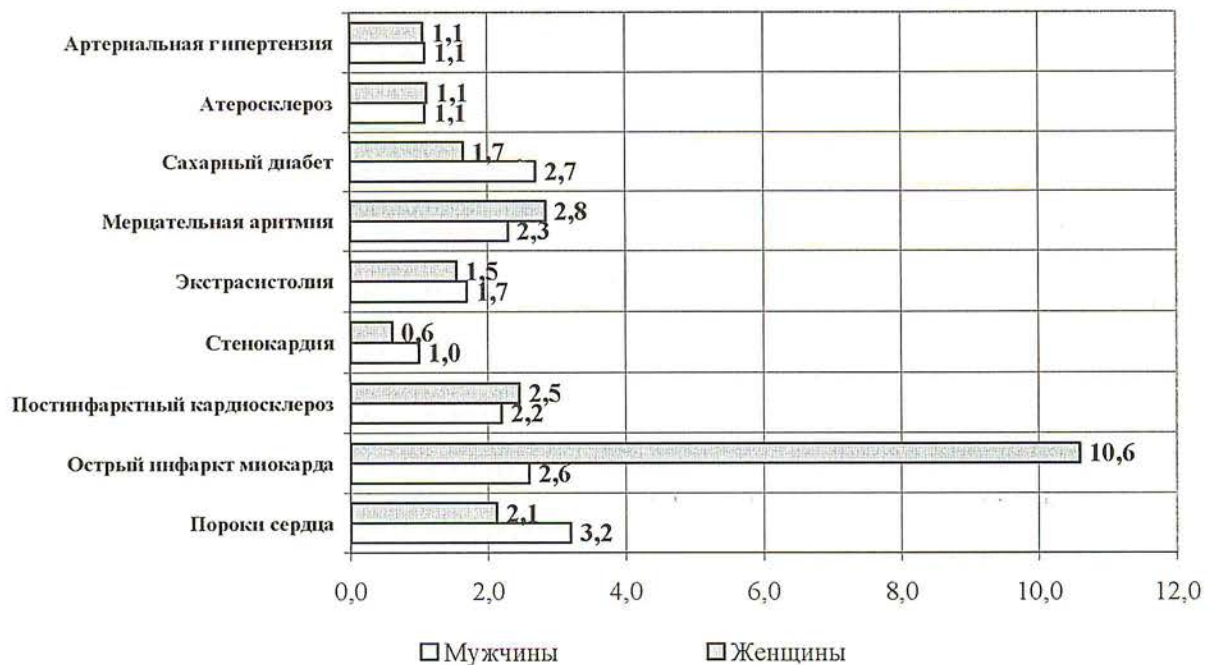


Рис. 1. Характеристика индекса отягощения у больных ишемическим инсультом в зависимости от гендерных различий

Анализ ранговой структуры распространенности изученных патогенетических факторов подтверждает сообщения большинства исследователей о лидирующей роли АГ в развитии ИИ. Второе место, так же независимо от пола, в указанном рейтинге занимает АС. Роль других факторов в развитии ИИ зависит от половой принадлежности. Так, если у мужчин 3-е место занимает ПИК, а 4-е и 5-е места делят стенокардия (СТК) и МА, то у женщин места в лидирующем квартете принадлежат соответственно СД и МА, а 5-ю позицию занимает СТК. В то же время у мужчин СД располагается на 6-м месте, тогда как у женщин указанная позиция принадлежит ПИК. Седьмое место, независимо от пола, принадлежит ЭС. Восьмое место у мужчин занимает ОИМ, а последнее – ПС, тогда как у женщин, наоборот, восьмая позиция принадлежит ПС, а на последнем месте располагается ОИМ.

Таким образом, независимо от пола, ведущая роль в развитии ишемического типа ОНМК принадлежит артериальной гипертензии. Многие другие факторы также, скорее всего, обусловлены АГ. Так, высокий уровень частоты атеросклероза, занимающего 2-е место, во многом предопределен влиянием АГ. Необходимо отметить, что если у мужчин одним из наиболее важных патогенетических факторов является ранее перенесенный инфаркт миокарда (ПИК), то у женщин в развитии ишемического типа ОНМК значительный вклад принадлежит сахарному диабету. Почти все факторы, за исключением стенокардии, доминируя среди пациентов с летальными исходами, с различной степенью выраженности усугубляют исход инсульта.

**Особенности внутримозгового кровоизлияния.** Подавляющее большинство патогенетических факторов, выявленных у больных ВМК, усугубляет течение и прогноз заболевания.

Как и следовало ожидать, показатель распространенности АГ оказался самым высоким среди изученных нами факторов, обнаруженных у больных ВМК (табл. 2). При этом ее частота составила 94,4 и 95,6% соответственно у мужчин и женщин. Распространенность АС-фактора, наиболее тесно связанного с АГ, составила 64,9 и 63,9% соответственно у мужчин и женщин. Частота СД составила соответственно 7,6 и 8,8%, а МА – 5,9 и 5,3%. При остальных факторах обнаружены статистически достоверные межгендерные различия. Так, распространенность СТК у мужчин составила 8,3 против 6,6% у женщин, а ПИК был выявлен соответственно у 11,8 и 6,6%. В то же время распространенность у женщин ЭС преобладала в 2,3 раза, ОИМ – в 1,9 раза и ПС – в 3,7 раза против аналогичного показателя у мужчин.

Распространенность отдельных патогенетических факторов у больных ВМК, с учетом исходов заболевания, позволила нам оценить степень их влияния на прогноз данного типа ОНМК.

Так, АГ, независимо от пола, с одинаковой частотой была отмечена как среди выживших, так и среди умерших больных. При этом ее распространенность соответственно составила у мужчин 95,0 и 93,5%, а у женщин – 94,0 и 99,0%. Распространенность АС у мужчин оказалась достоверно выше среди умерших по отношению к выжившим, тогда как у женщин различия не имели статистической достоверности. При этом индекс отягощения составил соответственно 1,3 и 1,2 (рис. 2). У мужчин отмечено существенное пре-

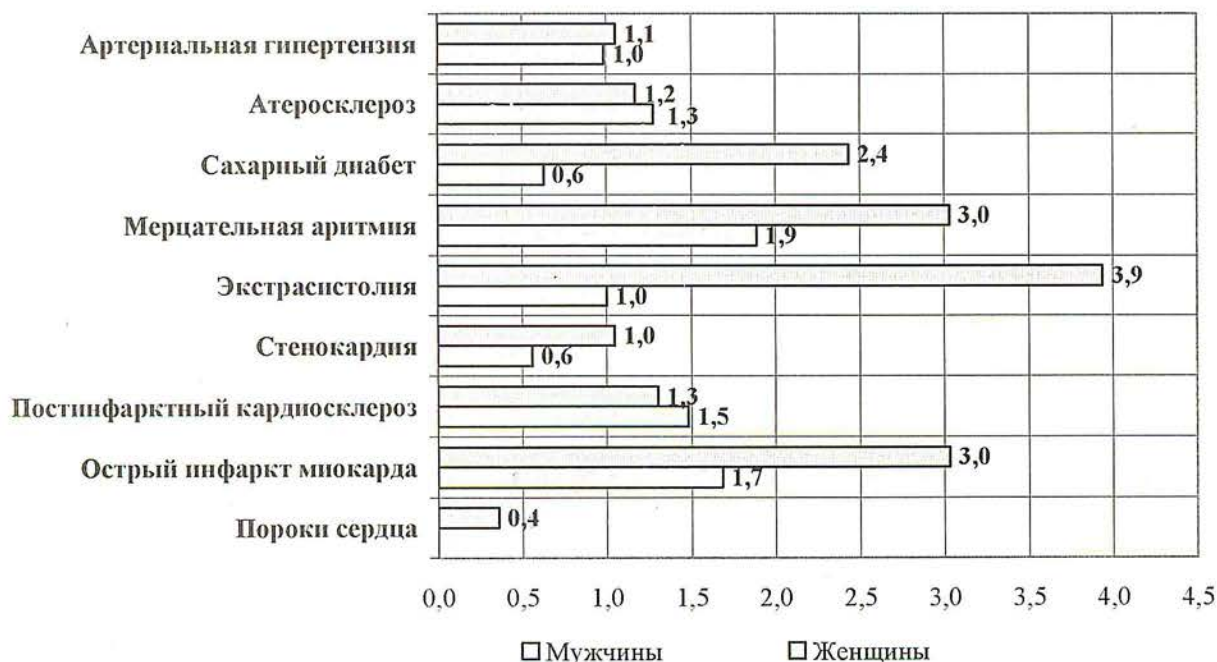


Рис. 2. Характеристика индекса отягощения у больных внутримозговым кровоизлиянием в зависимости от гендерных различий

валирование умерших по отношению к выжившим больным при МА (8,3 и 4,4% соответственно), ПИК (14,8 и 10,0% соответственно) и ОИМ (3,7 и 2,2% соответственно). Индекс отягощения при наличии указанных факторов составил соответственно 1,9, 1,5 и 1,7. МА и ОИМ у женщин оказали более существенное влияние на исход заболевания, чем у мужчин. Индекс отягощения у женщин оказался равным 3,0 при обоих факторах, а при ПИК его величина составила 1,3.

Особо хотелось отметить значительную негативную роль СД в развитии летального исхода у женщин. Так, его распространенность среди умерших больных в 2,4 раза превысила подобный показатель у выживших (14,6 и 6,0% соответственно). Тогда как у мужчин данный фактор превалировал среди выживших. Обращает на себя внимание ЭС у женщин: среди умерших ее частота в 3,9 раза выше, чем у выживших. В то же время если ПС у больных с ишемическим типом ОНМК в значительной мере способствовали летальному исходу, то при ВМК у мужчин данный фактор не зарегистрирован, а у женщин он превалировал среди выживших больных. Анализ ранговой структуры распространенности изученных патогенетических факторов показал, что тройка лидеров при ВМК, независимо от гендерных различий, идентична таковой при ишемическом типе ОНМК. Так, у мужчин первые три места занимают АГ, АС и ПИК, у женщин – АГ, АС и СД. На 4-м месте у мужчин располагается СТК, у женщин – ПИК; 5-е место у мужчин принадлежит СД, а у женщин на данной позиции находится СТК. На 6-м месте у мужчин МА, на 7-м – ЭС, тогда как у женщин, наоборот, 6-ю строчку в настоящем рейтинге занимает ЭС, 7-ю – МА. На 8-й и 9-й позициях, независимо от пола, расположились ОИМ и ПС соответственно.

Таким образом, независимо от пола, артериальной гипертензии принадлежит ведущая роль в развитии ВМК. АС, наиболее тесно связанный с АГ, также занимает существенное место. Другие факторы своим присутствием, в зависимости от гендерных различий, с различной степенью выраженности способствуют развитию летального исхода.

**Особенности субарахноидального кровоизлияния.** Несмотря на то, что частой причиной САК являются разрывы артериальных или артерио-венозных аневризм, артериальная гипертензия и атеросклероз могут усугублять морфологические изменения в артериях, располагающихся в субарахноидальном пространстве, и тем самым способствовать развитию данного типа ОНМК. С другой стороны, при наличии провоцирующих психогенных и физических факторов, резкий подъем АД может спровоцировать САК.

Выраженный АС мозговых сосудов, при наличии провоцирующих факторов, также может способствовать развитию подбололочечного кровоизлияния. Другие факторы из представленных в данном материале могут оказывать негативное влияние на течение и прогноз САК.

Распространенность АГ при САК оказалась несколько выше у женщин, чем у мужчин (85,8 и 70,7% соответственно), тогда как АС, независимо от пола, регистрировался с одинаковой частотой (50,5 и 49,3% соответственно) (табл. 2). Большая часть остальных факторов статистически достоверно преобладала среди женщин. Так, СД отмечался в 1,7 раза чаще у женщин, чем у мужчин (5,2 и 3,0% соответственно). МА была выявлена у 4,6% женщин и 2,9% мужчин. Частота ПИК не имела существенных межгендерных различий, тогда как распространенность ОИМ у женщин в 3 раза превысила аналогичный показатель у мужчин (6,0 и 2,0% соответственно), а ПС регистрировались у женщин более чем в 2 раза чаще, чем у мужчин.

Анализ структуры патогенетических факторов у больных САК в зависимости от исходов заболевания показал, что распространенность АГ среди умерших и выживших больных у женщин оказалась выше, чем у мужчин, составив соответственно 93,5 и 83,2% у женщин и 73,5 и 69,2% у мужчин. Несмотря на это, индекс отягощения в обеих гендерных группах оказался равным 1,1 (рис. 3). Распространенность АС составила у мужчин 44,1 и 69,2%, у женщин – 51,5 и 48,5% соответственно среди умерших и выживших. Указанные различия при этом не обнаружили отягощающего эффекта со стороны данного фактора. Вместе с тем отмечено, что у мужчин ПИК почти в 6 раз чаще регистрировался среди умерших больных по отношению к выжившим (8,8 и 1,5% соответственно), а ОИМ – почти в 2 раза (2,9 и 1,5%). У женщин выявлено превалирование СД среди умерших по отношению к выжившим больным (15,2 и 2,0% соответственно), ОИМ (9,1 и 5,0% соответственно) и ПС (3,0 и 2,0% соответственно). Индексы отягощения при этом составили соответственно 7,6, 1,8 и 1,5.

Анализ ранговой структуры распространенности отдельных патогенетических факторов при САК выявил, что 3 первых места, независимо от пола, занимают соответственно АГ, АС, СТК. У мужчин 4-е, 5-е и 6-е места делят между собой МА, ЭС и ПИК. Тогда как у женщин на 4-м и 5-м местах с одинаковым показателем располагаются МА и ОИМ, на 6-м – СД. У мужчин СД и ОИМ занимают соответственно 7-е и 8-е места, у женщин на указанных позициях находятся соответственно ПИК и ЭС. Последнее место, независимо от пола, занимают ПС.

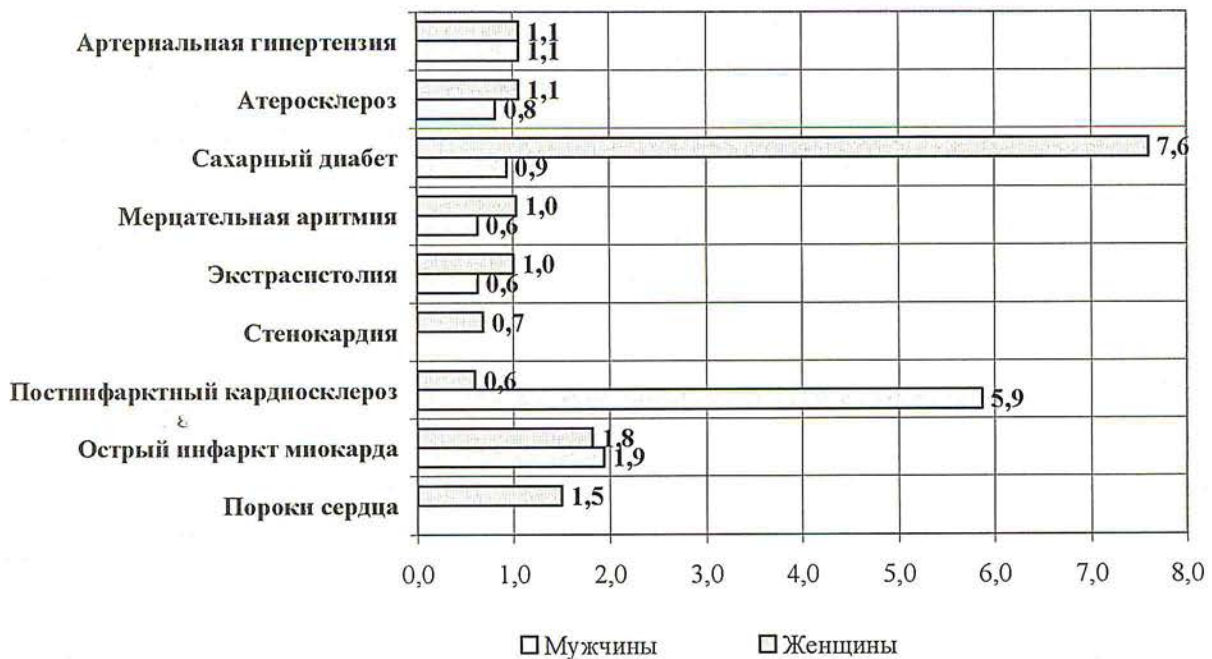


Рис. 3. Характеристика индекса отягощения у больных субарахноидальным кровоизлиянием в зависимости от гендерных различий

Таким образом, АГ, как основной фактор, запускающий патологические процессы в сосудистой стенке и тем самым способствующий развитию САК, отмечался в большей степени у женщин, чем у мужчин (85,8 и 70,7% соответственно). Подавляющее большинство других патогенетических факторов также преобладали среди женщин. Отягощающее влияние на прогноз заболевания у мужчин выявлено при наличии ПИК и ОИМ, у женщин – СД, ОИМ и ПС.

### ВЫВОДЫ

1. При всех типах инсультов первые ранговые места среди патогенетических факторов риска занимают соответственно артериальная гипертензия и атеросклероз. Третье место при ишемическом инсульте и внутримозговом кровоизлиянии у мужчин принадлежит постинфарктному кардиосклерозу, у женщин – сахарному диабету. При субарахноидальном кровоизлиянии третье место у мужчин и женщин занимает стенокардия.
2. Анализ факторов, отягощающих течение инсульта, дает возможность их целенаправленного выявления с учетом гендерных особенностей и типа инсульта.
3. Использование индекса отягощения позволяет провести ранжирование патогенетических факторов в зависимости от степени их влияния на прогноз и летальные исходы инсульта.

4. При ишемическом инсульте первые ранговые места по степени влияния на летальный исход соответственно занимают у мужчин – пороки сердца, сахарный диабет, у женщин – острый инфаркт миокарда, мерцательная аритмия. Постинфарктный кардиосклероз занимает третье ранговое место по степени отягощения течения без гендерных различий.
5. При внутримозговом кровоизлиянии первые ранговые места по степени влияния на летальный исход соответственно занимают у мужчин – мерцательная аритмия, острый инфаркт миокарда и постинфарктный кардиосклероз, у женщин – экстрасистолия, мерцательная аритмия и острый инфаркт миокарда.
6. При субарахноидальном кровоизлиянии первые ранговые места по степени влияния на летальный исход соответственно занимают у мужчин – постинфарктный кардиосклероз и острый инфаркт миокарда, у женщин – сахарный диабет, острый инфаркт миокарда и постинфарктный кардиосклероз.

### Литература

1. Виберс Д., Фейгин В., Браун Р. Инсульт: Клин. руководство: Пер. с англ. 2-е изд., испр. и доп. М., 2005. 608 с.
2. Виленский Б. С., Семенова Г. М. Причины смерти вследствие инсульта и возможные меры для снижения летальности // Неврол. журн. 2000. № 4. С. 10–13.
3. Виленский Б. С. Современная тактика борьбы с инсультом. М., 2005. 288 с.

4. Виленский Б. С. Неотложные состояния в неврологии: Рук-во для врачей. М., 2006. 512 с.
5. Гафаров В. В., Пак В. А., Гагулин И. В., Гафарова А. В. Эпидемиология и профилактика хронических неинфекционных заболеваний в течение двух десятилетий и в период социально-экономического кризиса в России. Новосибирск, 2000. 284 с.
6. Гогин Е. Е. Артериальная гипертензия в практике клинициста: проблемы развития, опыт лечения, перспективы профилактики // Кардиология. 1990. Т. 30. № 1. С. 5–11.
7. Голиков А. П. Инфаркт миокарда // Клиническая медицина. 1991. № 1. С. 113–120.
8. Елисеева Н. А., Бритов А. Н., Сметник В. П. Результаты восьмилетнего проспективного исследования популяции женщин по прогностической значимости факторов риска в развитии артериальной гипертонии // Актуальные проблемы профилактики неинфекционных заболеваний: Тез. докл. М., 1995. 51 с.
9. Инсульт: принципы диагностики, лечения и профилактики: Краткое рук-во для врачей // Под ред. Н. В. Верещагина, М. А. Пирадова, З. А. Суслиной. М., 2002. 208 с.
10. Калинина А. М., Чазова Л. В., Павлова Л. И., Девев А. Д. Проспективное наблюдение за смертностью, частотой возникновения инфаркта миокарда и мозгового инсульта в популяции мужчин 40–59 лет с различным уровнем риска // Кардиология. 1990. № 10. С. 65–67.
11. Люсов В. А. Инфаркт миокарда (вчера, сегодня, завтра) // Рос. кардиол. журн. 1999. № 1. С. 5–7.
12. Brainin M., Olsen T. S., Chamorro A. Organization of stroke care: education, referral, emergency management and imaging, stroke units and rehabilitation // Cerebrovasc. Dis. 2004. Vol. 17 (Suppl. 2). P. 1–14.

## ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРЕПАРАТА «КОНФУМИН» ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ ИШЕМИИ МИОКАРДА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Член-корреспондент РАМН СЕЛИВАНОВ Е. А., СЛЕПНЕВА Л. В., АЛЕКСЕЕВА Н. Н.,  
ХМЫЛОВА Г. А., ГЕРБУТ К. А., ГЕРАСИМОВА М. Л.,  
КРЫЛОВА И. Б.<sup>1</sup>, ЗАРУБИНА И. В.<sup>2</sup>

ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии»,  
<sup>1</sup>ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,  
<sup>2</sup>Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова,  
Санкт-Петербург

**Селиванов Е. А., Слепнева Л. В., Алексеева Н. Н., Хмылова Г. А., Гербут К. А., Герасимова М. Л., Крылова И. Б., Зарубина И. В.** Использование препарата «Конфумин» для лечения ишемии миокарда в эксперименте // Мед. академ. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 62–68. ФГУ «Российский научно-исследовательский институт гематологии и трансфузиологии», Санкт-Петербург, 191024, ул. 2-я Советская, 16; ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12; Военно-медицинская академия им. С. М. Кирова, Санкт-Петербург, 194044, ул. Лебедева, 6.

В опытах на собаках установлено, что геморрагический шок вызывает нарушение митохондриального окисления в кардиомиоцитах, что сопровождается снижением производительности сердца. Для защиты миокарда в условиях гипоксии использовали новый антигипоксикант на основе фумарата натрия – конфумин. Его применение способствовало поддержанию энергетического потенциала в кардиомиоцитах и повышало эффективность работы сердца. На модели острой ишемии миокарда у крыс выявлено выраженное антиаритмическое действие препарата. Конфумин снижает общую длительность нарушения ритма, частоту возникновения фибрилляции желудочков.

**Ключевые слова:** антигипоксиканты, геморрагический шок, ишемия миокарда, инфаркт миокарда, митохондриальный метаболизм, антиаритмическое действие.

**Selivanov E. A., Slepneva L. V., Alekseeva N. N., Khmylova G. A., Gerbut K. A., Gerasimova M. L., Krylova I. B., Zarubina I. V.** Use of the preparation "Konfumin" intended for treatment of ischemic myocardium in experiment // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 62–68. Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St. Petersburg, 191024; Research Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg; Military Medical Academy, St. Petersburg.

It has been established in experiments on dogs that hemorrhagic shock results in impairment of the mitochondrial oxidation in the cardiomyocytes that leads to decrease of the cardiac output. To protect the myocardium under hypoxia conditions, a new antihypoxant made on the base of sodium fumarate – «Konfumin» – was used. Konfumin favored maintaining the energetic potential in the cardiomyocytes and increased the cardiac output. On the model of acute ischemia of myocardium in rats, the preparation has shown a manifested antiarrhythmic effect. Konfumin decreases the total duration of arrhythmia and the frequency of beginning of ventricle fibrillation.

**Key words:** antihypoxants, in hemorrhagic shock, ischemia of myocardium, mitochondrial metabolism, antiarrhythmic activity.

Острая ишемия миокарда может оказаться решающим фактором в развитии и исходе многих патологических процессов. Поэтому профилактика и лечение острой ишемии миокарда является одной из актуальных проблем современной медицины. Одним из путей фармакологической противоишемической защиты является использование антигипоксикантов.

Ранее проведенные исследования по изучению антигипоксикантов из числа субстратов цикла Кребса показали, что наиболее эффективным соединением оказался фумарат натрия [9]. Этот антигипоксикант был включен в состав солевого инфузионного раствора «Мафусол» и коллоидного кровезаменителя «Полиоксифумарин». Оба препарата в настоящее время успешно используются в клинике для борьбы с постгипоксическими нарушениями, возникающими

при гиповолемических состояниях различного генеза [6, 7, 12]. Однако при гипоксии, развившейся на фоне нормоволемии (инфаркт, инсульт, черепно-мозговая травма и др.), использование антигипоксиканта фумарата натрия в виде инфузионных растворов (мафусол, полиоксифумарин) затруднено, поскольку при этих видах патологии противопоказано введение больших объемов жидкости.

В связи с этим в ФГУ «РНИИ гематологии и трансфузиологии» был разработан препарат «Конфумин», представляющий собой 15% раствор фумарата натрия, для внутривенного введения во флаконах емкостью 100 мл [8]. Концентрация фумарата натрия в препарате в 10 раз выше, чем в мафусоле. Такая лекарственная форма фумарата натрия позволит применять его как антигипоксический компонент

в схемах инфузионно-трансфузионной терапии при гиповолемии различного генеза, а также как самостоятельное лекарственное средство при гипоксии в условиях нормоволемии.

Известно, что восстановление сердечной деятельности является одной из основных задач инфузионно-трансфузионной терапии геморрагического шока [2, 3]. Постгеморрагическая ишемия миокарда даже после восполнения кровопотери может служить причиной снижения сократительной способности сердца с последующим развитием вторичной гиповолемии и гипоксии. Не менее важно проведение антиишемической защиты миокарда и при нарушениях коронарного кровотока, возникающих в условиях нормоволемии. Так, применение антигипоксантов при оказании неотложной помощи пациентам с острым коронарным синдромом направлено на предотвращение инфаркта миокарда и/или уменьшение зоны его развития [10]. Антиишемическая протекция миокарда необходима и для профилактики острой миокардиальной недостаточности, которая является частым осложнением кардиохирургических операций, требующих для их выполнения временного прекращения коронарного кровотока [1].

В связи с этим целью настоящей работы явилось изучение влияния конфумина на функциональную активность миокарда в условиях кислородной недостаточности. Для этого необходимо было оценить нарушения окислительного метаболизма митохондрий при ишемии сердца и действие препарата на процессы восстановления энергетики кардиомиоцитов.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Ишемию миокарда изучали на модели геморрагического шока у собак и при остром инфаркте миокарда у крыс.

Геморрагический шок у собак вызывали дробными кровопусканиями из бедренной артерии, снижая артериальное давление до 40–45 мм рт. ст. с последующим поддержанием гипотензии в течение часа. Общий объем кровопотери составил 45–50 мл/кг массы тела. По истечении гипотензивного периода контрольным животным внутривенно вливали полиглюкин, опытным – полиглюкин с конфумином. Наблюдение за животными продолжали в течение 1 ч после окончания инфузии препаратов. Оценка тяжести состояния и эффективности лечения проводили по данным системного кровообращения, некоторым показателям производительности сердца и окислительному метаболизму в митохондриях кардиомиоцитов. Системную гемодинамику оценивали по показателям минутного объема кровообращения (МОК регистрировали методом терморазведения), артериальному давлению (АД измеряли ртутным манометром), частоте сердечных сокращений (ЧСС

по данным электрокардиограммы), а также рассчитывали ударный объем сердца (УО). Работу сердца исследовали с помощью поликардиографа «Mingograf-7». Расчетным методом определяли индекс работы левого желудочка сердца (РИЛЖ) и индекс внешней насосной производительности сердца (Wex). Для изучения процессов тканевого дыхания в кардиомиоцитах у животных в состоянии глубокого этилового наркоза проводили иссечение верхушки сердца. Собакам предварительно вводили внутривенно дитилин, и животных переводили на управляемое дыхание. Пробы ткани сердца брали у интактных животных, у собак в состоянии шока и через 1 ч после окончания лечения. Окислительный метаболизм в митохондриях миокарда изучали полярографическим методом [5], при этом регистрировали скорости дыхания органелл в различных метаболических состояниях: эндогенное дыхание ( $V_o$ ), субстратное дыхание ( $V_s$ ), скорость фосфорилирующего дыхания ( $V_3$ ) и скорость дыхания после утилизации АДФ ( $V_4$ ). Для исследования функциональной активности митохондрий применяли традиционную инкубационную среду. В качестве экзогенных субстратов окисления, позволяющих оценить работу FAD- и NAD-зависимых звеньев дыхательной цепи, использовались сукцинат и глутамат. О сопряжении процессов дыхания и фосфорилирования судили по величинам дыхательных контролей по Ларди и Чансу ( $ДК_p$ ,  $ДК_q$ ), скорости фосфорилирования (АДФ/т) и коэффициенту фосфорилирования (АДФ/О).

Для оценки влияния конфумина на функциональную активность сердца при ишемии миокарда в условиях нормоволемии были поставлены опыты на модели острого инфаркта миокарда у крыс. Эксперименты выполнены в лаборатории фармакологии Института экспериментальной медицины. Ишемию миокарда моделировали путем перевязки нисходящей ветви левой коронарной артерии (НВЛКА) по методу Селье под наркозом в условиях искусственного дыхания [14]. Сразу после окклюзии начинали инфузию препаратов, которая продолжалась в течение 60 мин. Опытным животным вводили конфумин в терапевтической дозе, контрольным – 0,9% раствор натрия хлорида в том же объеме. После окклюзии непрерывно регистрировали ЭКГ во II стандартном отведении со скоростью записи 25 мм/сек на электрокардиографе (ЭКГТ-03М2). Мониторинг ЭКГ использовали для оценки антиаритмического действия фумарата натрия. Основными показателями ранних постокклюзионных аритмий служили общепризнанные характеристики нарушения сердечного ритма: количество желудочковых экстрасистол (ЭС), продолжительность желудочковой тахикардии (ЖТ) и фибрилляции желудочков (ФЖ). Общую продолжительность ЖТ и ФЖ определяли как сумму всех

периодов нарушения ритма за 30 мин наблюдения и выражали в секундах. Регистрировали также длительность латентного периода до первого эпизода нарушения ритма и общую продолжительность аритмии.

Оценить состояние окислительного метаболизма в митохондриях сердца при остром инфаркте миокарда у крыс не представлялось возможным. Сердце крыс настолько мало, что мышечной массы его недостаточно для выделения митохондрий в количествах, необходимых для проведения исследований. В связи с этим оценку энергетического обмена в кардиомиоцитах проводили по биохимическим показателям. Для этого по окончании лечения животных забивали, сердце извлекали и помещали в жидкий азот. Ткань миокарда гомогенизировали и в гомогенатах определяли содержание лактата, пирувата и креатинфосфата по общепринятым методикам.

Статистическую обработку полученных данных проводили с помощью программы «Microsoft Excel» версия 7,0 для Windows 98. Достоверность результатов оценивали по критерию Стьюдента.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Как показали опыты, при массивной кровопотере с последующей гипотензией минутный объем кровообращения (МОК) и ударный объем (УО) сердца у собак составили соответственно 35 и 28% исходных значений (табл. 1).

Уменьшение сердечного выброса было обусловлено не только уменьшением объема циркулирующей крови, но и ослаблением насосной функции сердца. Так, индекс работы левого желудочка (РИЛЖ) и показатель внешней насосной производительности сердца (Wex) снижались более чем в 10 раз по сравнению с исходными данными (табл. 1). При этом на ЭКГ появились изменения, характерные для гипоксии миокарда. Амплитуда зубца Т по сравнению с исходной возрастала в среднем в 2 раза. В отдельных случаях появлялись гигантские зубцы Т с характерным ишемическим изгибом. В 2 раза снижалась амплитуда зубца R. Иногда регистрировались желудочковые экстрасистолы.

Как известно, сократимость миокарда во многом определяется энергетическим потенциалом кардиомиоцитов. В связи с этим представляло интерес оценить состояние энергообразования в митохондриях сердечной мышцы при постгеморрагической ишемии.

Анализ изменений окислительного метаболизма митохондрий миокарда показал, что геморрагический шок вызывает снижение всех показателей митохондриального метаболизма (табл. 2).

Добавление субстратов окисления (сукцинат, глутамат) в полярографическую ячейку с митохондриями активировало их дыхание. Однако увеличение субстратного дыхания ( $V_o$ ) не сопровождалось пропорциональным возрастанием скорости фосфо-

Таблица 1

Показатели гемодинамики при лечении геморрагического шока у собак полиглюкином (серия 1, n=11) и полиглюкином с конфумином (серия 2, n=9) (M±m)

Показатели	Серия	Исходное состояние	Геморрагический шок	После лечения через 10 мин	После лечения через 60 мин	Наименование, единицы измерения
Pam	1	162±11	37±2	133±6	133±6	Артериальное давление, мм рт. ст.
	2	163±3	37±2	145±4	145±4	
OK	1	100	35±2	137±13	69±5	Минутный объем кровообращения, %
	2	100	32±3	209±21*	110±7*	
УО	1	100	24±2	110±15	47,1±16	Ударный объем сердца, %
	2	100	32±5	207±27*	160,7±18*	
ЧСС	1	146±9	190±10	191±10	195±12	Частота сердечных сокращений, уд/мин
	2	199±11	215±17	201±14	229±16	
РИЛЖ	1	100	8±2	99±5	57,5±5	Индекс работы левого желудочка сердца, %
	2	100	7±1	178±7*	266,9±9*	
Wex	1	100	6±2	75±10	—	Индекс внешней насосной производительности сердца, %
	2	100	7±2	175±8*	—	

\* Достоверное отличие (p≤0,05) по сравнению с показателями в серии 1 опытов.



Окислительный метаболизм в митохондриях миокарда собак при лечении геморрагического шока полиглюкином и полиглюкином с конфумином ( $M \pm m$ )

Показатели	Контроль (n=5)	Геморрагический шок (n=5)	Полиглюкин (n=6)	Полиглюкин с конфумином (n=6)	Единицы измерения
Субстрат – сукцинат					
$V_0$	11.52±0.54	7.05±0.24	9.09±0.35*	9.05±0.35*	ммоль/мин*мг
$V_c$	38.88±5.21	32.53±1.80	32.21±2.46	39.68±1.60*	ммоль/мин*мг
$V_3$	151.6±19.2	104.1±6.3	90,1±9.0	150.5±14.6*°	ммоль/мин*мг
$V_4$	41.45±4.52	34.84±5.90	34.25±2.78	47.11±2.17*°	ммоль/мин*мг
$V_{днф}$	122.9±15.4	80.2±5.6	82.8±8.9	141.9±18.7*°	ммоль/мин*мг
ДК <sub>л</sub>	3.94±0.16	3.22±0.22	2.80±0.15	3.79±0.33°	–
ДК <sub>ч</sub>	3.69±0.32	3.05±0.21	2.64±0.13	3.16±0.19	–
ДК <sub>днф</sub>	2.96±0.21	2.33±0.17	2.44±0.16	3.47±0.15*°	–
АДФ/т	9.99±0.88	5.76±0.26	4.21±0.31*	10.35±1.16*°	нмоль/с*мг
АДФ/О	2.06±0.07	1.75±0.09	1.54±0.10	2.04±0.11°	–
Субстрат – глутамат					
$V_0$	11.33±0.29	7.66±0.58	8.98±0.87*	9.73±0.45*	ммоль/мин*мг
$V_c$	13.17±1.03	11.69±0.40	13.08±1.34	14.36±0.27*	ммоль/мин*мг
$V_3$	82.8±4.8	58.1±6.1	56.2±1.9	98.6±4.4*°	ммоль/мин*мг
$V_4$	14.06±1.31	10.77±0.53	13.65±1.56	14.45±0.27*	ммоль/мин*мг
$V_{днф}$	75.9±9.8	44.9±1.7	56.8±5.5	89.5±6.8*°	ммоль/мин*мг
ДК <sub>л</sub>	6.37±0.30	4.96±0.41	4.57±0.43	6.88±0.28*°	–
ДК <sub>ч</sub>	5.99±0.21	5.40±0.47	4.43±0.46	6.82±0.24*°	–
ДК <sub>днф</sub>	5.37±0.31	4.18±0.07	4.50±0.66	6.20±0.44*	–
АДФ/т	8.36±0.60	5.04±0.42	3.87±0.12	9.36±0.48*	нмоль/с*мг
АДФ/О	3.00±0.07	2.44±0.10	2.01±0.03*	2.92±0.13*°	–

\* Достоверное отличие ( $p \leq 0,05$ ) по сравнению с показателями при шоке, ° – при лечении полиглюкином

рилирующего дыхания ( $V_3$ ), которая при геморрагическом шоке была достоверно ниже, чем в контроле, на 30–35% (табл. 2). Более низкой, чем у интактных животных, была и скорость отрегулированного дыхания ( $V_4$ ). Следствием угнетения  $V_3$  при шоке стало достоверное уменьшение ДК<sub>л</sub> и ДК<sub>ч</sub> примерно на 20%.  $V_{днф}$  – скорость дыхания митохондрий при разобщении процессов дыхания и фосфорилирования динитрофенолом достоверно снижалась при геморрагическом шоке при окислении как сукцината, так и глутамата на 35, 40% соответственно. Как результат падения  $V_{днф}$ , снизился и ДК<sub>днф</sub>, что указывает на значительное ослабление функции переноса электронов по редокс-цепи.

Наряду с уменьшением скорости активного дыхания отмечалось существенное подавление фосфорилирующей функции органелл, при этом скорость генерации энергии АДФ/т при утилизации как сукцината, так и глутамата снижалась на 40–43%. Достоверное уменьшение коэффициента АДФ/О свидетельствовало об ухудшении сопряженности процессов окисления и фосфорилирования.

Таким образом, снижение производительности сердца при постгеморрагической ишемии действительно сопровождается нарушениями окислительного метаболизма и расстройствами энергетического обмена в кардиомиоцитах.

Адекватное возмещение кровопотери полиглюкином приводило к существенному улучшению гемодинамики по сравнению с периодом до лечения. Однако при использовании полиглюкина с конфумином ударный объем сердца и сердечный выброс оказались достоверно более высокими, чем величины, зарегистрированные после инфузий одного кровезаменителя (табл. 1). Следует отметить, что восполнение кровопотери как в контрольных опытах, так и в опытах с введением конфумина не сопровождалось нормализацией системного транспорта кислорода в организме. Замещение крови кровезаменителями вызывает гемодилюцию, вследствие чего восстановление МОК даже до исходных значений не позволяет полностью восстановить кислородный режим организма. В обеих сериях опытов системный транспорт кислорода не превышал 50% от исходного.

В условиях сохраняющейся кислородной недостаточности инфузии полиглюкина не улучшали основных показателей энергетического статуса митохондрий сердца. Как видно из таблицы 2, только скорость дыхания на эндогенных субстратах окисления ( $V_o$ ) увеличилась в среднем на 20%, что, вероятно, связано с улучшением гемодинамики и увеличением доставки эндогенных субстратов окисления к тканям. При этом АДФ/О достоверно снизился по сравнению с показателями при геморрагическом шоке на 17%, а АДФ/т, отражающий скорость генерации энергии, при утилизации как сукцината, так и глутамата в среднем снизился на 25%. Судя по показателям АДФ/т и АДФ/О, синтез АТФ в кардиомиоцитах протекал на уровне, не превышающем фосфорилирующие возможности митохондрий животных в состоянии геморрагического шока. Оставалась высокой скорость дыхания органелл на экзогенных субстратах окисления ( $V_e$ ), что косвенно свидетельствовало о недостаточном обеспечении клеток эндогенными субстратами. Несколько уменьшились дыхательные контроли по Ларди и Чансу. Снизились показатели  $V_{днф}$  и  $ДК_{днф}$  по сравнению с контролем, что отражает все еще затрудненный транспорт электронов по основной дыхательной цепи. Следовательно, несмотря на улучшение показателей системной гемодинамики, процессы разобщения окисления и фосфорилирования в клетках миокарда не только не ослабевали, но и нарастали.

Вместе с тем при введении животным полиглюкина с конфумином окислительный метаболизм митохондрий восстанавливался практически до уровня нормы.

Достоверно возросли все скорости дыхания митохондрий, а синтез АТФ (по показателю АДФ/т) при введении животным конфумина протекал в 2 раза интенсивнее, чем при инфузиях одного кровезаменителя. Возрастание  $V_{днф}$  и  $ДК_{днф}$  до уровня нормы позволяло судить о полном восстановлении транспорта электронов по основной дыхательной цепи митохондрий.

Полученные данные свидетельствуют о том, что под влиянием препарата происходило восстановление сопряженности процессов окисления и фосфорилирования. Энергезирующий эффект конфумина отчетливо выявлялся при утилизации как сукцината, так и глутамата. Восстановление энергетического потенциала кардиомиоцитов определяло, по-видимому, улучшение производительности миокарда. Так, изоволюметрический индекс контрактильности левого желудочка (РИЛЖ) у собак, получавших вместе с кровезаменителем конфумин, был в 2,6 раза выше, чем у животных контрольной группы (табл. 1).

Представленные результаты позволяют заключить, что в условиях ослабления насосной функции

миокарда, вызванной циркуляторной гипоксией при геморрагическом шоке, введение конфумина способствует поддержанию энергетического потенциала в кардиомиоцитах и таким образом повышает эффективность работы сердца в постинфузионном периоде.

Эффективность лечения ишемии миокарда конфумином изучали не только при экспериментальном геморрагическом шоке, но и в опытах на модели острого инфаркта миокарда у крыс. Это позволило оценить действие препарата при применении его как самостоятельного лекарственного средства для лечения гипоксии, развившейся в условиях нормоволемии.

Как известно, в острой фазе инфаркта нарушение локального кровообращения приводит к уменьшению или прекращению доставки кислорода и субстратов окисления в ткани миокарда с последующим снижением энергетического потенциала кардиомиоцитов [11, 13]. Дефицит креатинфосфата и АТФ вызывает нарушения специфических функций кардиомиоцитов: сократимости, генерации и проведения возбуждения. Это ведет к ослаблению насосной функции миокарда, к развитию нарушения ритма сердечных сокращений [4].

В наших экспериментах у контрольных животных после перевязки коронарной артерии первые признаки аритмии были отмечены через 3–5 мин после начала эксперимента (табл. 3). Развитие аритмии проявлялось в виде желудочковых экстрасистол (ЭС), желудочковой тахикардии (ЖТ) и фибрилляции желудочков (ФЖ). Общая продолжительность аритмии составила 14–15 мин, при этом ЭС, ЖТ и ФЖ наблюдались у всех контрольных животных, которым вводили физиологический раствор хлорида натрия сразу после окклюзии. Введение конфумина вместо 0,9% раствора хлорида натрия сопровождалось сокращением общей продолжительности аритмии на 60%, длительности ЖТ – на 60%, ФЖ – на 70% и снижением количества экстрасистол на 70% по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Интерес представляют результаты опытов, в которых конфумин вводили по превентивно-купирующей схеме. В этом случае инфузии начинали за 10 мин до окклюзии, на фоне инфузий производили перевязку НВЛКА и продолжали введение препарата до окончания аритмий. Применение конфумина по такой схеме сопровождалось достоверным увеличением латентного периода до регистрации первого эпизода аритмии по сравнению с контролем. Превентивное введение конфумина позволило снизить длительность ЖТ на 25%, а суммарную длительность ФЖ более чем в 3,5 раза по сравнению с действием конфумина, введенного сразу после окклюзии.

Таким образом, результаты экспериментов свидетельствуют о выраженном антиаритмическом эффек-

Влияние конфумина на течение ранних постокклюзионных аритмий у крыс на модели экспериментального инфаркта миокарда ( $M \pm m$ )

Группа	Начало (сек)	Продолжительность (сек)	Нарушения ритма		
			Экстрасистолия (кол-во)	Желудочковая тахикардия (сек)	Фибрилляция желудочков (сек)
Контроль (NaCl 0,9%), n=6	215±13	962±124	554±127	92±27	103±31
Конфумин после окклюзии, n=10	208±18	358±74*	152±54*	37±14*	30±17*
Конфумин до окклюзии, n=5	303±32*	446±31*	188±39*	20±6*°	8±1*°

\* Достоверные различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контролем, ° – по сравнению с серией, где конфумин вводили после окклюзии.

Таблица 4

Влияние конфумина на содержание креатинфосфата, лактата и пирувата в миокарде крыс с острым инфарктом миокарда ( $M \pm m$ )

Показатели	Интактные животные n=10	Контроль (NaCl 0,9%) n=10	Инфузии конфумина n=10
Креатинфосфат, мкМ/г	4,87±0,05	2,10±0,07*	3,05±0,02*°
Лактат, мкМ/г	3,12±0,04	7,65±0,14*	4,34±0,21*°
Пируват, мкМ/г	0,26±0,01	0,11±0,01*	0,19±0,01*°
Лактат/пируват	12,00±0,04	69,54±0,06*	22,84±0,05*°

\* Достоверные различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с интактными крысами, ° – по сравнению с контролем.

те конфумина. Препарат снижает общую длительность нарушений ритма, суммарную длительность желудочковой тахикардии и частоту возникновения фибрилляции желудочков.

Как известно, при недостатке  $O_2$  усиливается анаэробный путь образования энергии, вследствие этого происходит накопление лактата и пирувата и снижается содержание креатинфосфата. Тесная взаимосвязь процессов гликолитического и митохондриального окисления позволяет по содержанию этих метаболитов в тканях косвенно судить о степени восстановления окислительного метаболизма.

На фоне введения конфумина содержание креатинфосфата в сердце животных увеличивалось по сравнению с контрольной группой на 45% ( $p < 0,05$ ), хотя и оставалось достоверно ниже, чем у интактных крыс (табл. 4).

Введение конфумина приводило к снижению в ишемизированном миокарде крыс содержания лактата на 40%, к увеличению концентрации пирувата на 70% ( $p < 0,05$ ). Величина отношения лактата к пирувату снижалась более чем на 60% по сравнению с группой контрольных животных.

Проведенные исследования подтвердили, что применение конфумина при острой ишемии миокарда оказывает антиаритмический и антиишемический эффект. На фоне действия конфумина в тканях сердца уменьшается уровень лактатного ацидоза, увеличивается содержание пирувата и креатинфосфата.

Таким образом, разработанный в РосНИИГТ препарат «Конфумин» обладает выраженным антигипоксическим действием, позволяющим поддерживать энергетический потенциал в кардиомиоцитах, и способствует увеличению производительности сердца в условиях кислородной недостаточности. При этом действие препарата проявляется независимо от причин возникновения ишемии, развивающейся вследствие как расстройств системной гемодинамики (геморрагический шок), так и нарушений локального кровообращения (инфаркт миокарда).

### Литература

1. Жирехина О. В., Мочалов О. Ю., Дойников Д. Н. и др. Применение антигипоксанта полиоксифумарина при операциях на открытом сердце // Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: Материалы конференции. СПб., 2002. С. 274.
2. Кочетыгов Н. И., Селиванов Е. А., Гербут К. А. и др. Кровообращение и энергетика сердца при лечении геморрагического шока кровезаменителями и антигипоксантами // Тез. конф. «Трансфузиология и служба крови». М., 1998. С. 224.
3. Кочетыгов Н. И., Селиванов Е. А., Гербут К. А. и др. Функция сердца, метаболизм при геморрагическом шоке и его инфузионной терапии // Тез. докл. I Рос. конгр. по патофизиол. М., 1996. С. 299–300.
4. Новиков В. П. Инфаркт миокарда. СПб., 2000. 335 с.

5. Руководство по изучению биологического окисления полярографическим методом / Под ред. М. Н. Кондрашовой. М., 1973. 222 с.
6. Селиванов Е. А., Слепнева Л. В., Герасимова М. Л. и др. Эффективность применения фумаратсодержащих препаратов полифункционального действия в инфузионной терапии неотложных состояний // Вестник СПбГМА им. И. И. Мечникова. СПб., 2006. № 2 (7). С. 150–153.
7. Слепнева Л. В., Алексеева Н. Н., Герасимова М. Л. и др. Применение фумаратсодержащих препаратов для лечения постгеморрагических и ишемических нарушений у хирургических больных // Актуальные вопросы грудной, сердечно-сосудистой и абдоминальной хирургии: Материалы конф. СПб., 2001. С. 189–190.
8. Слепнева Л. В., Алексеева Н. Н., Хмылова Г. А. и др. Новая лекарственная форма антигипоксанта фумарата натрия – раствор для инъекций (Конфумин) // Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: Материалы конф. СПб., 2002. С. 284.
9. Слепнева Л. В., Селиванов Е. А., Алексеева Н. Н. Использование субстратов цикла Кребса с целью повышения устойчивости организма к гипоксии // Тез. докл. VII Всесоюзной конф. по космич. биол. и мед. Калуга, 1982. С. 29.
10. Смолянинов А. Б., Селиванов Е. А., Зайцев Ю. Е. и др. Терапия острого коронарного синдрома с использованием кровезаменителя «Мафусол» // Актуальные вопросы гематологии и трансфузиологии: Материалы конф. СПб., 2004. С. 209.
11. Фетисова Т. В., Фролькис Р. А. Биохимия инфаркта миокарда. Киев, 1976. 165 с.
12. Черешнев П. М., Токарев С. С., Исаев В. Е. Применение фумаратсодержащих кровезаменителей у больных с разлитым перитонитом во время подготовки к экстренной операции // Тез. докл. конф. ВМА. СПб., 2002. С. 161.
13. Lee T. M., Su Sh.-F., Tsai Ch.-Ch. et al. Cardioprotective Effects of 17 $\beta$ -estradiol produced by activation of mitochondrial ATP-sensitive K Channels in canine hearts // J. Mol. Cell. Cardiol. 2000. Vol. 32. P. 1147–1158.
14. Selye H., Bajusz E., Grasso S. et al. Simple techniques for the surgical occlusion of coronary vessels in the rat // Angiology. 1960. Vol. 11. P. 398–407.

## СОСТОЯНИЕ ИММУННОГО СТАТУСА У БОЛЬНЫХ БРОНХИАЛЬНОЙ АСТМОЙ ПОДРОСТКОВ В ВЕЛИКОМ НОВГОРОДЕ

ОКОНЕНКО Т. И., член-корреспондент РАМН ВЕБЕР В. Р.

Институт медицинского образования Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого, Великий Новгород

**Оконенко Т. И., Вебер В. Р.** Состояние иммунного статуса у больных бронхиальной астмой подростков в Великом Новгороде // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 69–73. Институт медицинского образования Новгородского государственного университета им. Ярослава Мудрого, Великий Новгород.

Проведено иммунологическое обследование 20 детей в возрасте от 10 до 15 лет, страдающих бронхиальной астмой (БА). Был изучен уровень экспрессии дифференцировочных маркеров лимфоцитов, таких как CD 3<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 4<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 8<sup>+</sup>, CD 8<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 16 & CD 56<sup>+</sup>, CD 19<sup>+</sup>, CD 19<sup>+</sup> CD 23<sup>+</sup>, CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>+</sup>, CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>-</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 25<sup>+</sup>, CD 4<sup>+</sup> CD 62 L<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 4<sup>+</sup> CD 25<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> TC Rab<sup>-</sup>. Сравнительный анализ иммунологических показателей у детей с БА по сравнению со здоровыми детьми выявил, что состояние иммунитета у больных детей характеризуется изменением уровня экспрессии антигенов лимфоцитов. Понижено содержание CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>+</sup> и CD 19<sup>+</sup> CD 62L-клеток, повышен уровень CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>-</sup>-лимфоцитов у больных БА. Исследовано содержание в крови иммуноглобулина E (IgE) и лактоферрина (ЛФ) у 20 подростков, больных бронхиальной астмой, и 10 здоровых детей в возрасте 10–15 лет. У больных БА исследуемые показатели достоверно повышены. Отмеченные у здоровых подростков значительные колебания уровней IgE и ЛФ, часто превышающих нормальные общепринятые показатели, позволяют говорить о неблагоприятном воздействии экологической обстановки на организм. Оценка количественных показателей иммунитета у больных БА может быть использована для выработки иммунологических и прогностических критериев развития заболевания.

**Ключевые слова:** подростки, лактоферрин, иммуноглобулин E, бронхиальная астма, экспрессия маркеров дифференцировки лимфоцитов.

**Okonenko T. I., Veber V. R.** Immune status in teenagers with bronchial asthma in Velikii Novgorod // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 69–73. Institute of Medical Education, Novgorod State University, Velikii Novgorod, 173020.

Twenty teenagers with bronchial asthma underwent immunologic examinations. The level expression of differentiation markers of lymphocyte such as CD 3<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 4<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 8<sup>+</sup>, CD 8<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 16 & CD 56<sup>+</sup>, CD 19<sup>+</sup>, CD 19<sup>+</sup> CD 23<sup>+</sup>, CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>+</sup>, CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>-</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 25<sup>+</sup>, CD 4<sup>+</sup> CD 62 L<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 4<sup>+</sup> CD 25<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> TC Rab<sup>-</sup> was studied. A comparative analysis of immunological parameters showed, in teenagers with bronchial asthma versus healthy teenagers, the condition of immunity to be characterized by the changing expression of lymphocyte antigens. A lower level of CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>+</sup> and CD 19<sup>+</sup> CD 62L cells, and a higher content of CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>-</sup> lymphocytes were observed in patients with bronchial asthma. We have investigated the content of lactoferrin and Ig E in the blood of 10 healthy persons and in that of 20 teenagers ill with bronchial asthma. Patients with bronchial asthma have the investigated indices virtually increased. In healthy teenagers noticed significant changes of IgE and LF levels that are often higher than normal common indices allow to speak about unfavourable effect of environment on the body. An evaluation of the quantitative parameters of immunity in patients with bronchial asthma can be used in working out the immunological and prognostic criteria for the disease progression.

**Key words:** teenagers, lactoferrin, immunoglobulin E, bronchial asthma, allergy, expression of differentiation markers of lymphocyte.

Одним из важнейших «индикаторных» факторов состояния здоровья человека является нормальное функционирование иммунной системы. По показателям иммунного статуса у населения можно судить не только о его здоровье, но и о состоянии окружающей среды [9].

В последние годы отмечен значительный рост числа больных бронхиальной астмой (БА), вызванный загрязнением окружающей среды и социально-экономическими проблемами.

Воспаление при БА является результатом изменений в иммунной системе: при наличии сенсибилизации длительное воздействие антигена вызывает активацию специфических Т-лимфоцитов-хелперов,

которые стимулируют синтез иммуноглобулина E (IgE) В-клетками, а также посредством секреции разных цитокинов втягивают в воспалительный процесс разные группы лейкоцитов.

Нарушения в состоянии субпопуляций В- и Т-лимфоцитов при БА носят динамический характер.

Практический интерес представляет изучение субпопуляций Т- и В-лимфоцитов у подростков, больных БА, в одинаковых возрастных группах в разных регионах. Полученные результаты неоднозначны и разнятся в зависимости от места их проживания [3, 7].

Загрязнение атмосферного воздуха в г. Великий Новгород в последние 2–3 года расценивается как

повышенное. Основной вклад в загрязнение вносит автотранспорт (70%). В структуре загрязнителей атмосферы преобладают оксиды азота, пыль, оксид углерода, формальдегид. Негативным является тот факт, что средний уровень загрязнения воздуха вблизи автомагистралей в зоне жилой застройки в области в 2 раза выше, чем в среднем по России.

Целью данной работы явилось: 1) Определить иммунный статус подростков с неотягощенным алергоанамнезом и больных БА, находящихся в одинаковых экологических условиях (г. Великий Новгород). 2) Определить в крови уровень общего IgE, отражающего сдвиги в гуморальном звене иммунитета. 3) Исследовать содержание в крови лактоферрина (ЛФ) – белка, выделяющегося нейтрофилами и являющегося маркером аллергического воспаления, а также обладающего антиоксидантными свойствами.

#### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Обследовано 20 подростков с atopической формой БА в возрасте 10–15 лет: 12 (60%) девочек, 8 (40%) мальчиков. У 15 больных верифицирована легкая степень БА, у 5 – средняя; 19 пациентов госпитализированы в связи с обострением БА, 1 – в приступном периоде.

Среди страдающих легкой формой БА у 6 госпитализированных отмечались следующие сопутствующие заболевания: аллергический ринит – 3 чел., поллиноз – 1 чел., аллергический риносинусит – 1 чел., atopический дерматит – 1 чел. У 1 ребенка состояние усугублялось наличием детского церебрального паралича.

У 4 больных со среднетяжелым течением БА сочеталась с аллергическим ринитом – 1 случай, аллергическим риносинуситом – также 1 случай, у 1 подростка диагностировано сочетание БА с аллергическим ринитом и рецидивирующим отеком Квинке, у 1 – аллергического риносинусита с atopическим дерматитом.

Все они обследованы до начала базисной терапии.

Контрольную группу составили 10 здоровых детей без каких-либо клинических проявлений непереносимости пищевых, бытовых, пылевых и лекарственных веществ в анамнезе.

Для исследования производили забор периферической крови путем внутривенной пункции в пробирки с добавлением гепарина. Количество лимфоцитов с маркерами экспрессии CD 3<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 4<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> CD 8<sup>+</sup>, CD 8<sup>+</sup>, CD 3<sup>-</sup> CD 16 & CD 56<sup>+</sup>, CD 19<sup>+</sup>, CD 19<sup>+</sup> CD 23<sup>+</sup>, CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>+</sup>, CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>-</sup>, CD3<sup>+</sup>CD 25<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> CD62 L<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup>CD 4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>, CD 3<sup>+</sup> TC Rab<sup>-</sup> определяли с использованием моноклональ-

ных антител (МКАТ) к соответствующим антигенам (CD) (набор «IMK Plus» «Becton Dickinson», США). Для этого клетки инкубировали с МКАТ к CD, меченными FITC и PE. Анализ образцов проводили на лазерном проточном цитофлюориметре фирмы «Becton Dickinson» с программой «Симул СЕТ» для анализа данных.

Специальная методика исследования включала определение содержания в сыворотке крови концентрации суммарного IgE методом иммуноферментного анализа с применением диагностических тест-систем производства ЗАО «Вектор-Бест» (Новосибирск).

Для количественного определения лактоферрина (ЛФ) в иммуноферментном анализе (ИФА) были исследованы образцы сывороток крови этих больных с помощью набора реагентов Лактоферрин-стрип (ЗАО «Вектор-Бест»).

Статистическую обработку полученных данных проводили на IBM Pentium 4 с применением программы «Microsoft Excel». Результаты подвергнуты статистической обработке с помощью критерия t Стьюдента.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты популяционного и субпопуляционного состава лимфоцитов периферической крови больных БА и лиц контрольной группы приведены в табл. 1.

Выявлена тенденция к снижению абсолютного количества Т-лимфоцитов с фенотипом CD 3<sup>+</sup>, CD 4<sup>+</sup>, CD 8<sup>+</sup> по сравнению со здоровыми подростками, но статистически достоверной разницы не отмечено. Полученные данные совпадают с результатами других исследователей [3].

Оценка функциональной активности Т-клеток проводилась с помощью определения экспрессии маркеров активации (CD 4<sup>+</sup> CD 25<sup>+</sup>).

Показано, что патогенетическая роль CD 4<sup>+</sup> Т-клеток, экспрессирующих α-цепь рецептора IL-2 (CD 25<sup>+</sup>), при аллергических процессах не менее важна, чем роль дисбаланса Th 1 / Th 2 [10]. Наличие дисбаланса с преобладанием Th2-клеток может коррелироваться CD 4<sup>+</sup> CD 25<sup>+</sup>-клетками и не приводит к развитию аллергического процесса [11]. Нами зарегистрировано недостоверное снижение относительного числа CD 3<sup>+</sup> CD 4<sup>+</sup> CD 25<sup>+</sup> у больных БА.

Функциональные свойства Тγδ-лимфоцитов (CD 3<sup>+</sup> T CRab<sup>-</sup>) не вполне ясны: им приписывают функции Т-супрессоров, НК-подобную активность (НК – натуральные киллеры). В последнее время у Тγδ-лимфоцитов обнаружено наличие рецепторов к лактоферрину. Из табл. 1 видно, что доля CD 3<sup>+</sup>

Показатели иммунофенотипирования методом проточной цитометрии у здоровых и больных бронхиальной астмой в возрасте 10–15 лет ( $M \pm m$ )

Иммунофенотипы	Функциональная характеристика	Больные БА n=20		Здоровые n=10	
		%	абс.	%	абс.
CD3 <sup>+</sup>	Все Т-лимфоциты	65,95±1,35	1532,63±146,64	70,33±1,39	1818,33±151,54
CD 3 <sup>+</sup> CD 4 <sup>+</sup>	Т-хелперы	36,95±1,66	802,63±82,30	38,42±1,65	995,83±102,57
CD 3 <sup>+</sup> CD 8 <sup>+</sup>	Т-цитотоксические клетки	27,16±1,38	604,21±68,13	27,75±1,49	724,17 ±74,70
CD 8 <sup>+</sup>	Все цитотоксические лимфоциты Т-супрессоры/киллеры	34,74±1,45	771,05±86,58	35,0±1,95	915,83±95,73
CD 19 <sup>+</sup>	Все В-лимфоциты зрелые	14,47±0,71	306,84±29,13	13,33±0,72	344,17±27,59
CD 19 <sup>+</sup> CD 23 <sup>+</sup>	CD 23 от всех В-лимфоцитов (регуляторные цитокины и IgE)	53,95±3,50		60,17±5,78	
CD 19 <sup>+</sup> CD 62L <sup>+</sup>	В-лимфоциты, несущие L-Selectin (от всех В)	55,0±6,27*	–	71,92 ±5,04*	–
CD 20 <sup>+</sup> CD 5 <sup>+</sup>	В1 α-лимфоциты (источник аутоантител IgM)	49,16±2,81*	149,47±18,44*	60,92±4,16*	208,33±21,95*
CD 20 <sup>+</sup> CD 5 <sup>-</sup>	В2-лимфоциты (классические В-лимфоциты)	51,37±2,65	158,42±15,40*	39,08±4,16*	135,83±19,01
CD3-CD 16 & CD 56 <sup>+</sup>	NK – все естественные киллеры	15,21±1,22	319,47±30,52	15,33±1,25	411,67±59,17
CD 4 <sup>+</sup> CD 62L <sup>+</sup>	Т-хелперы, несущие L-селектин	78,63±2,24		80,75±2,10	–
CD 3 <sup>+</sup> CD 25 <sup>+</sup>	Т-лимфоциты, несущие интерлейкин 2a – рецептор, отвечающий за раннюю фазу активации	16,47±1,38	561,58±65,97	16,25±1,76	534,17±105,82
CD 3 <sup>+</sup> CD 4 <sup>+</sup> CD 25 <sup>+</sup>	Т-«супрессоры»	23,32±1,59	–	26,17±2,27	–
CD 3 <sup>+</sup> TC Rab <sup>-</sup>	Т-лимфоциты, гамма, дельта	8,74±1,12	–	7,0±1,2	–
CD 4/all CD 8 <sup>+</sup>	Иммунорегуляторный индекс	1,13 ±0,096		1,14±0,08	–

\* Статистически достоверная разница по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

T CRab<sup>-</sup> у здоровых и больных детей практически одинакова.

Абсолютное содержание клеток с фенотипами CD 19<sup>+</sup>, CD3-16<sup>+</sup>&56<sup>+</sup> несколько снижено. Иммунорегуляторный индекс по сравнению со здоровыми не изменялся.

Определение количества CD 23<sup>+</sup>-клеток позволяет дополнительно оценить свойства В-лимфоцитов. Клеточными функциями молекулы CD 2<sup>+</sup> являются регуляция синтеза IgE и провоспалительная функция. Для пациентов с аллергической патологией характерно статистически значимое повышение CD 23<sup>+</sup>-клеток в периферической крови [1]. Нами же не отмечено изменений относительного содержания лимфоцитов с маркерами экспрессии CD 19<sup>+</sup> CD 23<sup>+</sup>. Подобные результаты получены и Рамазановой Ш. Х.

Более точно состояние антителопродукции отражает узкая группа В2-лимфоцитов (фенотип CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>+</sup>) – классические В-лимфоциты. Другая популяция В-клеток – В1 α-лимфоциты (CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>+</sup>) – представляет собой особые лимфоциты, не подвер-

гающиеся мутации переменных генов. Эти клетки служат источником полиспецифических естественных антител IgM-аутоантител.

Обследованные нами больные БА имели достоверно пониженное абсолютное и относительное содержание CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>+</sup>-клеток, а также статистически достоверное повышение абсолютного числа CD 20<sup>+</sup> CD 5<sup>-</sup>.

Статистически значимое снижение доли клеток с фенотипом CD 19<sup>+</sup> CD 62L (L-селектин) у больных БА зарегистрировано нами. L-Selectin – белок, способствующий адгезии молекул. Селектин экспрессируется на лимфоцитах и имеет прямое отношение к их миграции.

IgE, по мнению большинства авторов, является основным патогенетическим звеном в механизме развития каких-либо воспалительных реакций при всех формах БА [6, 8].

Концентрация общего IgE у больных подростков была достоверно выше, чем в контрольной группе (табл. 2).

Таблица 2

Концентрации общего IgE в крови у больных БА и здоровых подростков

Обследуемые группы	Содержание IgE, МЕ/мл	
	M±m	min-max
Больные бронхиальной астмой (n=20)	353,0±51,1*	32,2–660
Контрольная группа (n=10)	164,7±57,4	20,9–592

\* Статистически достоверная разница по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

Концентрация IgE у 45% обследованных нами подростков контрольной группы находилась в пределах 20,9–42,5 МЕ/мл, у 55% – этот показатель превышал 100 МЕ/мл, достигая в одном случае 592 МЕ/мл, т. е. наряду с низкими показателями встречаются и высокие значения общего IgE. Подобный факт, а именно увеличение концентрации общего IgE у практически здоровых лиц, отмечен и другими исследователями [8]. Авторы связывают это с увеличением аллергизации населения вследствие негативного влияния экологических и социальных факторов.

Диагностика влияния экологического неблагополучия на организм человека очень сложна. Учитывая, что в контрольной группе детей уровень общего IgE в сыворотке крови значительно превышал норму, представлялось целесообразным изучить количество лактоферрина в крови здоровых и больных БА детей, поскольку исследование трансферрина крови предлагается как индикатор экопатогенного воздействия на человека [4]. К тому же лактоферрин выделяется нейтрофилами и является одним из растворимых маркеров аллергического воспаления [2].

В литературе имеются сведения о сывороточном лактоферрине как об острофазном белке и важном внеклеточном антиоксиданте [5]. Бронхолегочная система постоянно контактирует с такими активными инициаторами свободнорадикального окисления, как озон и  $\text{NO}_2$  – наиболее распространенными примесями атмосферы.

Показано также, что ЛФ проявляет дифференцирующий эффект на изолированные тимоциты и В-клетки, участвует в межклеточной кооперации [12].

В крови больных БА подростков уровень лактоферрина был в 1,8 раза выше показателя контрольной группы (табл. 3).

У здоровых подростков концентрации ЛФ, так же как и IgE, часто были значительными, что, возможно, является следствием воздействия экологических факторов на их организм.

Полученные данные подтверждают результаты других авторов, показывающих значительное коле-

Таблица 3

Концентрации лактоферрина в крови обследованных пациентов

Группа обследованных	Число обследованных	Концентрация ЛФ, нг/мл
Дети, больные БА	20	1348,8 ± 462,0*
Контрольная группа	10	769,3 ± 137,0

\* Статистически достоверная разница по сравнению с контролем ( $p < 0,05$ ).

бание содержания ЛФ в сыворотке больных и здоровых людей [5]. Достоверность различий показателей в опытной и контрольной группах свидетельствует, что полиморфноядерные лейкоциты выделяют ЛФ в течение острого периода болезни и отражают изменения в функционировании иммунной системы, т. е. это может иметь как диагностическое, так и прогностическое значение при различных патологических состояниях, в том числе и при БА.

## ВЫВОДЫ

1. Отмечено статистически достоверное напряжение В-клеточного звена иммунитета при относительно сохранном Т-клеточном звене.

2. Оценка количественных показателей Т- и В-систем иммунитета у больных бронхиальной астмой может быть использована для выработки иммунологических и прогностических критериев заболевания.

3. Анализ данных содержания общего иммуноглобулина Е и ЛФ в сыворотке крови больных БА и здоровых подростков в возрасте 10–15 лет показал достоверное увеличение концентраций этих показателей у больных.

4. Отмеченные значительные колебания уровней IgE и ЛФ у здоровых подростков позволяют говорить о неблагоприятном воздействии экологической обстановки на организм.

## Литература

1. Аллавердиева Л. И. Состояние иммунного статуса у детей и подростков, больных аллергическим ринитом // Иммунология. 2004. № 5. С. 284–286.
2. Балаболкин И. И. Механизмы развития БА у детей // *Materia Medica*. 2004. № 1 (41). С. 9–16.
3. Васнева Ж. П., Беляева Л. В. Возрастные особенности состояния системы общего иммунитета детей с бронхиальной астмой Поволжского региона // Вопросы современной педиатрии. 2002. Т. 1. Прил. 1. С. 16.



4. Вельтищев Ю. Е., Фокеева В. В. Экология и здоровье детей. Химия. Экопатология М., 1996. 57 с. [Рос. вестн. перинатол. и педиатр. (прил.)]
5. Мерзенюк З. А., Лыкова О. Ф., Коньшева Т. В. Лактоферрин и его диагностическая роль при клещевом энцефалите // Клин. лаб. диаг. 2003. № 4. С. 18–19.
6. Национальная программа «Бронхиальная астма у детей. Стратегия лечения и профилактика». М., 1997. 94 с.
7. Рамазанова Ш. Х., Курманова Г. М., Имамбаева Т. М., Шахим Г. А. Показатели иммунограммы у детей с бронхиальной астмой / Материалы научно-практической конференции (7–8 октября, 2002), посвященной 70-летию НЦП и ДХ // Современные проблемы педиатрии и детской хирургии. Алматы, 2002. С. 25.
8. Студеникин М. Я., Балаболкин И. И. Аллергические болезни у детей: Рук-во для врачей. М., 1988. 352 с.
9. Хаитов Р. М., Пинегин Б. В., Рустамов Х. И. Экологическая иммунология. М., 1995. 219 с.
10. Mamessier E., Botturi K., Vervloet D., Magnan A. T regulatory lymphocytes, atopy and asthma: a new concept in three dimensions // Rev. Mal. Respir. 2005. Vol. 22. P. 305–311.
11. Schmidt-Weber C. B., Blaser K. The role of the FOXP3 transcription factor in the immune regulation of allergic asthma // Curr. Allergy Asthma Rep. 2005. Vol. 5. P. 356–361.
12. Zimecki M., Mazurier J., Spik G. and Kapp L. A. Human lactoferrin induces phenotypic and functional changes in murine splenic B cells // Immunology. 1995. Vol. 86. P. 122–127.

## ПРИМЕНЕНИЕ АНТИАНГИОГЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В АДЬЮВАНТНОМ ЛЕЧЕНИИ РАКА МОЛОЧНОЙ ЖЕЛЕЗЫ

Член-корреспондент РАМН СЕМИГЛАЗОВ В. Ф., ДАШЯН Г. А., СЕМИГЛАЗОВ В. В.,  
ПАЛТУЕВ Р. М., КРИВОРОТЬКО П. В., САУРАН Э. Т., КОЛАРЬКОВА В. В.,  
ДОНСКИХ Р. В., ШАМИНА Е. А., КОЧЕТОВА И. А.

ФГУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н. Н. Петрова»,  
Санкт-Петербургский государственный медицинский университет  
им. акад. И. П. Павлова,  
Санкт-Петербург

Семиглазов В. Ф., Дашян Г. А., Семиглазов В. В., Палтуев Р. М., Криворотко П. В., Сауран Э. Т., Коларькова В. В., Донских Р. В., Шамина Е. А., Кочетова И. А. Применение антиангиогенных препаратов в адьювантном лечении рака молочной железы // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 74–83. ФГУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н. Н. Петрова», Санкт-Петербург, 189646, Песочный-2, Ленинградская ул., д. 68; Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова, Санкт-Петербург, 197022, ул. Льва Толстого, 6/8.

В обзоре рассматривается значение ангиогенеза в прогрессии и дальнейшем метастазировании опухоли, который является привлекательной мишенью для целенаправленной (таргетной) противоопухолевой терапии. Ожидается, что при проведении антиангиогенной терапии воздействие на этот процесс окажется наиболее эффективным видом адьювантной терапии на ранних этапах развития метастазов и до васкуляризации опухоли.

**Ключевые слова:** рак молочной железы, адьювантное лечение, ангиогенез, бевацизумаб.

Semiglazov V. F., Dashyan G. A., Semiglazov V. V., Paltuev R. M., Krivorotko P. V., Sauran E. T., Kolarkova V. V., Donskih R. V., Shamina E. A., Kochetova I. A. Anti-angiogenic drugs used in adjuvant treatment of breast cancer // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 74–83. N. N. Petrov Research Institute of Oncology, St. Petersburg, 189646; I. P. Pavlov State Medical University, St. Petersburg, 197022.

In the review was discussed the significance of angiogenesis in the progression of further tumor metastasis which is attractive target for purposeful antitumor (target) therapy. It is expect that the exposure to that process will be the most effective form of adjuvant treatment during anti-angiogenic therapy in the early stages of metastasis development and before tumor vascularization.

**Key words:** breast cancer, adjuvant therapy, angiogenesis, bevacizumab.

Рак молочной железы (РМЖ) является одной из основных проблем здравоохранения во всем мире. Это наиболее часто диагностируемая злокачественная опухоль у женщин, являющаяся второй основной причиной смертности у них. Так, в США риск заболеваемости РМЖ составляет 12,75% (1 из 7,8 женщин), риск смертности – 2,92% (1 из 34) [55]. Это заболевание уносит жизни более 502 тыс. женщин ежегодно [83]. Возникновение отдаленных метастазов РМЖ является наиболее частой причиной смертности среди женщин моложе 55 лет (при сравнении с неонкологическими заболеваниями).

Основным методом лечения раннего РМЖ остается хирургическое лечение, при этом необходимо оперативное удаление всех видимых очагов.

Поскольку после проведения местно-регионарного лечения раннего РМЖ основную опасность представляет развитие отдаленных метастазов, необходимость проведения системной адьювантной терапии очевидна, а лучшая выживаемость пациентов при этом подтверждается серией мета-анализов

[17]. Адьювантная терапия снижает риск развития местных рецидивов, а также риск развития отдаленных метастазов, что способствует повышению выживаемости больных с ранним раком молочной железы [45].

Местно-регионарный контроль, включающий в себя хирургическую операцию, в сочетании с лучевой терапией или без нее, необходим для снижения риска развития местного рецидива, а также устранения возможного источника метастазирования. Наиболее вероятен риск местного рецидивирования после органосохраняющих операций. Вероятность местного рецидива является значительной (>20%), даже при непораженных лимфатических узлах в подмышечной области. Таким образом, после органосохраняющих операций настоятельно рекомендуется проведение лучевой терапии на оставшуюся ткань молочной железы, а также дополнительное облучение ложа опухоли [7, 8, 19]. Хотя результаты всех исследований, направленных на оценку адьювантной лучевой терапии, проводимой после органосохраня-

ющих операций, продемонстрировали статистически достоверное уменьшение частоты развития местных рецидивов, ни в одном из них не отмечалось статистически достоверного снижения уровня смертности. Тем не менее, по последним данным, представленным EBC2CG (объединенная группа исследователей раннего рака молочной железы) [17], смертность от рака молочной железы через 15 лет снизилась с 35,9 до 30,5% у женщин, получивших лучевую терапию (абсолютное различие 5,4%; 95% ДИ, 2,1%–8,7%; соотношение уровня смертности от рака молочной железы 0,83; 95% ДИ, 0,75–0,91;  $p=0,002$ ).

С другой стороны, адъювантная химиотерапия назначается пациентам после местно-регионарного лечения и проводится в первую очередь с целью элиминации клинически не выявляемых метастазов. Данная стратегия лечения, необходимая для получения оптимальных результатов, разработана на основании опыта лечения подобных пациентов, у которых, несмотря на проведение достаточного местно-регионарного лечения, наблюдается развитие отдаленных метастазов, вызванное не выявляемыми микрометастазами.

Клинически не выявляемые микрометастазы возникают до удаления первичной опухоли. Эти метастазы могут представлять собой как отдельные опухолевые клетки, так и микроскопические колонии неопластических клеток, и на протяжении длительного времени (иногда нескольких лет) они могут оставаться клинически не выявляемыми.

У пациентов с ранним раком молочной железы существует риск рецидива заболевания, который наиболее высок в течение первых 5 лет после хирургического лечения [69]. Риск развития рецидива в течение первых 5 лет в 2,5 раза выше среди женщин моложе 50 лет (14,6%,  $p<0,0001$ ) по сравнению с женщинами в возрасте от 50 до 59 лет (5,9%,  $p<0,0001$ ). Основная причина смерти у таких больных – развитие отдаленных метастазов [15]. В настоящее время все чаще используются модели для прогнозирования риска развития рецидива и ответа на химиотерапию у пациентов, не получивших адъювантную химиотерапию, т. е. для выявления больных с низким риском развития рецидива, для которых проведение химиотерапии может представлять больший риск, нежели пользу [59]. При помощи данных моделей возможно составление прогнозов для популяций пациентов, но вряд ли удастся предсказать развитие рецидива у конкретного пациента.

Как показывают результаты мета-анализа, проведенного отделом клинических исследований Оксфордского университета под эгидой EBC2CG, значительное улучшение 10- и 15-летней безрецидивной выживаемости больных с ранним раком молочной железы наблюдается при проведении адъювантной

химиотерапии, с добавлением эндокринотерапии при гормоночувствительном РМЖ [17].

Опубликованные результаты исследований свидетельствуют о дополнительной пользе адъювантной химиотерапии с применением таксанов по сравнению с адъювантной химиотерапией, включающей антрациклины [18].

Несмотря на общепризнанную роль адъювантной химиотерапии в лечении ранней стадии рака молочной железы и ее значимое воздействие на улучшение показателей общей выживаемости, оптимальный режим адъювантной химиотерапии еще не определен. Также неизвестна и оптимальная продолжительность химиотерапии: в исследованиях продолжительности терапии никогда не подтверждалась меньшая эффективность длительной терапии, чем более короткой, также редко подтверждалось и ее превосходство. Таким образом, во всем мире режимы адъювантной терапии разрабатываются на местном уровне с учетом доступности препаратов, опыта, географического доступа пациентов к медицинскому учреждению и, самое главное, на основании имеющихся литературных данных.

Несмотря на произошедшие улучшения в области диагностики, хирургических методов, видов местной и системной адъювантной терапии, общего ухода за пациентами, а также оптимальной полихимиотерапии совместно с эндокринной терапией или без нее, большая часть смертельных исходов наступает по причине устойчивости метастазов к традиционным методам лечения. Главным препятствием для устранения метастазов является биологическая гетерогенность раковых клеток метастазов и микросреды конкретного органа, что может изменить ответ клеток метастазов опухоли на системную химиотерапию.

Традиционно адъювантная системная терапия раннего рака молочной железы ограничивается цитотоксической химиотерапией и/или гормональной терапией. Однозначно, чтобы росло число благоприятных исходов рака молочной железы, потребуются новые методы лечения, в большей степени основанные на понимании базовой биологии рака молочной железы.

В настоящее время проводятся клинические исследования целого ряда новых «мишеней» и испытания соответствующих препаратов широкого спектра действия. Есть надежда, что «таргетная» (биологически направленная) терапия обеспечит лучший контроль заболевания с применением менее токсичных видов терапии и что в будущем комбинирование «таргетной» терапии с химиотерапией или эндокринотерапией облегчит индивидуализацию лечения отдельных видов рака.

Одним из таких подходов является внедрение ангиогенной терапии как части системного лечения пациентов с ранней стадией рака молочной железы.

### АНГИОГЕНЕЗ ОПУХОЛИ

Ангиогенез является важным для нормальных физиологических процессов, включающих развитие плода, репродуктивную функцию и заживление ран. Ангиогенез – это процесс, включающий ряд ступеней, который регулируется про- и антиангиогенными факторами роста, выделяемыми в результате гипоксии, гипогликемии, механического стресса, выделения воспалительных протеинов и генетических изменений.

Известно, что образование кровеносных сосудов (неоваскуляризация/ангиогенез) является необходимым условием роста опухоли и ее инвазивности и, кроме того, играет важную роль в процессе отдаленного метастазирования [25, 27–29, 31–33, 81, 82]. Именно решающая роль ангиогенеза в прогрессии и ее дальнейшем метастазировании рассматривается как привлекательная мишень для целенаправленной противоопухолевой терапии.

Ангиогенез регулируется за счет равновесия между местными проангиогенными и антиангиогенными факторами. Сосудистый эндотелиальный фактор роста (vascular endothelial growth factor – VEGF) является наиболее мощным специфичным стимулятором ангиогенеза из всех известных и служит ключевым регулятором формирования новых кровеносных сосудов при эмбриогенезе, росте скелета и реализации репродуктивной функции. Он также участвует в патологическом ангиогенезе, в частности связанном с ростом опухоли. Белки семейства VEGF обладают рядом биологических эффектов, среди которых отмечаются стимуляция митоза и миграции клеток эндотелия, индуцирования протеиназы, вызывающих ремоделирование внеклеточного матрикса, повышение сосудистой проницаемости и поддержание жизнеспособности вновь образованных кровеносных сосудов [21, 23, 28].

Опухоль стимулирует деление находящихся в покое клеток эндотелия с образованием новых кровеносных сосудов за счет высвобождения факторов роста, которые связываются с ближайшими клетками эндотелия. Связывание VEGF с соответствующими рецепторами запускает сигнальный каскад, регулирующий клеточные процессы по формированию новых кровеносных сосудов [40]. VEGF является мощным стимулятором ангиогенеза, повышает проницаемость сосудов, стимулирует формирование капилляров и оказывает митогенный эффект на клетки сосудистого эндотелия [49]. Данный механизм заставляет клетки эндотелия делиться каждые 7–10 дней, вместо

нормального показателя примерно раз в 10 лет. Это «ангиогенное переключение» необходимо для того, чтобы опухоль получила необходимые питательные вещества и кислород и превысила  $1 \text{ мм}^3$  в объеме. Вновь сформированные сосуды в значительной степени зависят от VEGF, и во многих опухолях экспрессия мРНК VEGF повышена [21].

Повышенные уровни VEGF к настоящему времени обнаружены в большинстве изученных опухолей, включая опухоли легкого, молочной железы, ободочной кишки, почки и яичника, причем избыточная экспрессия связана с худшим прогнозом [12, 30, 37, 47, 58, 65, 74].

Онкогенез микрометастазов представляет собой многоэтапный процесс, ведущий к аккумуляции генетических изменений, в том числе увеличению доминантно-негативных мутаций (gain-of-function) в онкогенах в результате повышенной регуляции VEGF [66]. Помимо генетических и эпигенетических изменений, для распространения и прогрессирования опухоли необходим другой скрытый этап, отражающий ангиогенные изменения, что заключается в приобретении «покоящимися» микрометастазами ангиогенного фенотипа [14, 51].

Метастазы становятся клинически выявляемыми только после того, как изначально микроскопическая неангиогенная опухоль начнет постоянно увеличиваться в размере. Общеизвестный факт, что рост опухоли более чем на 1–2 мм связан с ангиогенезом [26]. Ограничение роста опухоли связано с расстоянием, на которое диффундирует кислород из сосудов, которое составляет приблизительно 100 мкм [76]. Когда ангиогенное действие отсутствует или является недостаточным, рост и увеличение размеров метастазов может занять годы [2–4], но признаки пролиферации опухолевой клетки могут быть столь же выраженными, как и при больших васкуляризированных опухолях [56].

Возникновение, обратимость и молекулярная регуляция времени развития ангиогенных изменений остаются центральными неразрешенными вопросами в биологии рака молочной железы. Установлено, что для каждого типа рака существуют характерный и предсказуемый период состояния покоя, а также устойчивое соотношение тех опухолей, которые преобразуются в ангиогенный фенотип [56]. Тем не менее, по мере прогрессии опухоли, вырабатывается все большее количество проангиогенных пептидов [68]. Следовательно, ожидается, что при проведении антиангиогенной терапии воздействие на этот ключевой биологический процесс окажется наиболее эффективным видом адъювантной терапии на ранних этапах развития метастазов и до васкуляризации опухоли.

## ФАКТОР РОСТА ЭНДОТЕЛИЯ СОСУДОВ (VEGF)

Среди VEGF выделяют VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E и плацентарные факторы роста 1 и 2 (PlGF 1 и 2).

VEGF-A повышает сосудистую проницаемость и способствует ангиогенезу; VEGF-B, как полагают, играет роль в регуляции деградации внеклеточного матрикса, клеточной адгезии и миграции; VEGF-C и VEGF-D участвуют главным образом в лимфангиогенезе. PlGF в большом количестве экспрессируется тромбоцитом, модулируя развитие сосудистой сети в плаценте [29, 74, 77, 79]. VEGF-A является многофункциональным цитокином, представляющим собой центральный регулятор физиологического и патологического ангиогенеза [11, 27]. Его ген за счет альтернативного сплайсинга порождает несколько изоформ аминокислот 121, 165, 198 и 206. VEGF-165 – это доминирующая изоформа, которая играет критическую роль в ангиогенезе опухоли, тогда как изоформа аминокислоты 121 в большей степени вырабатывается инвазивной раковой опухолью молочной железы [68]. Опухолевые клетки выделяют VEGF в ответ на многие раздражители: гипоксия, низкий уровень pH или клеточный стресс, высвобождение проангиогенных клеточных ростовых факторов, таких как b-FGF и EGF. Важными пусковыми факторами для усиления продукции VEGF опухолью служат также такие онкогены, как *ras*, *VHL*, *bcl-2* [24, 43, 50].

Считается, что VEGF играет главную роль в развитии карциномы молочной железы, поскольку повышенный уровень цитозольного VEGF-A представляет собой значимый и независимый негативный прогностический фактор, влияющий на безрецидивную и общую выживаемость пациентов с ранней стадией рака молочной железы, независимо от того, есть ли у них поражения лимфатических узлов или нет [48, 68, 72]. Результаты исследований свидетельствуют об увеличении процента выживаемости и количества митогенетических сигналов, стимулированных VEGF-A, в линиях раковых клеток молочной железы [6, 54, 64].

Открытие гена VEGF привело к идентификации VEGF-специфичных тирозинкиназных рецепторов: рецепторы VEGF-1 (известного как *flt-1*), рецепторы VEGF-2 (*flk-2* или *KDR*) и рецепторы VEGF-3 (*flt-4*). Эти рецепторы различаются по наличию 7 иммуноглобулиноподобных петель в экстрацеллюлярной области и области расщепленной тирозинкиназы в интрацеллюлярной части [57]. Рецепторы VEGF экспрессируются на поверхности многих клеток, вырабатываемых костным мозгом, например кроветворящих клеток [42], макрофагов и эндотелиальных клеток [21], а также гладкомышечных клеток сосудов [39].

Каждая изоформа связывается с определенной субпопуляцией данных рецепторов. Связывание запускает скрытый сигнальный механизм, активизирующий многие функции, в том числе мобилизацию эндотелиальных клеток-предшественников из костного мозга, которые, вероятно, играют значительную роль в неоваскуляризации опухоли. Этот процесс является также мощным митогеном сосудистых эндотелиальных клеток, которые распространяются и перемещаются в участок роста опухоли, для того чтобы начать образование новых кровеносных сосудов [22]. После образования новых сосудов VEGF функционирует как фактор выживаемости и снижает апоптоз в плохо развитой сосудистой сети [5]. За счет действия данного механизма опухолевые клетки получают возможность продолжать свой рост, поскольку обеспечиваются постоянным кровоснабжением и питанием.

Рецепторы VEGF-1 и VEGF-2 имеют экспрессию главным образом в эндотелиальных клетках, так же как ряд видов онкогенных клеток, и медируют биологическое воздействие VEGF. Каждый из рецепторов индуцирует свой путь трансдукции сигналов [1, 21]. Эти пути ведут к генерированию протеаз, необходимых для разрушения экстрацеллюлярной матрицы на первом этапе ангиогенеза, который завершается с началом клеточной пролиферации и миграции [44]. Сейчас не ясно, какой из путей наиболее активен при стимулировании ангиогенеза.

VEGF-A усиливает экспрессию как VEGF рецептора-1, так и VEGF рецептора-2 на эндотелиальных клетках опухоли [78].

Связывание VEGF-A с VEGF рецептором-2 необходимо для нормального ангиогенеза и гемопозеза, и основные эффекты VEGF-A опосредованы через этот рецептор [60]. Связывание VEGF-A ведет к образованию димеров VEGF рецепторов-2, что запускает процесс фосфорилирования тирозинкиназы. Это, в свою очередь, индуцирует фосфорилирование нескольких цитоплазматических сигнальных белков и начало соответствующих сигнальных каскадов, таких как каскад фосфолипазы C, фосфоинозитол-3-киназы, *Ras* и *Src*. VEGF-C и VEGF-D тоже связываются с VEGF рецептором-2, а также с VEGF рецептором-3 (*flt-4*) [20, 34].

VEGF рецептор-1 связывается с VEGF-A, VEGF-B и PlGF, но его точные функции не ясны. Имеется предположение, что VEGF рецептор-1 является деоупреципитатором, участвующим в отрицательной регуляции митогенного сигнала как в мембранно-связанной, так и в растворимой формах [60].

Третий рецептор VEG – VEGF рецептор-3 – не связывается с VEGF-A и обнаруживается главным образом в лимфатическом эндотелии. VEGF рецептор-3 связывается с VEGF-C и VEGF-D и участвует в основном в лимфангиогенезе.

Результаты недавно проведенных исследований показали, что рецепторы VEGF также экспрессируются некоторыми опухолевыми клетками, в том числе злокачественными клетками крови и клетками солидных опухолей, например раковыми клетками молочной железы [9, 38, 64, 73, 75, 80]. Недавние исследования подтвердили и то, что экспрессия рецепторов VEGF-1 карциномой молочной железы является существенным показателем неблагоприятного исхода болезни, поскольку повышает риск образования метастазов и снижает отдаленную безрецидивную выживаемость [13].

### БЕВАЦИЗУМАБ

Бевацизумаб представляет собой гуманизованное [63] моноклональное антитело к VEGF (rhUMAb VEGF), состоящее из каркасных зон человеческого IgG1 (93%), и определяющих комплементарность антигенсвязывающих зон мышинового моноклонального антитела (muMAb VEGF A.4.6.1), блокирующих связывание человеческого VEGF с соответствующими рецепторами (7%). Молекулярная масса бевацизумаба, гликозилированного антитела, составляет около 149 000 дальтон.

Бевацизумаб распознает все изоформы VEGF с константой диссоциации около  $8 \times 10^{-10}$  моль/л. Он не распознает другие исследованные пептидные факторы роста (фактор роста фибробластов, эпидермальный фактор роста, фактор роста гепатоцитов, тромбоцитарный фактор роста и фактор роста нервов). Он может оказывать прямой антиангиогенный эффект, связываясь с VEGF и удаляя его из зоны расположения опухоли. Дополнительное противоопухолевое действие обусловлено влиянием бевацизумаба на

сосудистую сеть опухоли, интерстициальное давление и проницаемость кровеносных сосудов, что улучшает доставку химиотерапевтических препаратов к опухолевым клеткам [41].

**Бевацизумаб в лечении рака молочной железы.** Применение бевацизумаба изучалось более чем у 1000 больных в ряде клинических исследований (табл. 1).

В одном из ранних исследований II фазы, проведенном под руководством Burnstein, оценивалась эффективность комбинированной терапии бевацизумабом и винорельбином. В исследование было включено 56 больных с метастатическим РМЖ (МРМЖ). Для многих больных это была вторая линия терапии. Ответ на лечение был зарегистрирован у 30% пациентов; неожиданных случаев токсичности терапии не отмечалось [10].

Учитывая эффективность и минимальную токсичность терапии, было проведено исследование III фазы (AVF2119g), в котором приняли участие 462 больных МРМЖ, рефрактерных к химиотерапии, включающей антрациклины и таксаны. Больным путем рандомизации назначалось или лечение капецитабином в сочетании с бевацизумабом (в дозе 10 мг/кг каждые 2 нед), или монотерапия капецитабином. В целом лечение хорошо переносилось, но 12% больных в каждой группе преждевременно прекратили участие в исследовании в связи с возникновением нежелательных явлений. Как и ожидалось, терапия бевацизумабом вызывала гипертензию, протеинурию и слабые кровотечения слизистых оболочек, но эти проявления токсичности препарата редко были тяжелыми.

Хотя результаты исследования и не подтвердили эффективность препарата по основному критерию

Таблица 1

Клинические исследования бевацизумаба

Исследование	Фаза	Характер заболевания	Схема	Частота общего ответа
Burnstein, 2002 (n=56)	II	Леченный и нелеченный МРМЖ	Бевацизумаб/винорельбин	30%
Miller, 2005 (n = 462)	III	Леченный МРМЖ	Бевацизумаб/капецитабин (n = 232)	20%
			Капецитабин (n = 230)	9%
Miller, 2005 (n = 680)	III	Нелеченный МРМЖ или местный рецидив	Бевацизумаб/Паклитаксел (n = 341)	30%
			Паклитаксел (n = 349)	14%
Miller, 2006 (n = 103)	II	Нелеченный МРМЖ	Бевацизумаб/капецитабин	34%
Ramaswamy, 2006 (n = 27)	II	Леченный и нелеченный МРМЖ	Бевацизумаб/доцетаксел	52%
Perez, 2006 (n = 45)	II	Нелеченный МРМЖ	Бевацизумаб/капецитабин/доцетаксел	53%
Link, 2006 (n = 27)	II	Леченный МРМЖ	Бевацизумаб/альбуминсвязанный паклитаксел	59%

оценки, они являются важными, поскольку показывают значительное увеличение эффективности лечения при добавлении бевацизумаба [3]. Действие бевацизумаба, которое впервые было отмечено в исследованиях II фазы, подтвердилось; при этом токсичность оставалась минимальной и редко ограничивала лечение.

На сегодняшний день ключевым исследованием бевацизумаба является исследование E2100 Восточной кооперированной онкологической группы, или ECOG [53, 85]. Это первое исследование III фазы по сравнению бевацизумаба (10 мг/кг каждые 2 нед) в сочетании с еженедельным применением паклитаксела и еженедельной монотерапии паклитакселом.

В исследование E2100 были включены больные с нелеченым МРМЖ или рецидивами после адъювантной химиотерапии на ранних стадиях заболевания. Предшествующая химиотерапия по поводу метастазирующего заболевания не допускалась. Ранее больные могли получать адъювантную химиотерапию таксанами ± герцептин, если безрецидивный период превышал 12 мес. Всего набрано 722 пациента, из которых 680 подходили для анализа данных исследования по критериям ECOG. Включенные в исследование больные были рандомизированы в 2 группы: 1-я группа больных получала паклитаксел 90 мг/м<sup>2</sup> еженедельно в течение 3 нед с последующим недельным перерывом (n=354) и 2-я группа (исследовательская) – паклитаксел 90 мг/м<sup>2</sup> еженедельно в течение 3 нед + бевацизумаб (Авастин®) 10 мг/кг каждые 2 нед (n=368). Основной целью исследования была оценка медианы времени до прогрессирования заболевания.

Изучение выживаемости без прогрессирования показало, что первичная точка продолжительности выживаемости без прогрессирования пересекла границу статистической достоверности в пользу исследовательской группы больных, получавших Авастин® (табл. 2).

Таблица 2

Эффективность паклитаксела или комбинации паклитаксел + Авастин® у больных с метастатическим раком молочной железы в I-й линии лечения [53]

Показатель	Паклитаксел	Паклитаксел + Авастин
Частота ответа, %	13,8	29,9
Медиана времени до прогрессирования, мес	6,7	13,3
Медиана общей выживаемости, мес	22	28

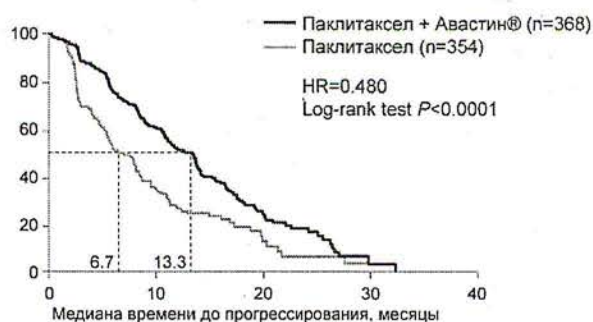


Рис. 1. Медиана времени до прогрессирования у больных, получавших паклитаксел в сочетании с бевацизумабом, в сравнении с монотерапией паклитакселом

Согласно результатам исследования, у пациентов, получавших Авастин в комбинации с паклитакселом, риск прогрессирования заболевания или смерти уменьшился на 52% при значении отношения рисков 0,48 (1-0,48=0,52 или 52%), что соответствует увеличению времени до прогрессирования заболевания в 2 раза (1/0,48= ~2) (рис. 1).

Данные об общей выживаемости для сочетания паклитаксела с бевацизумабом по сравнению с монотерапией паклитакселом к настоящему времени недоступны, в связи с недостаточным количеством событий, требуемых для статистического анализа.

Переносимость лечения в обеих группах была хорошей и соответствовала известным профилям побочных эффектов для обоих препаратов (табл. 3).

Таблица 3

Нежелательные явления 3–5 степени по Общим критериям оценки нежелательных явлений NCI-CTCAE в группах паклитаксела или комбинации паклитаксел + Авастин® у больных с метастатическим раком молочной железы в I-й линии лечения

Побочное явление	Паклитаксел, % (n=346)	Паклитаксел + бевацизумаб, % (n=362)
Периферическая сенсорная невропатия	16,5 (57)	23,2 (84)
Гипертензия	1,4 (5)	15,5 (56)
Артериальная тромбоэмболия	0	2,5 (9)
Кровотечения	0	2,0 (7)
Дисфункция левого желудочка	0	1,4 (5)
Усталость	4,9 (17)	8,6 (31)
Инфекция	4,6 (16)	8,3 (30)
Мышечная слабость	2,3 (8)	4,4 (16)
Диарея	1,4 (5)	3,6 (13)
Протеинурия	0,0 (0)	3,0 (11)
Обезвоживание	0,3 (1)	2,5 (9)

В клинических исследованиях бевацизумаба отмечались случаи бессимптомного ухудшения фракции выброса левого желудочка (ФВЛЖ) и застойной сердечной недостаточности (ЗСН), количество которых может увеличиваться в группе пациентов, прошедших лечение препаратами класса антрациклинов или облучение грудной стенки.

В исследовании E2100 приблизительно 40% рандомизированных пациентов прошли адъювантную химиотерапию, включающую антрациклины. Несмотря на это, у 1,4% больных, рандомизированных в группу комбинированной терапии (по сравнению с пациентами в контрольной группе лечения), развивалось ухудшение ФВЛЖ 3 степени, в то время как побочных явлений 4 степени не отмечалось.

Исследование E2100 показало, что комбинация Авастина® с паклитакселом хорошо переносилась и была безопасна для пациенток с местнораспространенным или метастатическим раком молочной железы в рекомендуемой дозе 10 мг/кг 1 раз в 2 нед.

Результаты проведенных клинических исследований показали, что токсичность бевацизумаба одинакова при лечении всех видов опухолей. При этом можно отметить некоторые нежелательные явления, характерные для терапии бевацизумабом в сочетании с различными режимами химиотерапий, представляющие особый интерес: нейтропения, гипертензия, застойная сердечная недостаточность (ЗСН), осложненное заживление ран, образование свищей и перфорация желудочно-кишечного тракта, кровотечения, протеинурия, обратимый синдром задней лейкоэнцефалопатии, тромбоэмболия (артериальная и венозная).

Совсем недавно высказано предположение, что ангиогенез происходит на самых ранних стадиях развития опухоли – вероятно, при наличии всего 100–300 раковых клеток. Отсюда следует, что, возможно, антиангиогенное лечение наиболее эффективно при микрометастатическом заболевании, до того как оформятся видимые метастазы. Так, в моделях грызунов одновременное введение растворимого VEGF-рецептора и раковых клеток может ингибировать последующий ангиогенез и рост опухоли. Отсюда был сделан вывод, что анти-VEGF-терапия, возможно, ингибирует рост опухоли более эффективно до начала развития ангиогенеза [36, 46].

В связи с тем, что неотъемлемой составляющей режимов адъювантной химиотерапии являются антрациклины, обладающие известным воздействием на сердечно-сосудистую систему, добавление бевацизумаба к таким режимам вызывало опасения.

Но исследование адъювантной терапии под руководством EOCG (E2104), проведенное с целью оценки частоты возникновения клинически значимых нарушений функции сердечной системы и изменений

функции левого желудочка при добавлении бевацизумаба к уплотненной адъювантной химиотерапии доксорубицином и циклофосфамидом (АС) с последующим лечением паклитакселом, показало, что добавление бевацизумаба к режимам адъювантной терапии, включающим доксорубин, не вызывает недопустимого увеличения случаев развития клинической и субклинической кардиотоксичности.

Эффективность бевацизумаба оценивается в ряде проходящих клинических исследований, в комбинации с паклитакселом, доцетакселом, капецитабином, абраксаном и др. [16, 67, 70]. Изучается эффективность подключения бевацизумаба к схеме химиотерапия + трастузумаб у больных с HER2 позитивными опухолями [61, 62].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вероятность появления отдаленных метастазов рака молочной железы даже среди женщин, у которых заболевание было выявлено на ранней стадии, подчеркивает необходимость поиска других видов системной терапии, улучшающих общую выживаемость.

Прогрессирование и метастазирование РМЖ приводит к устойчивости опухоли ко многим видам противоопухолевой терапии, а следовательно, во избежание вероятного появления устойчивости опухоли к препаратам, проведение терапии требуется начинать по возможности рано, когда опухоль еще маленькая.

Как известно, по мере прогрессирования рака молочной железы нарастает экспрессия множества проангиогенных факторов и ангиогенных путей становится все больше. Ранняя антиангиогенная терапия, направленная на микрометастазы, может быть более эффективной, поскольку в них менее вероятно присутствие этого множества проангиогенных факторов роста, и, следовательно, менее вероятно развитие устойчивости к терапии, направленной на VEGF. Результаты исследований свидетельствуют о том, что терапия, направленная на VEGF, может приостановить рост опухоли более эффективно, если проводится до начала ангиогенеза [35, 36, 46, 71].

Представляется крайне важным совершенствовать методы, позволяющие проводить отбор пациентов, которые получили бы максимальную пользу от анти-VEGF-терапии.

## Литература

1. Adams J., Carder P., Downey S. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in breast cancer: comparison of plasma, serum, and tissue VEGF and microvessel density and effects of tamoxifen // *Cancer Res.* 2000. Vol. 60. P. 2898–2905.



2. Aguirre G., Kovalski K., Ossowski L. Tumor dormancy induced by downregulation of urokinase receptor in human carcinoma involves integrin and MAPK signaling // *J. Cell Biol.* 1999. Vol. 147. P. 89–104.
3. Aguirre-Ghiso J., Estrada Y., Liu D., Ossowski L. ERK(MAPK) activity as a determinant of tumor growth and dormancy; regulation by p38(SAPK) // *Cancer Res.* 2003. Vol. 63. P. 1684–1695.
4. Aguirre-Ghiso J., Liu D., Mignatti A. et al. Urokinase receptor and fibronectin regulate the ERK(MAPK) to p38(MAPK) activity ratios that determine carcinoma cell proliferation or dormancy in vivo // *Mol. Biol. Cell.* 2001. Vol. 12. P. 863–879.
5. Alon T., Hemo I., Itin A. et al. Vascular endothelial growth factor acts as a survival factor for newly formed retinal vessels and has implications for retinopathy of prematurity // *Nat. Med.* 1995. Vol. 1. P. 1024–1028.
6. Bachelder R., Crago A., Chung J. et al. Vascular endothelial growth factor is an autocrine survival factor for neuropilin-expressing breast carcinoma cells // *Cancer Res.* 2001. Vol. 61. P. 5736–5740.
7. Bartelink H., Horiot J., Poortmans P. et al. Recurrence rates after treatment of breast cancer with standard radiotherapy with or without additional radiation // *N. Engl. J. Med.* 2001. Vol. 345. P. 1378–1387.
8. Bartelink H. Impact of radiation dose on local control, fibrosis and survival after breast conserving treatment: 10 years results often EORTC trial 22881-10882 // 29th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium. 2006.
9. Bellamy W. T., Richter L., Frutiger Y., Grogan T. M. Expression of vascular endothelial growth factor and its receptors in hematopoietic malignancies // *Cancer Res.* 1999. Vol. 59. P. 728–733.
10. Burnstein H., Parker L., Savoie J. Phase II trial of the anti-VEGF antibody bevacizumab in combination with vinorelbine for refractory advanced breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat.* 2002. Vol. 76. S115.
11. Carmeliet P., Jain R. K. Angiogenesis in cancer and other diseases // *Nature.* 2000. Vol. 407. P. 249–257.
12. Clark G. M., Sledge G. W., Osborne C. K. et al. Survival from first recurrence; relative importance of prognostic factors in 1,015 breast cancer patients // *J. Clin. Oncol.* 1987. Vol. 5. P. 55–61.
13. Dales J. P., Garcia S., Bonnier P. et al. Prognostic significance of VEGF receptors, VEGFR-1 (Flt-1) and VEGFR-2 (KDR/Flk-1) in breast carcinoma // *Ann. Pathol.* 2003. Vol. 23. P. 297–305.
14. Demicheli R., Terenziani M., Valagussa P. et al. Local recurrences following mastectomy: support for the concept of tumor dormancy // *J. Natl. Cancer Inst.* 1994. Vol. 86. P. 45–48.
15. DeNardo S. J. Radioimmunodetection and therapy of breast cancer // *Semin. Nucl. Med.* 2005. Vol. 35. P. 143–151.
16. Desai N., Trieu V., Yao Z. et al. Increased antitumor activity, intratumor paclitaxel concentrations, and endothelial cell transport of cremophor-free, albumin-bound paclitaxel, ABI-007, compared with cremophor-based paclitaxel [published correction appears in *Clin. Cancer Res.* 2006. Vol. 12. P. 3869] // *Clin. Cancer Res.* 2006. Vol. 12. P. 1317–1324.
17. Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group E. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials // *Lancet.* 2005. Vol. 365. P. 1687–1717.
18. EBCTCG. Small improvements in treatment regimens produce large cumulative effects in early breast cancer // *San Antonio Breast Cancer Symposium.* 2006.
19. Eifel P., Axelson J. A., Costa J. et al. National Institutes of Health Consensus Development Conference Statement: adjuvant therapy for breast cancer, November 1–3, 2000 // *J. Natl. Cancer Inst.* 2001. Vol. 93. P. 979–989.
20. Eliceiri B. P., Paul R., Schwartzberg P. L. et al. Selective requirement for Src kinases during VEGF-induced angiogenesis and vascular permeability // *Mol. Cell.* 1999. Vol. 4. P. 915–924.
21. Ferrara N., Davis-Smyth T. The biology of vascular endothelial growth factor // *Endocr. Rev.* 1997. Vol. 18. № 1. P. 4–25.
22. Ferrara N., Gerber H. P., LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors // *Nat. Med.* 2003. Vol. 9. P. 669–676.
23. Ferrara N., Kerbel R. S. Angiogenesis as a therapeutic target // *Nature.* 2005. Vol. 438. P. 967–974.
24. Ferrara N. Molecular and biological properties of vascular endothelial growth factor // *J. Mol. Med.* 1999. Vol. 77. P. 527–543
25. Fidler, Ellis L. M. The implications of angiogenesis for the biology and therapy of cancer metastasis // *Cell.* 1994. Vol. 79. P. 185–188.
26. Folkman J., Kalluri R. Cancer without disease // *Nature.* 2004. Vol. 427. P. 787.
27. Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease // *Nat. Med.* 1995. Vol. 1. P. 27–31.
28. Folkman J. Angiogenesis // *Annu. Rev. Med.* 2006. Vol. 57. P. 1–18.
29. Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications // *N. Engl. J. Med.* 1971. Vol. 285. P. 1182–1186.
30. Gasparini G., Toi M., Gion M. et al. Prognostic significance of vascular endothelial growth factor protein in node-negative breast carcinoma // *JNCI.* 1997. Vol. 89. P. 139–147.
31. Gasparini G. The rationale and future potential of angiogenesis inhibitors in neoplasia // *Drugs.* 1999. Vol. 58. P. 17–38.
32. Guidi A. J., Fischer L., Harris J. R., Schnitt S. J. Micro vessel density and distribution in ductal carcinoma in situ of the breast // *J. Natl. Cancer Inst.* 1994. Vol. 86. P. 614–619.
33. Guinebretiere J. M., Le Monique G., Gavaille A. et al. Angiogenesis and risk of breast cancer in women with fibrocystic disease // *J. Natl. Cancer Inst.* 1994. Vol. 86. P. 635–636.

34. Guo D., Jia Q., Song H. Y. et al. Vascular endothelial cell growth factor promotes tyrosine phosphorylation of mediators of signal transduction that contain SH2 domains. Association with endothelial cell proliferation // *J. Biol. Chem.* 1995. Vol. 270. P. 6729–6733.
35. Hanahan D., Christofori G., Naik P., Arbeit J. Transgenic mouse models of tumour angiogenesis: the angiogenic switch, its molecular controls, and prospects for preclinical therapeutic models // *Eur. J. Cancer.* 1996. Vol. 32A:23. P. 86–93.
36. Harmey J. H., Bouchier-Hayes D. Vascular endothelial growth factor (VEGF), a survival factor for tumour cells: implications for anti-angiogenic therapy // *Bioessays.* 2002. Vol. 24. P. 280–283.
37. Heffelfinger S. C., Miller M. A., Yassin R. et al. Angiogenic growth factors in preinvasive breast disease // *Clin. Cancer Res.* 1999. Vol. 5. P. 2867–2876.
38. Hicklin D. J., Ellis L. M. Role of the vascular endothelial growth factor pathway in tumor growth and angiogenesis // *J. Clin. Oncol.* 2005. Vol. 23. P. 1011–1027.
39. Ishida A., Murray J., Saito Y. et al. Expression of vascular endothelial growth factor receptors in smooth muscle cells // *J. Cell. Physiol.* 2001. Vol. 188. P. 359–368.
40. Itakura J., Ishiwata T., Shen B. et al. Concomitant overexpression of vascular endothelial growth factor and its receptors in pancreatic cancer // *Int. J. Cancer.* 2000. Vol. 85. № 1. P. 27–34.
41. Jain R. K. Normalizing tumor vasculature with anti-angiogenic therapy: a new paradigm for combination therapy // *Nat. Med.* 2001. Vol. 7. № 9. P. 987–989.
42. Kabrun N., Buhring H. J., Choi K. et al. Flk-1 expression defines a population of early embryonic hematopoietic precursors // *Development.* 1997. Vol. 124. P. 2039–2048.
43. Kerbel R., Folkman J. Clinical translation of angiogenesis inhibitors // *Nat. Rev. Cancer.* 2002. Vol. 2. P. 727–739.
44. Kim K. J., Li B. Inhibition of vascular endothelial growth factor-induced angiogenesis suppresses tumour growth in vivo // *Nature.* 1993. Vol. 362. P. 841–844.
45. Lamerato L., Havstad S., Gandhi S. et al. Breast cancer recurrence and related mortality in US patients with early breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2005. Vol. 23. 16S. Abstract 738.
46. Li C. Y., Shan S., Huang Q. et al. Initial stages of tumor cell-induced angiogenesis: evaluation via skin window chambers in rodent models // *J. Natl. Cancer Inst.* 2000. Vol. 92. P. 143–147.
47. Linderholm B., Lindh B., Tavelin B. et al. p53 and vascular endothelial growth factor (VEGF) expression predicts outcome in 833 patients with primary breast carcinoma // *Int. J. Cancer.* 2000. Vol. 89. P. 51–62.
48. Linderholm B., Tavelin B., Grankvist K., Henriksson R. Vascular endothelial growth factor is of high prognostic value in node-negative breast carcinoma // *J. Clin. Oncol.* 1998. Vol. 16. P. 3121–3128.
49. Liu C. D., Tilch L., Kwan D., McFadden D. W. Vascular endothelial growth factor is increased in ascites from metastatic pancreatic cancer // *J. Surg. Res.* 2002. Vol. 102. № 1. P. 31–34.
50. McMahon G. VEGF receptor signaling in tumor angiogenesis // *The Oncologist.* 2000. Vol. 5 (Suppl. 11). P. 3–10.
51. Meng S., Tripathy D., Frenkel E. P. et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy // *Clin. Cancer Res.* 2004. Vol. 10. P. 8152–8162.
52. Miller K., Gradishar W., Moisa C. et al. Capecitabine plus bevacizumab in first line metastatic breast cancer: an interim safety and efficacy report of the first phase of xeloda plus avastin 1st line metastatic breast cancer trial // *Breast Cancer Res. Treat.* 2006. Vol. 100 (Suppl. 1). S103. Abstract 2068.
53. Miller K. D., Chap L. I., Holmes F. A. et al. Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2005. Vol. 23. P. 792–799.
54. Miralem T., Steinberg R., Price D., Avraham H. VEGF(165) requires extracellular matrix components to induce mitogenic effects and migratory response in breast cancer cells // *Oncogene.* 2001. Vol. 20. P. 5511–5524.
55. National Cancer Institute. SEER Cancer Statistics Review. 2003.
56. Naumov G. N., Bender E., Zurakowski D. et al. A model of human tumor dormancy: an angiogenic switch from the nonangiogenic phenotype // *J. Natl. Cancer Inst.* 2006. Vol. 98. P. 316–325.
57. Neufeld G., Cohen T., Gengrinovitch S., Poltorak Z. Vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptors // *FASEB J.* 1999. Vol. 13. P. 9–22.
58. Obermair A., Kucera E., Mayerhofer K. et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) in human breast cancer: correlation with disease-free survival // *Int. J. Cancer.* 1997. Vol. 74. P. 455–458.
59. Paik S., Shak S., Tang G. et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer // *N. Engl. J. Med.* 2004. Vol. 351. P. 2817–2826.
60. Park J. E., Chen H. H., Winer J. et al. Placenta growth factor. Potentiation of vascular endothelial growth factor bioactivity, in vitro and in vivo, and high affinity binding to Flt-1 but not to Flk-1/KDR // *J. Biol. Chem.* 1994. Vol. 269. P. 25646–25654.
61. Pegram M., Chan D., Dichmann R. A. et al. Phase II combined biological therapy targeting the HER2 proto-oncogene and the vascular endothelial growth factor using trastuzumab (T) and bevacizumab (B) as first line treatment of HER2-amplified breast cancer // *Breast Cancer Res. Treat.* 2006. Vol. 100 (Suppl. 1). S28. Abstract 301.
62. Pegram M. D., Yeon C., Ku N. C. et al. Phase I combined biological therapy of breast cancer using two humanized monoclonal antibodies directed against HER2 proto-oncogene and vascular endothelial growth factor (VEGF) // *Breast Cancer Res. Treat.* 2004. Vol. 88 (Suppl. 1). S124. Abstract 3039.

63. *Presta L. G., Chen H., O'Conner S. J. et al.* Humanization of an anti-Vascular endothelial growth factor monoclonal antibody for the therapy of solid tumors and the other disorders // *Cancer Res.* 1997. Vol. 57. P. 4593–4599.
64. *Price D. J., Miralem T., Jiang S. et al.* Role of vascular endothelial growth factor in the stimulation of cellular invasion and signaling of breast cancer cells // *Cell. Growth Differ.* 2001. Vol. 12. P. 129–135.
65. *Pronk L., Vasey P. A. et al.* A phase I pharmacokinetic study of the combination of capecitabine and docetaxel in patients with advanced solid tumors // *Br. J. of Cancer.* 2000. Vol. 83. P. 22–29.
66. *Rak J., Yu J. L., Kerbel R. S., Coomber B. L.* What do oncogenic mutations have to do with angiogenesis/vascular dependence of tumors? // *Cancer Res.* 2002. Vol. 62. P. 1931–1934.
67. *Ramaswamy B., Elias A. D., Kelbick N. T. et al.* Phase II trial of bevacizumab in combination with weekly docetaxel in metastatic breast cancer patients // *Clin. Cancer Res.* 2006. Vol. 12. P. 3124–3129.
68. *Relf M., LeJeune S., Scott P. A. et al.* Expression of the angiogenic factors vascular endothelial cell growth factor, acidic and basic fibroblast growth factor, tumor growth factor beta-1, platelet-derived endothelial cell growth factor, placenta growth factor, and pleiotrophin in human primary breast cancer and its relation to angiogenesis // *Cancer Res.* 1997. Vol. 57. P. 963–969.
69. *Saphner T., Tormey D. C., Gray R.* Annual hazard rates of recurrence for breast cancer after primary therapy // *J. Clin. Oncol.* 1996. Vol. 14. P. 2738–2746.
70. *Silverman P., Lyons J., Fu P. et al.* Randomized phase II study of docetaxel +/- bevacizumab for locally advanced unresectable breast cancer: impact on biomarkers of angiogenesis // *Breast Cancer Res. Treat.* 2006. Vol. 100 (Suppl. 1). S242. Abstract 5086.
71. *Skobe M., Rockwell P., Goldstein N. et al.* Halting angiogenesis suppresses carcinoma cell invasion // *Nat. Med.* 1997. Vol. 3. P. 1222–1227.
72. *Sledge G. W.* Vascular endothelial growth factor in breast cancer: biologic and therapeutic aspects // *Semin. Oncol.* 2002. Vol. 29. P. 104–110.
73. *Sood A. K., Seftor E. A., Fletcher M. S. et al.* Molecular determinants of ovarian cancer plasticity // *Am. J. Pathol.* 2001. Vol. 158. P. 1279–1288.
74. *Takahashi M., Yoshimoto T., Kubo H.* Molecular mechanisms of lymphangiogenesis // *Int. J. Hematol.* 2004. Vol. 80. P. 29–34.
75. *Thaker P. H., Yazici S., Nilsson M. B. et al.* Antivascular therapy for orthotopic human ovarian carcinoma through blockade of the vascular endothelial growth factor and epidermal growth factor receptors // *Clin. Cancer Res.* 2005. Vol. 11. P. 4923–4933.
76. *Torres Filho I. P., Leunig M., Yuan F. et al.* Noninvasive measurement of microvascular and interstitial oxygen profiles in a human tumor in SCID mice // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* 1994. Vol. 91. P. 2081–2085.
77. *Veikkola T., Alitalo K.* VEGFs, receptors and angiogenesis // *Semin. Cancer Biol.* 1999. Vol. 9. P. 211–220.
78. *Veikkola T., Karkkainen M., Claesson-Welsh L., Alitalo K.* Regulation of angiogenesis via vascular endothelial growth factor receptors // *Cancer Res.* 2000. Vol. 60. P. 203–212.
79. *Vuorela P., Hatva E., Lymboussaki A. et al.* Expression of vascular endothelial growth factor and placenta growth factor in human placenta // *Biol. Reprod.* 1997. Vol. 56. P. 489–494.
80. *Wedam S. B., Low J. A., Yang S. X. et al.* Antiangiogenic and antitumor effects of bevacizumab in patients with inflammatory and locally advanced breast cancer // *J. Clin. Oncol.* 2006. Vol. 24. P. 769–777.
81. *Weidner N., Folkman J., Pozza F. et al.* Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma // *J. Natl. Cancer Inst.* 1992. Vol. 84. P. 1875–1887.
82. *Weidner N., Semple J. P., Welch W. R., Folkman J.* Tumor angiogenesis and metastasis—correlation in invasive breast carcinoma // *N. Engl. J. Med.* 1991. Vol. 324. P. 1–8.
83. WHO web site. Available at: <http://www.who.int>
84. *Yang J. C., Haworth L., Sherry R. M., Hwu P. et al.* A randomized trial of bevacizumab, an antivascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer // *N. Engl. J. Med.* 2003. Vol. 349. № 5. P. 427–434.
85. *Zon R., Miller K. D., Wang M., Gralow J. et al.* A randomized phase III trial of paclitaxel with or without bevacizumab as first-line therapy for locally recurrent or metastatic breast cancer: Eastern Cooperative Oncology Group Trial E2100 // *Eur. J. Cancer Supplements.* 2006. Vol. 4. № 2. P. 46.

## ТРАНСЛЮМИНАЛЬНАЯ БАЛЛОННАЯ АНГИОПЛАСТИКА У БОЛЬНЫХ САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ С КРИТИЧЕСКОЙ ИШЕМИЕЙ НИЖНИХ КОНЕЧНОСТЕЙ

КАПУТИН М. Ю.<sup>1</sup>, ОВЧАРЕНКО Д. В., БРЕГОВСКИЙ В. Б., СОРОКА В. В.,  
БОРОВСКИЙ И. Э., член-корреспондент РАМН ДУДАНОВ И. П.<sup>1</sup>,  
СИДОРОВ В. Н.<sup>1</sup>, ПЛАТОНОВ С. А.<sup>1</sup>

Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи  
им. И. И. Джанелидзе, Санкт-Петербург,

<sup>1</sup> Карельский научно-медицинский центр СЗО РАМН, Петрозаводск

**Капутин М. Ю., Овчаренко Д. В., Бреговский В. Б., Сорока В. В., Боровский И. Э., Дуданов И. П., Сидоров В. Н., Платонов С. А.** Транслюминальная баллонная ангиопластика у больных сахарным диабетом с критической ишемией нижних конечностей // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 84–91. Санкт-Петербургский научно-исследовательский институт скорой помощи им. И. И. Джанелидзе, Санкт-Петербург, 192242, Будапештская ул., д. 3; Карельский научно-медицинский центр СЗО РАМН, Петрозаводск.

**Цель исследования:** оценить ближайшие результаты эндоваскулярного лечения критической ишемии нижних конечностей (КИНК) у больных сахарным диабетом (СД).

**Материал и методы:** За период с 11.2004 по 11.2007 выполнена 31 транслюминальная баллонная ангиопластика (ТЛБАП) у 30 больных СД по поводу КИНК. В 20 (66,6%) случаях у больных имелась ишемическая язва на стопе, в 5 (16,7%) – гангрена, у 5 (16,7%) пациентов были ишемические боли покоя. ИБС страдали 25 (83,3%) больных, артериальной гипертензией – 24 (80%), цереброваскулярной болезнью – 14 (46,7%), хронической почечной недостаточностью – 8 (26,7%). Трое (10%) пациентов были на хроническом гемодиализе. Распределение по уровням и типам поражения (TASC): подвздошный – тип 1 (3,3%)А, бедренно-подколенный – 1 (3,5%)А, 5 (17,2%)В, 12 (41,4%)С, 11 (37,9%)D, артерии голени – 1 (4%)С, 24 (96%)D. Вмешательство на бедренно-подколенном сегменте выполнялось в 27 (90%) случаях, на ТПС – в 9 (30%), на ПББА – в 21 (70%), на ЗББА – в 1 (3,3%) и на МБА – в 13 (43,3%) случаях. В 70% случаев лечения всех поражений выполнялась интралюминальная, а в 30% – субинтимальная ангиопластика.

**Результаты исследования:** В результате ТЛБАП удалось восстановить магистральный кровоток до стопы по одной берцовой артерии у 19 (63,3%) пациентов, по двум – у 7 (23,3%) и по трем – у 1 (3,3%) пациента. В 3 (10%) случаях этого сделать не удалось. Результаты ТЛБАП оценивались через 3 мес – время, необходимое для заживления язвенных дефектов. Их удалось проследить у 27 (90%) пациентов. Данные больные распределились по категориям Rutherford следующим образом: 1 – 2 (7,4%) пациента, 2 – 12 (44,4%), 3 – 8 (29,6%), 4 и 5 – по 2 (по 7,4%) пациента.

**Заключение:** ТЛБАП может быть успешно выполнена 90% больных СД, в результате процедуры у 85% больных разрешилась КИНК.

**Ключевые слова:** транслюминальная баллонная ангиопластика, критическая ишемия нижних конечностей, сахарный диабет.

**Kaputin M. Yu., Ovcharenko D. V., Bregovskii V. B., Soroka V. V., Borovskii I. E., Dudanov I. P., Sidorov V. N., Platonov S. A.** Transluminal balloon angioplastics in diabetes mellitus patients with critical ischemia of the lower extremities // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 84–91. Janelidze Research Institute of Emergency Medicine, St. Petersburg; Karelian Scientific Medical Center of the North-Western Department of RAMS.

**Objective of the study:** to evaluate the early results of endovascular treatment of critical ischemia of the lower extremities (CILE) in patients with diabetes mellitus (DM).

**Materials and methods:** In the period between November 2004 and November 2007 transluminal balloon angioplastics (TLBAP) was performed 31 times in 30 DM patients with CILE. 20 (66.6%) patients had an ischemic ulcer on the foot, 5 (16.7%) had gangrene, and 5 (16.7%) reported ischemic pain at rest. 25 (83.3%) patients suffered from coronary heart disease, 24 (80%) had hypertension, 14 (46.7%) had cerebrovascular disease, and 8 (26.7%) patients suffered from chronic renal insufficiency. 3 (10%) patients were receiving chronic hemodialysis. The distribution of cases in terms of CILE level and type (according to TASC) was as follows: iliac type A – 1 (3.3%), femoropopliteal type A – 1 (3.3%), type B – 5 (17.2%), type C – 12 (41.4%), type D – 11 (37.9%), calf arteries type C – 1 (4%), type D – 24 (96%). In 27 (90%) cases, the intervention was carried out on the femoropopliteal segment, in 9 (30%) cases on the tibioperoneal trunk, in 21 (70%) cases on the anterior tibial artery, in 1 (3.3%) case on the posterior tibial artery, and in 13 (43.3%) cases on the peroneal artery. Intraluminal angioplastics was performed in 70%, subintimal angioplastics in 30% of cases.

**Results:** TLBAP lead to the restoration of magistral blood flow up to the foot through one calf artery in 19 (63.3%) patients, through two arteries in 7 (23.3%) patients and through three arteries in 1 (3.3%) patient. In 3 (10%) cases the treatment was unsuccessful. The results of TLBAP were evaluated 3 months after the operation, a period required for the healing of ulcers. The ulcers were healed in 27 (90%) patients. These patients were categorized according to Rutherford as follows: category 1 – 2 (7.4%) patients, category 2 – 12 (44.4%), category 3 – 8 (29.6%), categories 4 and 5 – 2 (7.4%) patients in each.

**Conclusion:** TLBAP was successfully performed in 90% of DM patients, leading to recovery from CILE in 85% of patients.

**Key words:** transluminal balloon angioplastics, critical ischemia of the lower extremities, diabetes mellitus.

Естественное течение КИНК сравнимо с некоторыми формами рака. В течение года от момента возникновения критической ишемии 25% больных умирают, а еще 25% переносят большую ампутацию [8]. Успешная реваскуляризация снижает частоту большой ампутации у больных сахарным диабетом (СД) с критической ишемией нижних конечностей (КИНК) [11]. Исторически «золотым стандартом» реваскуляризации при КИНК были шунтирующие операции. Однако хирургический подход применим лишь к пациентам с хорошим дистальным руслом, без тяжелой сопутствующей патологии.

Ряд исследований, в том числе исследование BASIL, поставили под сомнение преимущество хирургического подхода и подтвердили эффективность ТЛБАП в лечении КИНК [2]. Это стало возможным благодаря сочетанному применению различных методик ТЛБАП и улучшению характеристик расходного инструментария.

Согласно нашему протоколу лечения больных СД с критической ишемией нижних конечностей, ТЛБАП является операцией выбора. Она имеет массу преимуществ: ТЛБАП не требует общей анестезии, сопровождается низкой летальностью и частотой осложнений, неудача процедуры не препятствует выполнению шунтирующей операции.

Цель настоящего исследования – оценить ближайшие результаты ТЛБАП в лечении больных СД с КИНК, госпитализированных с 11.2004 по 11.2007 г.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Пациенты находились на лечении в отделении сосудистой хирургии СПб НИИ скорой помощи по поводу КИНК либо направлялись из городских кабинетов диабетической стопы. Критерием для направления пациентов, как правило, было наличие длительно незаживающих язвенных дефектов или гангрены на стопе, несмотря на проводимое лечение, при лодыжечном давлении ниже 70 мм рт. ст. или отсутствии пульсации на артериях стопы. У многих пациентов из-за выраженного медиокальциноза цифры лодыжечного давления были завышенными. Поэтому данный показатель имел второстепенное значение в оценке тяжести ишемии. У небольшого числа больных поводом для выполнения ангиографии явились изолированные ишемические боли покоя. Большинству пациентов сначала выполнялась аортоартериография левым радиальным доступом. При наличии показаний и технической возможности ТЛБАП, как правило, выполнялась на следующие сутки после ангиографии. За сутки до процедуры больные получали стандартную антитромбоцитарную терапию по протоколу коронарного стентирования.

Целью ТЛБАП было восстановление магистрального кровотока до стопы, в отсутствие гемодинамически значимых стенозов (более 50%), как минимум, по одной большеберцовой артерии либо по малоберцовой артерии при наличии хорошо развитых коллатералей с большеберцовой артерией (рис. 1).

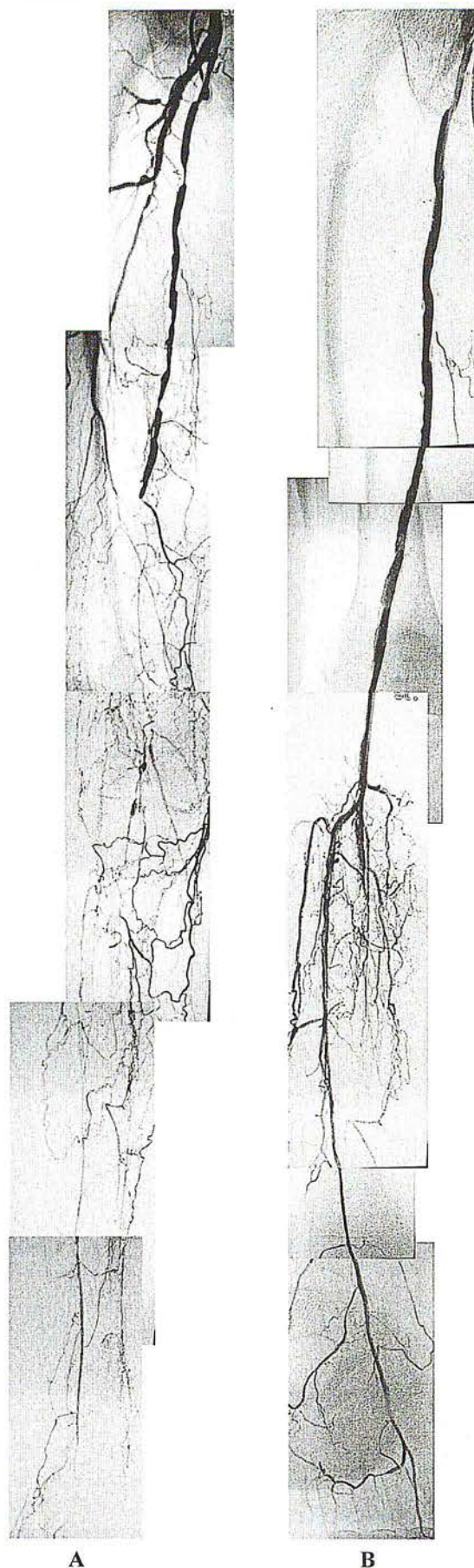
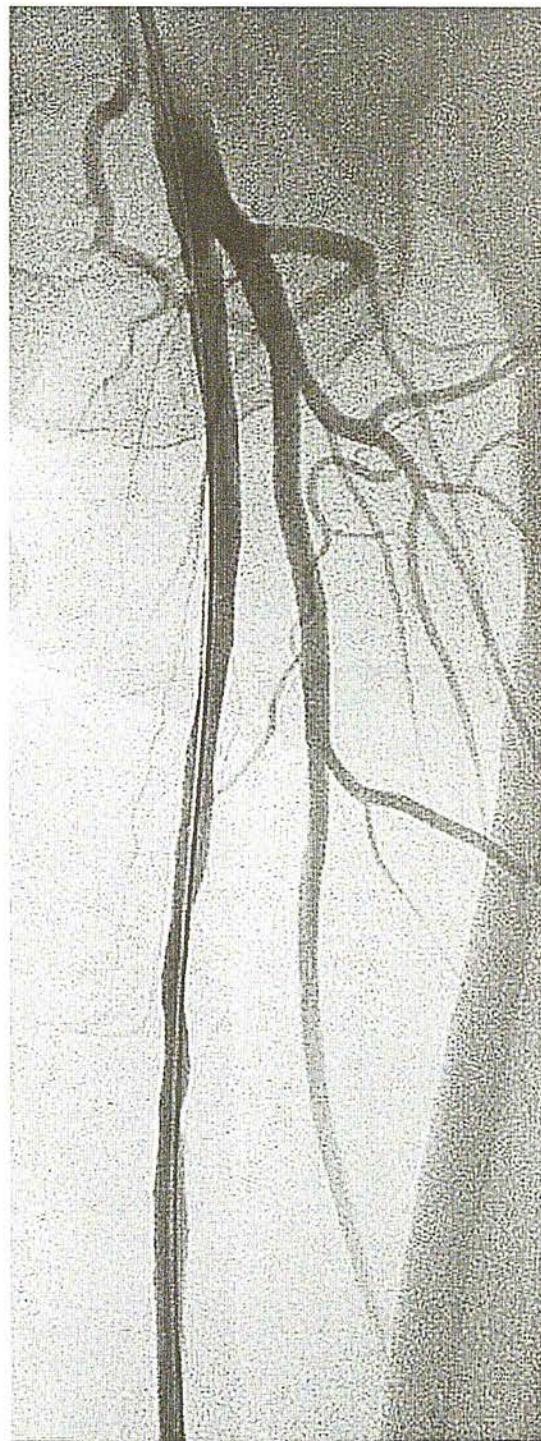


Рис. 1. ТЛБАП многоуровневого поражения:  
А – до ангиопластики; В – результат ангиопластики



А



В

Рис. 2. Субинтимальная ангиопластика поверхностной бедренной артерии:  
А – до ангиопластики; В – результат ангиопластики

Многоуровневое поражение у больных КИНК подразумевает, что в течение одной процедуры использовались различные методики и инструментов. В числе таких методик нами широко применялась субинтимальная пластика (СА) (рис. 2) и коронарная техника при лечении артерий голени (рис. 3, 4).

Методика СА подробно описана в литературе [3, 10]. При невозможности осуществления реентри в

большеберцовую артерию, последняя пунктировалась на стопе (рис. 5). При этом проводник 0,014” или 0,018” проводился ретроградно в субинтимальное пространство и выводился через интродюсер на бедре, с последующей дилатацией субинтимального канала в обычной манере.

При использовании коронарной техники ниже щели коленного сустава, применяли гидрофильные проводники 0,014” или 0,018” и длинные (до 21 см)

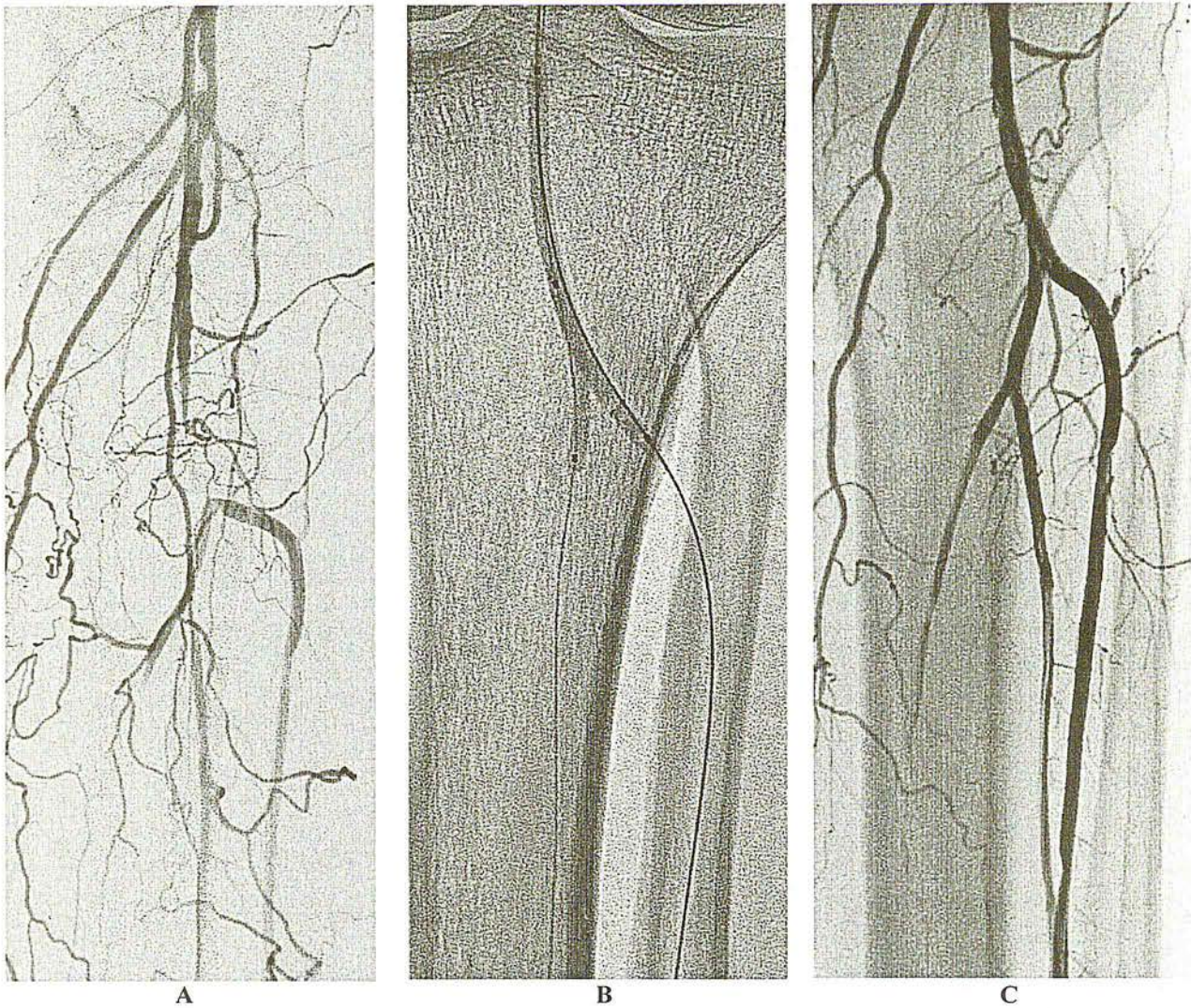


Рис. 3. Дилатация по методике kissing: А – до дилатации; В – момент дилатации; С – результат дилатации

низкопрофильные баллоны производства компании «Invatec» (Италия), выдерживающие высокое давление. Баллон медленно раздувался до давления 10–16 атм, дилатация проводилась в течение 3–5 мин. В начале процедуры внутриапериартериально вводилось 5 тыс. ед. нефракционированного гепарина. Перед выполнением контрольной ангиографии внутриапериартериально селективно вводилось 0,2 мг нитроглицерина.

Результат ТЛБАП оценивался через 3 мес после процедуры – время, необходимое для заживления язв на стопе и ампутационной культы. Результат считался положительным, если разрешалась критическая ишемия, не выполнялась шунтирующая операция либо ампутация конечности выше уровня лодыжек.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

За период с ноября 2004 по ноябрь 2007 г. выполнена 31 ТЛБАП у 30 больных СД по поводу КИНК: 10 мужчин и 20 женщин. Возраст боль-

ных колебался от 45 до 84 лет. Средний возраст мужчин составил  $68,3 \pm 6,6$  года, женщин –  $67,4 \pm 9,9$  года. В 20 (66,6%) случаях у больных имелась ишемическая язва на стопе, в 5 (16,7%) – гангрена, у 5 (16,7%) пациентов были ишемические боли покоя. У 20 (66,6%) больных был инсулинозависимый СД, 6 (20%) – получали таблетированные препараты, у 2 (6,7%) – СД корригировался диетой. Большинство пациентов имели тяжелую сопутствующую патологию (табл. 1). В 87% случаев встречались поражения

Таблица 1

#### Распределение больных по сопутствующей патологии

Сопутствующая патология	Кол-во	%
ИБС	25	83,3
Артериальная гипертензия	24	80,0
Цереброваскулярная болезнь	14	46,7
Хроническая почечная недостаточность	8	26,7
Хронический гемодиализ	3	10,0



Рис. 4. Дилатация протяженной окклюзии передней большеберцовой артерии:  
А – до ангиопластики; В – результат ангиопластики

Таблица 2

Распределение артериальных поражений по уровню и типу (TASC)

Уровень поражения	Тип А		Тип В		Тип С		Тип D	
	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%	Кол-во	%
Подвздошный	1	1,8	–	–	–	–	–	–
Бедренно-подколенный	1	1,8	5	9,1	12	21,8	11	20,0
Артерии голени	-	-	-	-	1	1,8	24	43,6



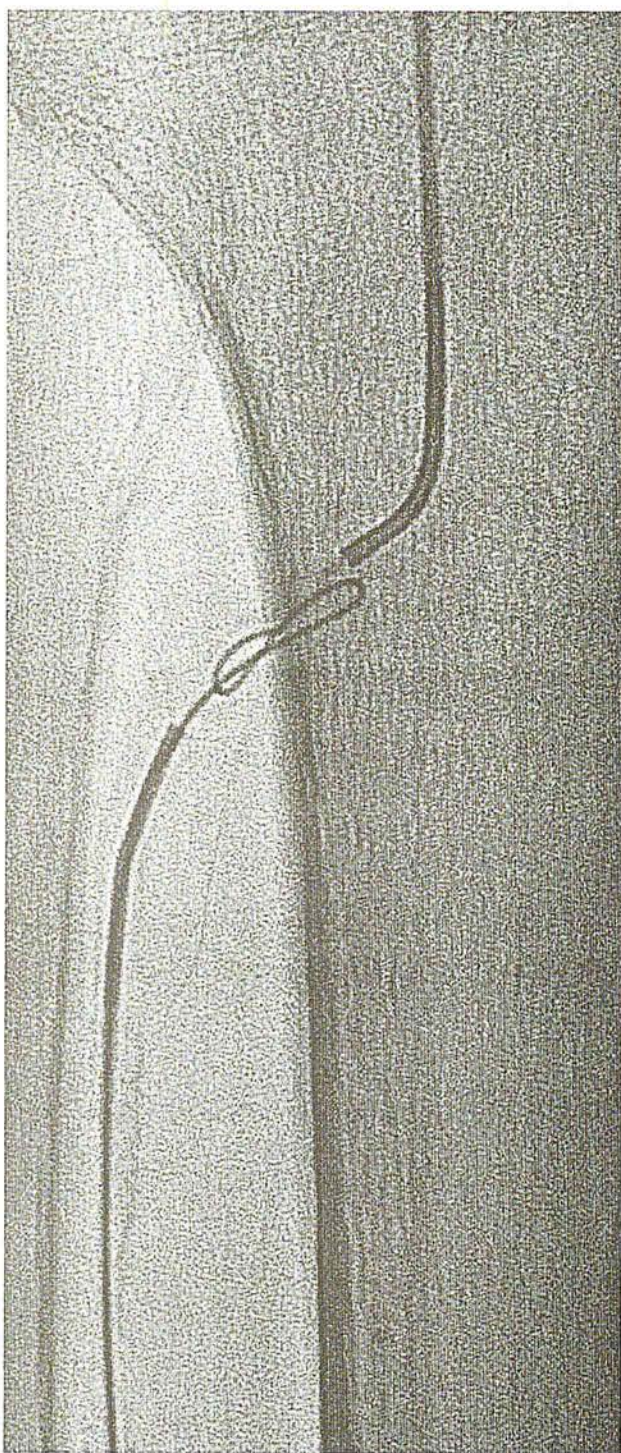


Рис. 5. Тибиаальный доступ

типа С и D (TASC) (табл. 2). Наиболее часто применялся бедренный антеградный доступ (табл. 3). У большинства пациентов вмешательство на артериях голени дополнялось ТЛБАП бедренно-подколенного сегмента. Чаще дилатировалась передняя большеберцовая и малоберцовая артерии (табл. 4). В 70% случаев лечения всех поражений выполнялась интралюминальная, а в 30% – субинтимальная ангиопластика (табл. 5).

Таблица 3

## Распределение ТЛБАП по виду артериального доступа

Вид артериального доступа	Кол-во	%
Бедренный антеградный	26	86,7
Бедренный ретроградный контралатеральный	3	10,0
Подколенный	3	3,3
Педальный (через тыльную артерию стопы)	2	6,7

Таблица 4

## Распределение вмешательств по уровню ТЛБАП

Уровень ТЛБАП	Кол-во	%
Бедренно-подколенный	27	38,0
Тибioперонеальный ствол	9	12,7
Передняя большеберцовая артерия	21	29,6
Задняя большеберцовая артерия	1	1,4
Малоберцовая артерия	13	18,3

Таблица 5

## Распределение вмешательств по уровню и типу ТЛБАП

Уровень ТЛБАП	Интралюминальная АП		Субинтимальная АП	
	Кол-во	%	Кол-во	%
Бедренно-подколенный	21	25,9	14	17,3
Тибioперонеальный ствол	6	7,4	3	3,7
Передняя большеберцовая артерия	18	22,2	4	4,9
Задняя большеберцовая артерия	1	1,2	-	-
Малоберцовая артерия	11	13,6	3	3,7

В результате ТЛБАП удалось восстановить магистральный кровоток до стопы по одной берцовой артерии у 19 (63,3%) пациентов, по двум – у 7 (23,3%) и по трем – у 1 (3,3%) пациента. В 3 (10%) случаях этого сделать не удалось. Одному пациенту через 7 сут после неуспешной процедуры ампутировано бедро в в/3. Малые ампутации в период госпитализации выполнены 5 (16,6%) больным по поводу гангрены. В 1 (3,3%) случае в процессе проводниковой реканализации произошла перфорация берцовой артерии с развитием компартмент-синдрома. Других осложнений и летальных исходов в период госпитализации не было.

Результаты ТЛБАП удалось проследить у 27 (90%) пациентов. Данные больные распределились по категориям Rutherford следующим образом: 1–2 (7,4%) пациента, 2–12 (44,4%), 3–8 (29,6%), 4 и 5 – по 2 (по 7,4%) пациента. Таким образом, у 85% пациентов разрешилась критическая ишемия.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Сахарный диабет является хорошо известным фактором риска развития атеросклероза. У больных СД поражение артериального русла нижних конечностей носит диффузный характер, при этом преобладает поражение артерий голени (75% всех поражений). В сравнении с более проксимальными сегментами, на голени окклюзии преобладают над стенозами. При этом протяженность окклюзий в большинстве случаев превышает 10 см [6]. Это особенно характерно для передней и задней большеберцовых артерий, которые обеспечивают магистральный кровоток до стопы и, таким образом, являются клинически более значимыми.

В результате у больных СД в 5 раз выше риск развития КИНК и в 7 раз выше риск большой ампутации, чем в общей популяции [9].

Вдобавок к атеросклеротическим изменениям, сосуды больных СД характеризуются повышенным количеством соединительной ткани, как-то: фибронектина, коллагена и гликопротеинов, а также повышенным содержанием кальция в среднем слое сосудистой стенки (артериосклероз Менкеберга), что в совокупности называется диабетической макроангиопатией. Данные изменения приводят к потере эластичности артериальной стенки [7].

Вегетативная нейропатия ведет к снижению симпатического тонуса (своеобразная аутосимпатэктомия), что проявляется увеличением артерио-венозного шунтирования, сухостью и ранимостью кожного покрова в результате нарушения потоотделения. Развитие сенсорной и моторной полинейропатии, с одной стороны, затрудняет постановку диагноза КИНК (синдром перемежающейся хромоты у больных СД встречается лишь в 15% случаев, а боли покоя на стадии КИНК – только в 50%) [1], с другой – является провоцирующим фактором развития кожных повреждений в результате патологической костной деформации стопы и снижения болевой и проприоцептивной чувствительности.

Другой важной особенностью диабетической макроангиопатии является плохое развитие коллатералей, в результате чего даже окклюзия одной большеберцовой артерии может явиться причиной развития ишемических язв и гангрены на стопе.

Все вышеперечисленные факторы позволяют выделить больных с КИНК и СД в особую группу, у которой даже небольшая степень ишемии может привести к развитию незаживающих язвенных дефектов и потере конечности. В то же время даже непродолжительное восстановление магистрального или хорошего коллатерального кровотока в зоне кожного повреждения позволяет добиться разрешения КИНК и длительной ремиссии при условии комплексного полидисциплинарного подхода к проблеме [4].

Существуют принципиальные отличия в методике раздувания баллона при ангиопластике коронарных артерий и артерий голени. При коронарной ангиопластике диссекция интимы, наряду с ремоделированием бляшки, является механизмом ангиопластики, и в случае возникновения диссекции неблагоприятного типа, последняя может быть устранена имплантацией стента. При ангиопластике артерий голени возникновение диссекции нежелательно ввиду плохих отдаленных результатов стентирования, проблемы лечения рестеноза в стенте и возможности деформации стента при рутинном измерении плече-лодыжечного индекса.

Снижение эластичности сосудистой стенки периферических артерий у больных СД приводит к увеличению ее пластичности и, как следствие, к достаточному ремоделированию в отсутствие диссекции. Поэтому оптимальной методикой баллонной ангиопластики у этой категории больных является медленное (в течение 3 мин) раздувание баллона до давления 10–16 атм [5].

Другими ключевыми факторами успеха, помимо оптимального инструментария и методики раздувания баллона, являются:

- артериальный доступ – бедренный антеградный ипсилатеральный, обеспечивающий максимальную поддержку для проведения инструмента;
- адекватная ангиокоагулянтная и антитромбоцитарная терапия по протоколу коронарного стентирования;
- восстановление магистрального кровотока до стопы по, как минимум, одной большеберцовой артерии либо по малоберцовой артерии при наличии хорошо развитой коллатерали с большеберцовой артерией.

Учитывая, что в большинстве случаев ангиопластике артерий голени предшествует субинтимальная реканализация протяженной окклюзии поверхностной бедренной артерии, нужно стремиться к восстановлению кровотока по наибольшему числу артерий на голени, так как доказано, что отдаленный результат субинтимальной ангиопластики поверхностной бедренной артерии напрямую зависит от количества воспринимающих кровотоков артерий голени [10].

При выполнении перечисленных условий ТЛБАП может быть успешно выполнена 90% больных СД. В результате процедуры КИНК разрешилась у 85% наших больных.

## Литература

1. Галстян Г. Р. Роль врача-интерниста в ведении больных с синдромом диабетической стопы // Сердце (ОССН). 2004. Vol. 3 (1). P. 28–33.

2. Adam D. J., Beard J. D., Cleveland T. T. Bypass versus angioplasty in severe ischaemia of the leg (BASIL): multicentre, randomised controlled trial // Lancet. 2005. Dec. Vol. 366 (9501). P. 1925–1934.
3. Bolia A., Bell P. R. F. Subintimal angioplasty // Textbook of endovascular procedures / J. F. Dyet, D. F. Ettles, A. A. Nicholson, S. E. Wilson, eds. 1st ed. Philadelphia: Churchill Livingstone, 2000. P. 126–138.
4. Dormandy J. A., Rutherford R. B. Management of peripheral arterial disease (PAD). TASC Working Group. TransAtlantic Inter-Society Consensus (TASC) // J. Vasc. Surg. 2000. Vol. 31 (Suppl.). P. 1–296.
5. Faglia E., Dalla P. L., Clerici G. Peripheral angioplasty as the first-choice revascularization procedure in diabetic patients with critical limb ischemia: prospective study of 993 consecutive patients hospitalized and followed between 1999 and 2003 // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. 2005. Vol. 29. P. 620–627.
6. Graziani L., Silvestro A., Bertone V. et al. Vascular Involvement in Diabetic Subjects with Ischemic Foot Ulcer: A New Morphologic Categorization of Disease Severity // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. 2007. Vol. 33. P. 453–460.
7. International Textbook of Diabetes Mellitus. Chichester, England: John Wiley & Sons Ltd, 1992. P. 1435–1446.
8. Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II) // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. 2007. Vol. 33 (Suppl. 1). P. S39.
9. Krolewski A. S., Warren J. H. Epidemiology of diabetes mellitus // Joslin's Diabetes Mellitus / A. Marble, L.P. Krall, R.S. Bradley, A.R. Christlieb, J.S. Souldner (eds.). 12 ed. Philadelphia, Pa, Lea & Febiger. P. 12–42.
10. Lazaris A. M. et al. Factors affecting patency of subintimal infrainguinal angioplasty in patient with critical limb ischemia // Eur. J. Vasc. Endovasc. Surg. 2006. Vol. 32. P. 668–674.
11. LoGerfo F. W., Gibbons G. W., Pomposelli Jr. F. B. et al. Trends in the care of the diabetic foot. Expanded role of arterial reconstruction // Arch. Surg. 1992. Vol. 127. P. 617–620.

## ПОМПОВАЯ ИНСУЛИНОТЕРАПИЯ САХАРНОГО ДИАБЕТА ВО ВРЕМЯ БЕРЕМЕННОСТИ

ПОТИН В. В., ТИСЕЛЬКО А. В., БОРОВИК Н. В., АБАШОВА Е. И.  
ГУ «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии  
им. Д. О. Отта РАМН», Санкт-Петербург

**Потин В. В., Тиселько А. В., Боровик Н. В., Абашова Е. И.** Помповая инсулиноterapia сахарного диабета во время беременности // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 92–99. ГУ «Научно-исследовательский институт акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта РАМН», Санкт-Петербург, 199034, Менделеевская линия, д. 3.

В статье изложены принципы ведения больных с различными типами сахарного диабета во время беременности. Представлены собственные данные по использованию помповой инсулинотерапии во время планирования и на протяжении беременности. Обоснована необходимость планирования беременности при сахарном диабете.

**Ключевые слова:** сахарный диабет, беременность, инсулиноterapia.

**Potin V. V., Tiselko A. V., Borovik N. V., Abashova E. I.** Insulin pump therapy of diabetes during pregnancy // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 92–99. D. O. Ott Institute of Obstetrics and Gynecology RAMS, St. Petersburg, 199034.

In the article the principles of treatment for patients with different types of diabetes mellitus during pregnancy are stated. The authors presented their own results of using insulin pump therapy for women during period of planning and throughout pregnancy. The necessity of pregnancy planning for women with diabetes has being proved.

**Key words:** diabetes mellitus, pregnancy, insulin therapy.

Основные гормонально-метаболические изменения при беременности связаны с формированием нового эндокринного органа – плаценты, секретирующей в кровоток матери белковые и стероидные гормоны. К ним относятся хорионический гонадотропин, обладающий биологическими свойствами лютеинизирующего гормона, плацентарный лактогенный гормон (ПЛГ), сходный по ряду биологических свойств с гормоном роста и пролактином гипофиза, прогестерон и эстрогены. В III триместре беременности суточная продукция плацентарных гормонов достигает больших величин и составляет для прогестерона 300–400 мг, для эстриола – 200 мг, для ПЛГ 1,5–2 г [2]. С гормональной функцией плаценты, в первую очередь с возрастающей продукцией ПЛГ, связаны мобилизация жира из депо, снижение утилизации глюкозы инсулиночувствительными тканями. Развивающаяся инсулинорезистентность способствует повышенному использованию продуктов липидного обмена, в то время как глюкоза сберегается для питания плода, для которого она является основным источником энергии. Во время беременности гликемия натощак снижается. Глюкоза проходит через плацентарный барьер путем усиленной диффузии, в зависимости от градиента концентрации, и утилизируется плодом в 2–3 раза быстрее, чем во взрослом организме. Инсулин не проникает через плацентарный барьер. Превышение физиологической гликемии способствует увеличению перехода глюкозы через плаценту и вызывает гиперплазию  $\beta$ -клеток остров-

кового аппарата поджелудочной железы, гиперинсулинемию и, как следствие, макросомию плода. Диабетогенные свойства беременности способствуют развитию преходящего нарушения толерантности к глюкозе (диабета беременных) и существенно отражаются на течении различных типов сахарного диабета.

Сахарный диабет представляет собой разнородную по этиологии и механизмам развития группу заболеваний, общим патогенетическим звеном которых является инсулиновая недостаточность. При сахарном диабете 1 типа имеется абсолютная инсулиновая недостаточность, тогда как при сахарном диабете 2 типа, гестационном диабете и симптоматических типах диабета (при тиреотоксикозе, феохромоцитоме, соматотропиноме, гипернадренкортицизме) преобладает относительная инсулиновая недостаточность. Сахарный диабет 1 типа возникает, как правило, в детском и юношеском возрасте в результате аутоиммунного поражения поджелудочной железы, требует обязательного лечения инсулином. Сахарный диабет 2 типа развивается чаще в зрелом и пожилом возрасте и нередко сочетается с ожирением. Лечат этот тип диабета субкалорийной диетой, приемом сахаропонижающих противодиабетических препаратов и реже – введением инсулина. Гестационный диабет представляет собой нарушение толерантности к глюкозе различной степени тяжести, возникающее во время беременности. Гестационный диабет осложняет течение 2–3% всех беременностей. Проявления

гестационного диабета обычно носят скрытый характер и могут быть выявлены лишь при проведении целенаправленного скрининга в группах риска. Предрасполагают к развитию заболевания: возраст беременной старше 30 лет, избыточный вес, отягощенная в отношении сахарного диабета наследственность, наличие нарушения толерантности к глюкозе при предыдущих беременностях, рождение в прошлом ребенка с большой массой тела (более 4000 г), мертворождение, невынашивание беременности в анамнезе, глюкозурия, наличие многоводия при данной беременности. Гестационный диабет имеет много общих черт с сахарным диабетом 2 типа. Обе эти формы диабета характеризуются нарушенной секрецией инсулина, инсулинорезистентностью. Кроме того, женщины, перенесшие гестационный диабет, в дальнейшем имеют значительный риск развития сахарного диабета 2 типа (у 50% развивается сахарный диабет 2 типа через 5–10 лет после родов [10]). Для диагностики гестационного диабета рекомендуется использовать предложенную В. Г. Барановым пробу на толерантность к глюкозе (ПТГ) с нагрузкой 50 г глюкозы на 1 м<sup>2</sup> поверхности тела (рассчитывается по таблице Дюбуа). Диагноз гестационного диабета считается установленным, если два или более показателя гликемии, определяемой в капиллярной крови, превышают следующие значения: 5,5–9,4–7,7 ммоль/л (натощак, через 1 и через 2 ч после глюкозной нагрузки соответственно) [2]. При наличии факторов риска показано проведение ПТГ после 16 нед беременности. В случае нормальной ПТГ в первой половине беременности необходимо повторить ПТГ при сроке беременности 24–28 нед.

Беременность при сахарном диабете, в том числе при диабете беременных, протекает, как правило, с осложнениями. В I триместре беременность при сахарном диабете 1 типа осложняется угрозой прерывания в 13,4% случаев [6], при сахарном диабете 2 типа – в 36% случаев. Невынашивание чаще наблюдается у женщин с предшествующей гормональной недостаточностью яичников, при декомпенсированном диабете. Вторая половина беременности осложняется гестозом у 60–80% больных сахарным диабетом 1 и 2 типа [5, 9]. Особенности течения гестоза являются: раннее появление, быстрота развития, стойкость симптомов, тяжесть течения и малая эффективность проводимых лечебных мероприятий. Наличие и выраженность микрососудистых осложнений сахарного диабета коррелирует с тяжестью гестоза, плацентарной недостаточностью и частотой антенатальной гибели плода. При этом имеется прямая зависимость между уровнем среднесуточной гликемии в первой половине беременности и степенью тяжести гестоза. Тяжелые формы гестоза чаще встречаются у больных с сосудистыми осложнениями сахарного диабета [9, 12]. Высокий риск развития гестоза имеют больные с диабетической нефропатией [9, 18]. Многоводие при

сахарном диабете 1 и 2 типа встречается у 20–60% беременных женщин.

Отрицательное влияние гипергликемии и гиперкетонемии на эмбрион в ранние сроки беременности проявляется увеличением частоты пороков развития плода (диабетическая эмбриопатия). Пороки развития наиболее часто затрагивают скелет, сердце, центральную нервную систему, мочеполовую систему. Частота пороков развития плода при сахарном диабете 1 и 2 типа составляет 9,5%, при декомпенсированном диабете увеличивается до 30% [11, 13, 14]. Большая часть пороков формируется до 7 нед беременности. Это диктует необходимость строгого контроля гликемии с этапа планирования беременности. Выявлена положительная корреляция между уровнем гликированного гемоглобина в крови на ранних сроках беременности и частотой эмбриопатии [13]. Во второй половине беременности влияние декомпенсированного сахарного диабета на развитие плода приводит к развитию диабетической фетопатии. Риск макросомии возрастает, если уровень среднесуточной гликемии превышает 5,3 ммоль/л [17]. Внутритробная задержка развития плода наблюдается реже, чем макросомия плода. В основе ее лежит плацентарная недостаточность, развивающаяся на фоне диабетической микроангиопатии. Вследствие гипергликемии у матери развивается гиперинсулинемия у плода, ведущая к формированию диабетической фетопатии. Из симптомокомплекса диабетической фетопатии следует выделить два основных взаимно связанных признака: гиперплазию  $\beta$ -клеток островкового аппарата поджелудочной железы плода и превышение массы тела над нормой, соответствующей гестационному возрасту. Диабетическая фетопатия при сахарном диабете 1 и 2 типа встречается у 75–85% новорожденных, при гестационном диабете – у 49% новорожденных [8, 10]. Основными проявлениями диабетической фетопатии являются макросомия (масса тела новорожденного более 4000 г), гипогликемические состояния, гипокальциемия, гипомагниемия, полицитемия, гипербилирубинемия, кардиомиопатия, незрелость легочной ткани и центральной нервной системы. Для диабетической макросомии характерно сочетание широкого плечевого пояса с относительно небольшими размерами головы. Рождение крупных и гигантских детей у больных сахарным диабетом объясняется чрезмерным поступлением питательных веществ к плоду вследствие гипергликемии и гиперлипидемии матери, развитием у плода гиперинсулинизма и ожирения. Выраженная макросомия чаще встречается у больных с относительной инсулиновой недостаточностью (сахарный диабет 2 типа и гестационный диабет).

В доинсулиновый период беременность, которая наступала у 2–5% больных диабетом, в половине случаев приводила к материнской смертности. Вероятность рождения живого ребенка была крайне мала.

С введением инсулинотерапии материнская смертность является исключением, однако перинатальная гибель плодов и новорожденных без специализированного наблюдения и лечения может достигать 20–30% [11]. Сахарный диабет является медицинским показанием для прерывания беременности. При настойчивом желании женщины сохранить беременность обязанностью врачей является создание оптимальных условий для благоприятного ее завершения как для матери, так и для ребенка. Вместе с тем имеются абсолютные противопоказания для пролонгирования беременности: диабетическая нефропатия с клиренсом креатинина менее 40 мл/мин, выраженной протеинурией более 3 г/сут, стойкой артериальной гипертензией; нелеченная пролиферативная ретинопатия; автономная нейропатия с неукротимой рвотой; ишемическая болезнь сердца [7, 14]. Сохранение беременности нежелательно, если уровень гликированного гемоглобина A1c превышает 10%.

Основным критерием компенсации диабета является нормогликемия, когда уровень глюкозы в крови не выходит за пределы физиологических колебаний (3,5–6,7 ммоль/л). К другим, менее лабильным показателям состояния углеводного обмена относится гликированный гемоглобин A1c. В физиологических условиях его уровень составляет 3–6%. Этот показатель позволяет оценить средний уровень гликемии на протяжении предшествующих определению 1,5–2 мес. С этапа планирования и на протяжении всей беременности его уровень не должен превышать 6,5%. Компенсация метаболических нарушений – основной принцип лечения диабета, провозглашенный В. Г. Барановым еще в 20-е гг. прошлого века, в 60-е гг. был распространен на терапию диабета во время беременности. В настоящее время никто не рассматривает гипергликемию в качестве позитивной компенсаторной реакции на дефицит инсулина. Однако предлагаемые критерии компенсации углеводного обмена [4] нередко не соответствуют физиологическим колебаниям глюкозы в крови. Европейская ассоциация перинатологов [14] рекомендует поддерживать уровень постпрандиальной гликемии менее 6,7 ммоль/л. При отсутствии компенсации сахарного диабета 2 типа и гестационного диабета на фоне соблюдения диеты назначается инсулинотерапия. Использование пероральных противодиабетических препаратов во время беременности противопоказано. Сульфаниламидные препараты, проникая через плацентарный барьер, могут способствовать гиперплазии  $\beta$ -клеток поджелудочной железы и гиперинсулинемии плода. Бигуаниды противопоказаны из-за их возможного тератогенного действия и способности усиливать метаболический ацидоз. Перевода на инсулинотерапию при беременности требуют от 40 до 80% больных сахарным диабетом 2 типа [16]. При гестационном диабете необходимость в инсулино-

терапии возникает в 10–30% случаев [10, 16]. При сахарном диабете 1 типа больные еще до беременности получают инсулин.

Впервые растворимые препараты инсулина были получены и применены для лечения сахарного диабета в 1922 г. На протяжении 60 лет в качестве наиболее доступного сырья для производства инсулина использовались говяжьи и свиные поджелудочные железы. Применение инсулинов, произведенных из данного сырья, нередко приводит к выработке антиинсулиновых антител, снижению чувствительности к вводимому инсулину и появлению липодистрофии в местах инъекций. Первоначально человеческий инсулин получали только полусинтетическим методом замещения катализируемого трипсином аланина в 30-м положении В-цепи инсулина свиньи на треонин. С 1985 г. для промышленного производства человеческого инсулина стали использовать генную инженерию. По этой технологии ген, ответственный за синтез инсулина человека, встраивается в ДНК непатогенного штамма кишечной палочки или пекарских дрожжей, что программирует их на выработку аминокислотных цепей, идентичных А- и В-цепям молекулы человеческого инсулина. В последние годы появились рекомбинантные аналоги инсулина ультракороткого и пролонгированного действия. Препараты инсулина ультракороткого действия вводятся непосредственно во время еды, их действие начинается моментально и продолжается 3–4 ч, что позволяет снизить риск постпрандиальных гипогликемических состояний. По продолжительности действия все инсулины делятся на 4 группы: ультракороткого, короткого, средней продолжительности и длительного действия. Основным путем введения инсулина – подкожный. Внутримышечное и внутривенное введение инсулина показано только при кетоацидозе. Основным стимулом секреции инсулина является повышение уровня глюкозы в крови. В результате формируется физиологический профиль инсулина, состоящий из коротких подъемов после приема пищи и стабильно низкого уровня в промежутках между ними. Инъекции экзогенного инсулина должны воспроизводить как базальный уровень, так и постпрандиальные подъемы с целью избежать чрезмерных колебаний уровня гликемии в течение дня у больного сахарным диабетом. Различают традиционную (чаще используется у больных сахарным диабетом 2 типа) и интенсивную (базис-болюсную) инсулинотерапию. Традиционная инсулинотерапия основана на стремлении к максимальному сокращению числа инъекций. Преимущественное введение препаратов инсулина продленного действия не предотвращает постпрандиальную гипергликемию и стимулирует выброс контринсулярных гормонов (глюкагон, катехоламины, соматотропин, кортизол) в промежутках между приемами пищи. Интенсив-

ная (базис-болюсная) инсулиноterapia имитирует работу здоровой поджелудочной железы. Препараты инсулина короткого или ультракороткого действия вводятся перед каждым приемом пищи, пролонгированного инсулина 1–2 раза в сутки. Таким образом моделируется базальная и стимулированная повышением уровня глюкозы в крови секреция инсулина. Интенсивная инсулиноterapia предполагает адекватный (4–8 раз в сутки) контроль (самоконтроль) гликемии. Интенсивная инсулиноterapia до и во время беременности позволяет добиться более строгой компенсации углеводного обмена и снизить частоту гипогликемических состояний.

Нами была сопоставлена эффективность инсулинотерапии у 433 женщин с сахарным диабетом I типа, из которых 252 больные получали традицион-

ную и 181 больная – интенсивную инсулиноterapia. Среднесуточная гликемия на фоне интенсивной инсулинотерапии была достоверно ниже, чем у больных, получавших традиционную инсулиноterapia (рис. 1). В многоцентровом исследовании DCCT [12, 18] было показано, что интенсивная инсулиноterapia позволяет добиться более стойкой компенсации и замедления прогрессирования микрососудистых осложнений сахарного диабета. Наиболее современный метод интенсивной инсулинотерапии – непрерывное подкожное введение инсулина с помощью дозатора (помповая инсулиноterapia). При терапии с помощью дозатора используется только один вид инсулина ультракороткого или короткого действия в болюсном и базисном режимах (рис. 2). Программирование скорости введения инсулина в зависимо-

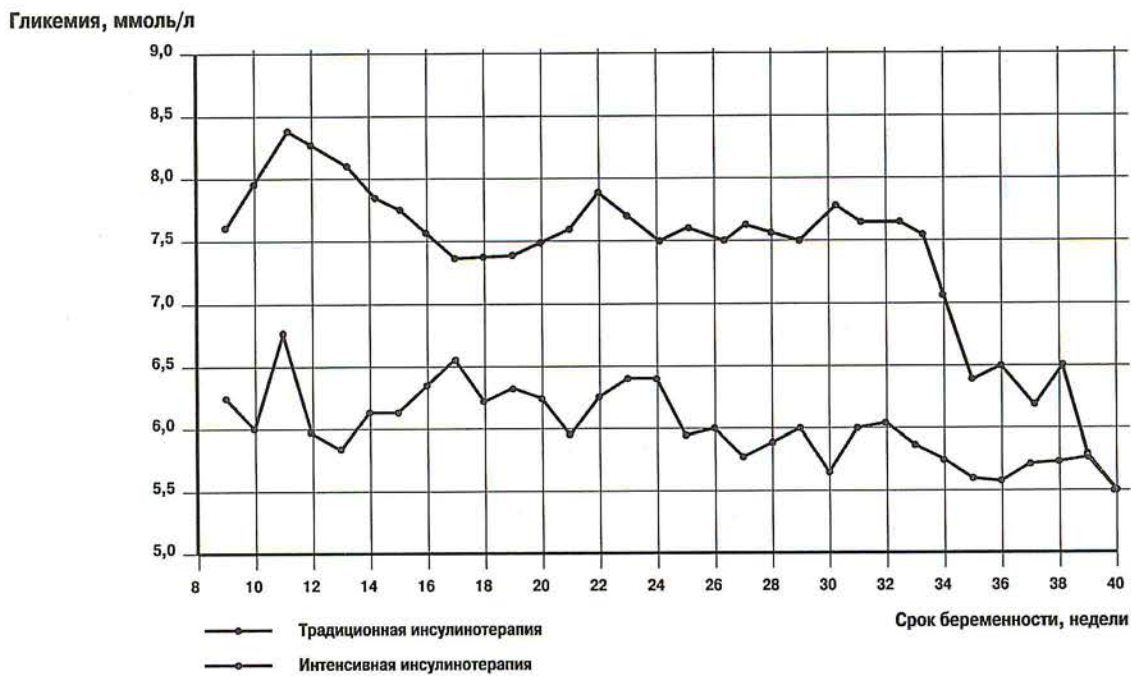


Рис. 1. Среднесуточная гликемия у больных сахарным диабетом I типа во время беременности при традиционной и интенсивной инсулинотерапии

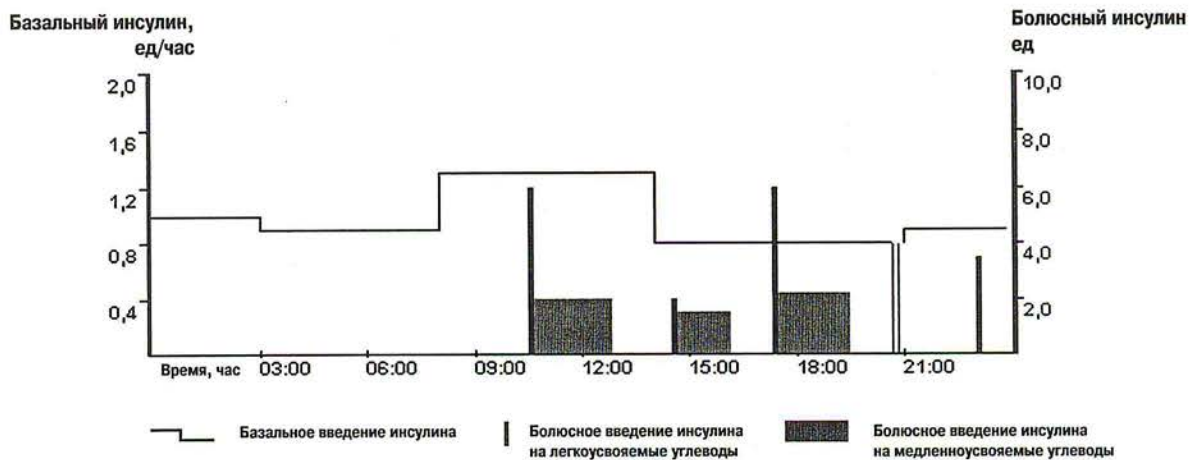


Рис. 2. Базис-болюсное введение инсулина с помощью помпового дозатора

ти от времени суток позволяет избежать феномена «утренней зари» (повышение гликемии в ранние утренние часы вследствие выброса контринсулярных гормонов) и добиться более быстрого достижения компенсации сахарного диабета. Режим введения инсулина корректируется в зависимости от характера питания, физических нагрузок и акушерской ситуации (например, экстренное родоразрешение). Мы располагаем опытом применения помповых дозаторов инсулина у 22 больных на этапе планирования и во время беременности. Использовали дозаторы для подкожного введения инсулина (Medtronic,

США). Круглосуточное мониторирование гликемии проводили с помощью системы CGMS (Medtronic, США), позволяющей делать 288 определений в сутки (рис. 3). Через 3 мес применения помпового дозатора инсулина уровень гликированного гемоглобина А1с в крови больных достоверно ( $p < 0,01$ ) снизился (рис. 4). Важно, что более быстрая компенсация диабета не сопровождалась увеличением числа гипогликемических состояний.

Вследствие повышенной утилизации глюкозы в ранние сроки беременности наблюдается снижение потребности в инсулине до 89,3% от исходной (рис. 5).

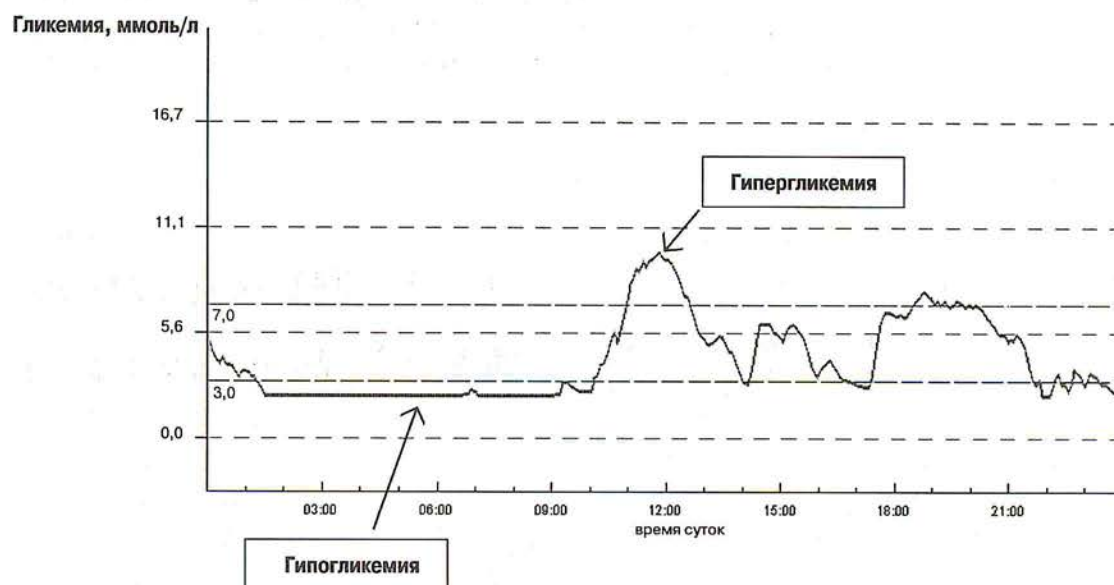


Рис. 3. Мониторирование гликемии с помощью CGMS (Medtronic) у больной сахарным диабетом 1 типа на 31-й нед беременности

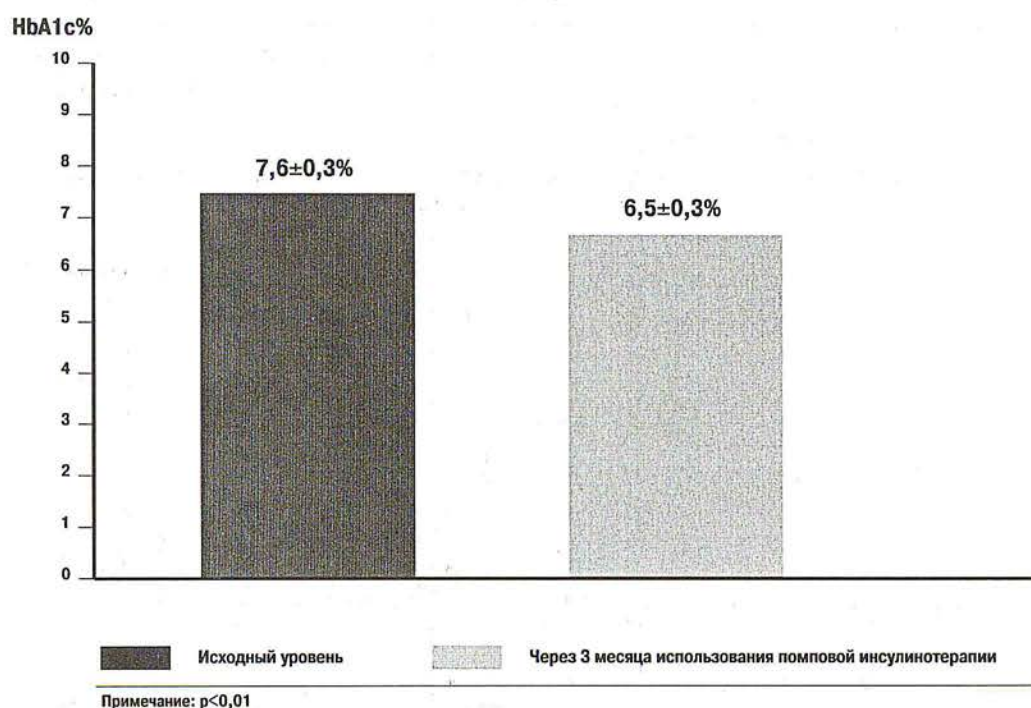


Рис. 4. Содержание HbA1c в крови больных сахарным диабетом 1 типа до и через 3 мес использования помповой инсулинотерапии



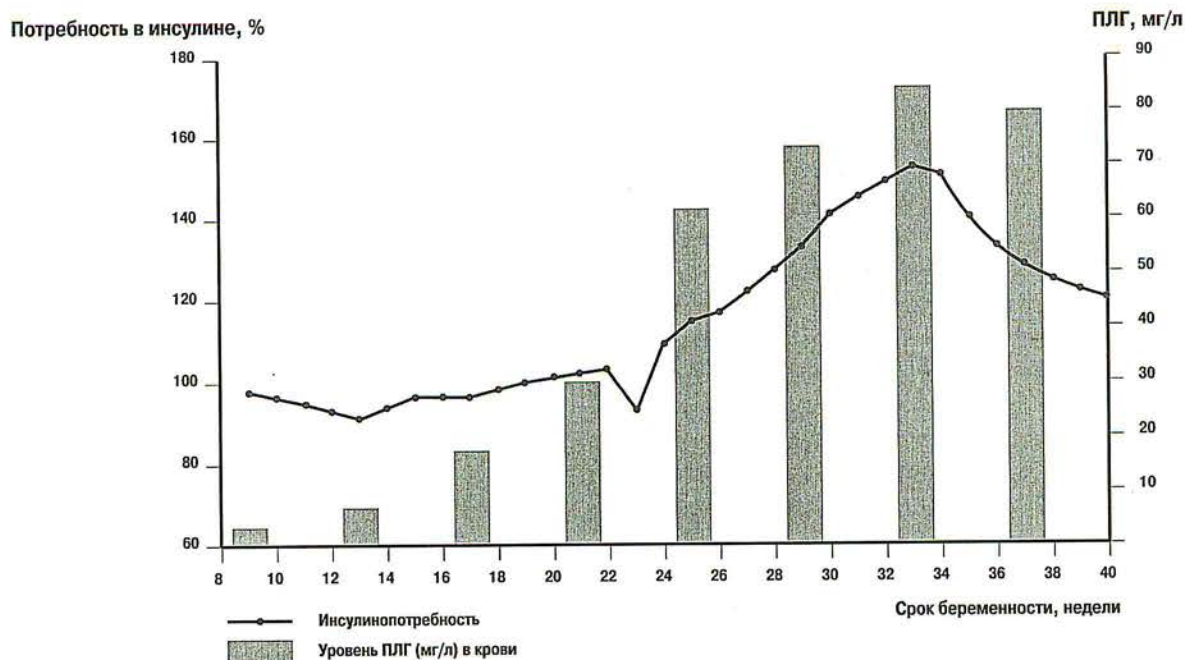


Рис. 5. Динамика ПЛГ в крови и инсулинопотребность в течение беременности у больных сахарным диабетом 1 типа

Присоединение раннего токсикоза и связанное с ним уменьшение потребления пищи увеличивает вероятность гипогликемии [15]. С наступлением второй половины беременности и развитием инсулинорезистентности потребность в инсулине постепенно возрастает, достигая максимальных значений в 32–33 нед (140–160%). У части больных с низким уровнем ПЛГ в крови во второй половине беременности отсутствует повышение потребности в инсулине и может наступить антенатальная гибель плода [6]. С 35-й нед беременности наблюдается постепенное снижение потребности в инсулине с резким снижением к родам – до 80–75% от исходной. Снижение потребности в инсулине может начаться раньше при выраженной плацентарной недостаточности, которая часто встречается у больных с сосудистыми осложнениями сахарного диабета и может потребовать досрочного прерывания беременности [8]. Потребность в инсулине остается низкой в течение первых двух дней послеродового периода. Начиная с 3-го дня после родов потребность в инсулине возрастает и через 5–7 дней достигает исходного уровня. Соотношение базисной и болюсной доз инсулина во время беременности не меняется и составляет в среднем 40% к 60% [6]. Свойственная сахарному диабету 1 типа склонность к кетоацидозу усиливается во время беременности в связи с возрастающим липолизом (феномен «ускоренного голодания»). Выраженные проявления диабетического кетоацидоза могут развиваться стремительно на фоне относительно невысокой гипергликемии. Склонность к кетоацидозу существенно усиливается при снижении энергетической ценности пищи или 12-часовом голодании [2]. Возникающие при этом метаболические

сдвиги приводят к нарушению жизнедеятельности плода и иногда являются причиной его антенатальной гибели. У больных сахарным диабетом 2 типа, получающих инсулинотерапию, гипогликемические состояния в I триместре беременности редки. Дозы вводимого инсулина, необходимые для поддержания нормогликемии, со второй половины беременности увеличиваются в большей степени, чем у беременных с 1 типом сахарного диабета, чаще наблюдается инсулинорезистентность, кетоацидоз развивается редко.

С увеличением срока беременности происходят значительные изменения гемодинамики: увеличивается частота сердечных сокращений, минутный объем и сердечный выброс, возрастает диастолическое артериальное давление, достоверно увеличивается объем циркулирующей крови. Скорость клубочковой фильтрации увеличивается на 40–60%. Наиболее частым осложнением беременности является гестоз, в патогенезе которого важная роль принадлежит нарушениям микроциркуляции. Все это может способствовать прогрессированию микрососудистых осложнений сахарного диабета во время беременности. Нами было изучено влияние беременности на микрососудистые осложнения у 109 женщин с сахарным диабетом 1 типа. Все больные получали интенсивную инсулинотерапию, 4 из них с помощью автоматического дозатора. Регулярное обследование глазного дна проводилось врачом городского диабетологического центра Е. Л. Рутенбург. Во II триместре беременности наблюдалось ухудшение диабетической ретинопатии у 6 женщин с непролиферативной ретинопатией: у 3 больных произошло увеличение количества микроаневризм и ретиналь-

ных геморрагий, у 3 других появилась экссудативная форма макулопатии, по поводу чего была выполнена лазерная коагуляция сетчатки. У одной женщины с препролиферативной ретинопатией в III триместре беременности появились пролиферативные изменения на глазном дне, что совпало со снижением среднесуточной гликемии и учащением эпизодов гипогликемии. Скорость клубочковой фильтрации снижалась во II триместре беременности. Нарастание протеинурии во II триместре беременности наблюдалось у одной женщины с диабетической нефропатией на стадии микроальбуминурии. Усиление протеинурии в III триместре беременности наблюдалось у 53 женщин (48,6%) и было связано с присоединением гестоза. Из 109 женщин гестоз развился у 101 (92,7%): отеки беременных были выявлены в 61,5%, нефропатия беременных – в 25,7%, преэклампсия – в 12,8% случаев. Имелась достоверная связь между суточной протеинурией в III триместре беременности и выраженностью микрососудистых осложнений сахарного диабета. Развитие гестоза, вероятно, связано не только с декомпенсацией сахарного диабета, но и с наличием его микрососудистых осложнений. При обследовании через 6 мес после родоразрешения состояние глазного дна и функция почек возвращались к исходному состоянию. Таким образом, беременность не приводит к необратимому ухудшению диабетической ретинопатии и диабетической нефропатии [3]. Инсулинотерапия, сопровождающаяся эпизодами гипогликемии, может приводить к появлению транзиторной макулопатии, что является дополнительным аргументом в пользу строгой компенсации сахарного диабета до наступления беременности.

Оптимальным вариантом ведения больных с различными типами сахарного диабета во время беременности является наблюдение в специализированных центрах. Амбулаторно женщины посещают эндокринолога и акушера-гинеколога до 30 нед беременности 1 раз в 2 нед, далее – 1 раз в неделю. Необходимым условием является регулярный самоконтроль гликемии 4–8 раз в сутки (с записью результатов в дневнике), контроль гликированного гемоглобина 1 раз в 2 мес. Осмотр окулиста и обследование функции почек проводится в каждом триместре беременности. Первая госпитализация показана на ранних сроках беременности для обследования, коррекции доз инсулина и решения вопроса о возможности пролонгирования беременности. При удовлетворительной компенсации сахарного диабета и отсутствии осложнений вторая госпитализация проводится в 35–36 нед беременности для выбора срока и метода родоразрешения. Осложнения в родах в значительной степени определяются наличием диабетической фетопатии. Оптимальным сроком родоразрешения при всех типах диабета считается 37–38 нед беременности. Родоразрешение до 37 нед беременности проводят только по абсолютным показаниям. Пока-

заниями со стороны матери к досрочному родоразрешению является тяжелый, не поддающийся терапии гестоз, прогрессирование диабетической нефропатии. В большинстве случаев досрочное родоразрешение проводится в связи с появлением признаков нарушения жизнедеятельности плода. Частота преждевременных родов при сахарном диабете составляет 25–60% [5]. Родоразрешение до 35 нед беременности повышает неонатальную заболеваемость и смертность. Сохранение беременности до 40 нед при сахарном диабете 1 типа увеличивает риск антенатальной гибели плода. Частым осложнением родов у больных сахарным диабетом является преждевременное излитие околоплодных вод (20–40%) и слабость родовой деятельности (23–29,6%) [5]. Выбор способа родоразрешения определяется в основном акушерскими факторами (тяжелый гестоз, прогрессирующая гипоксия плода, предлежание плаценты, макросомия плода). Показанием к оперативному родоразрешению является также прогрессирование диабетической пролиферативной ретинопатии. Частота родоразрешения путем кесарева сечения при сахарном диабете 2 типа колеблется от 22 до 55%, при сахарном диабете 1 типа достигает 80%. Снижение уровня ПЛГ в крови, начинающееся во втором периоде родов и резко выраженное в первые часы после родов, повышает чувствительность к инсулину. В день родов дозы инсулина снижают в 2–2,5 раза. В случае самопроизвольного родоразрешения подкожно вводят инсулин короткого или ультракороткого действия, начинают введение 5% раствора глюкозы. Во втором периоде родов переходят на введение 10% раствора глюкозы. Накануне операции кесарева сечения уменьшается доза продленного инсулина, вводимого на ночь (обычно на 20–30%). В день операции подкожно вводят инсулин короткого или ультракороткого действия (дозу снижают в 2–2,5 раза), начинают внутривенное капельное введение 10% раствора глюкозы в объеме 600 мл в течение 4–6 ч. В течение первых 2–3 сут после операции подкожно вводят инсулин короткого действия 2 раза в день и проводят внутривенное капельное введение 10% раствора глюкозы. Начиная с 3-х сут послеродового периода больных переводят на базис-болюсную инсулинотерапию. Больным гестационным диабетом в послеродовом периоде отменяют инсулинотерапию и через 6 мес после родов проводят ПТГ.

Планирование беременности при сахарном диабете 1 типа, введение строгих критериев компенсации диабета и использование интенсивной инсулинотерапии во время беременности позволяет снизить перинатальную смертность в специализированных центрах до популяционного уровня. Планирование беременности подразумевает обследование женщин на наличие диабетических осложнений и их лечение, достижение компенсации сахарного диабета на этапе подготовки к беременности. На протяжении 6 мес до зачатия и во время беременности уровень гликиро-

ванного гемоглобина А1с не должен превышать 6,5% [1]. Нормализация гликемии и уровня гликированного гемоглобина на этапе планирования и в I триместре беременности приводит к снижению частоты пороков развития до 1,2–1,4%. На этапе планирования беременности целесообразен перевод больных на интенсивную инсулинотерапию с использованием препаратов человеческого инсулина в режиме базис-болюсного введения. В прошлом наличие пролиферативной ретинопатии являлось противопоказанием к беременности в связи с угрозой отслойки сетчатки и потери зрения. В настоящее время для лечения и стабилизации пролиферативных изменений на глазном дне эффективно используется лазерная фотокоагуляция сетчатки. При наличии диабетической нефропатии всем женщинам на этапе планирования беременности отменяют ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента, так как они обладают тератогенным действием; осуществляется подбор гипотензивной терапии ( $\alpha$ -метилдофа и блокаторы кальциевых каналов). Планирование беременности у женщин с сахарным диабетом подразумевает образование женщин в области репродуктивного здоровья, создание мотивации к самоконтролю гликемии и обучение их методам саморегуляции сахарного диабета. На период обследования и лечения сопутствующей патологии проводится подбор контрацептивов. С контрацептивной целью применяются низкодозированные эстроген-гестагенные или гестагенные препараты у больных без выраженных микрососудистых осложнений диабета. До беременности проводится бактериологическое обследование с целью выявления и лечения урогенитальных инфекций. В течение 2 мес, предшествующих зачатию, и до 13 нед беременности всем женщинам назначается фолиевая кислота в дозе 400 мкг/сут с целью снижения риска диабетической эмбриопатии.

Дальнейшее улучшение исходов беременности и родов у женщин с сахарным диабетом может быть обеспечено увеличением числа больных сахарным диабетом 1 и 2 типа, планирующих беременность (сейчас их количество не превышает 15%), и более широким внедрением в клиническую практику помповой инсулинотерапии в сочетании с круглосуточным мониторингом гликемии. В настоящее время гестационный диабет более чем у половины больных остается недиагностированным. Активное выявление этой патологии в группах риска и своевременная терапия позволят существенно улучшить показатели перинатальной смертности и неонатальной заболеваемости.

#### Литература

1. Айламазян Э. К., Ланцева О. Е., Потин В. В. Планирование беременности при сахарном диабете // *Aqua Vitae*. 1997. № 4. С. 42–45.
2. Алипов В. И., Потин В. В., Купцов Г. Д. с соавт. Беременность и сахарный диабет // *Вестн. АМН СССР*. 1989. № 5. С. 43–50.
3. Боровик Н. В., Аржанова О. Н. Влияние беременности на микрососудистые осложнения сахарного диабета // *Журн. акуш. и жен. болезн.* 2006. Т. LV. № 2. С. 10–13.
4. Дедов И. И., Шестакова М. В., Максимова М. А. Федеральная целевая программа «Сахарный диабет»: Метод. реком. М., 2002. 88 с.
5. Евсюкова И. И., Кошелева Н. Г. Сахарный диабет: беременные и новорожденные. СПб., 1996. 268 с.
6. Ланцева О. Е., Купцов Г. Д., Потин В. В. с соавт. Интенсивная инсулинотерапия при различных типах сахарного диабета у беременных // *Вестн. Рос. ассоц. акуш.-гинекол.* 1997. № 3. С. 89–94.
7. Потин В. В., Боровик Н. В., Тиселько А. В. Сахарный диабет и репродуктивная система женщины // *Журн. акуш. и жен. болезн.* 2006. Т. LV. № 1. С. 86–90.
8. Федорова М. В., Краснопольский В. И., Петрухин В. А. Сахарный диабет, беременность и диабетическая фетопатия. М., 2001. 287 с.
9. Bar J., Kupferminc M., Hod M. Hypertensive disorders and diabetic pregnancy // *Textbook of diabetes and pregnancy* / Ed. by M. Hod et al. London, 2003. P. 460–474.
10. Ben-Haroush A., Yogev Y., Hod M. Epidemiology of gestational diabetes mellitus // *Textbook of diabetes and pregnancy* / Ed. by M. Hod et al. London, 2003. P. 64–89.
11. Buchanan T. Effects of Maternal Diabetes on Intrauterine Development // *Diabetes Mellitus: A Fundamental and Clinical Text* / Ed. by LeRoith D. et al. Philadelphia, New York, 1996. P. 684–695.
12. DCCT Research Group. Effect of pregnancy on microvascular complications in the Diabetes Control and Complications Trial // *Diabetes Care*. 2000. Vol. 23. P. 1084–1091.
13. Eriksson Ulf J., Wentzel P., Hod M. Clinical and experimental advances in the understanding of diabetic embryopathy // *Textbook of diabetes and pregnancy* / Ed. by M. Hod et al. London, 2003. P. 262–275.
14. European Association of Perinatal Medicine. Diabetes and Pregnancy Evidence Based Update and Guidelines / Ed. by M. Hod and M. Carrapato. Prague, 2006. P. 1–51.
15. Jovanovic L., Mills J., Knopp R. et al. Declining insulin requirement in the late first trimester of diabetic pregnancy // *Diabetes Care*. 2001. Vol. 24. P. 1130–1136.
16. Kitzmiller J. L., Jovanovic L. Insulin therapy in pregnancy // *Textbook of diabetes and pregnancy* / Ed. by M. Hod et al. London, 2003. P. 359–378.
17. Mello G., Paretti E., Mecacci F. et al. What degree of maternal metabolic control in women with type 1 diabetes is associated with normal body size and proportions in fullterm infants? // *Diabetes Care*. 2000. Vol. 23. P. 1494–1498.
18. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Pregnancy outcomes in the Diabetes Control and Complications Trial // *Am. J. Obstet. Gynecol.* 1996. Vol. 174. P. 1343–1353.

Представлена академиком РАМН Э. К. Айламазяном

**ИЗМЕНЕНИЯ В СИСТЕМЕ «ПЕПСИНОГЕН-ПЕПСИН» ПРИ РАЗВИТИИ  
ОПУХОЛЕВЫХ И НЕОПУХОЛЕВЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ЖЕЛУДКА***КАЛИНОВСКИЙ В. П., ШУМАКОВ А. Р.<sup>1</sup>, ТКАЧЕНКО Е. И.<sup>2</sup>**ФГУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н. Н. Петрова»,  
Санкт-Петербург;**<sup>1</sup>ГНЦ ГП «Институт иммунологии», Москва;**<sup>2</sup>ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия  
им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург*

**Калиновский В. П., Шумаков А. Р., Ткаченко Е. И.** Изменения в системе «пепсиноген–пепсин» при развитии опухолевых и неопухолевых заболеваний желудка // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 100–108. ФГУ «Научно-исследовательский институт онкологии им. Н. Н. Петрова», Санкт-Петербург, 189646, Песочный-2, ул. Ленинградская, 68; ГНЦ ГП «Институт иммунологии», Москва, 115478, Каширское шоссе, д. 24, к. 2; ГОУ ВПО «Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И. И. Мечникова», Санкт-Петербург, 195067, Пискаревский пр., 47.

В обзоре представлены материалы изучения показателей специализированной протеолитической функции желудка при опухолевых и неопухолевых заболеваниях. Включены данные о функционировании системы «пепсиноген–пепсин» на биохимическом и молекулярно-биологическом уровне, достоверно отображающие изменения физиологического состояния и функции желудочного эпителия при развитии патологических изменений.

Показано, что специализированные ферменты желудка, например пепсиногены, могут быть использованы в качестве маркеров для ранней диагностики опухолевой патологии желудка, а также как перспективные дифференциально-диагностические показатели при неопухолевой гастропатологии.

Отмечена и протективная роль системы «пепсиноген–пепсин» в обеспечении физиологического функционирования организма и данные о ее возможном участии в противоинфекционных и противоопухолевых процессах.

*Ключевые слова:* система «пепсиноген–пепсин», рак желудка, неопухолевые заболевания желудка, диагностика, скрининг опухолей.

**Kalinovsky V. P., Shumakov A. R., Tkachenko E. I.** Changes in «pepsinogen-pepsin» system during development of tumor and nontumor gastric diseases // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 100–108. Prof. N. N. Petrov Research Institute of Oncology, St. Petersburg, 189646; State Research Center Institute of Immunology, Moscow, 115478; St. Petersburg State Medical Academy, St. Petersburg, 195067.

Review includes data of studies the specialized proteolytic function of human stomach in cases of tumor and non-tumor pathologies. Screened results of research inside the «pepsinogen-pepsin» system provided on biochemical and molecular-biological levels can reflect the gradual changes of physiological state and function of gastric epithelium during development of pathologic processes.

It is showed that stomach specialized enzymes, for instance, pepsinogens, can be used as markers for early diagnostics of gastric cancer pathology as well as and as perspective differential-diagnostical indicators for nontumor gastric diseases.

Various research also displayed the data about protective role of «pepsinogen-pepsin» system in supporting of physiological functioning of human organism as well as possible participation in antiinfectional and antitumor processes.

*Key words:* gastric diseases, gastric cancer, «pepsinogen-pepsin» system, early diagnostics, cancer screening.

Сегодня наблюдается высокий уровень различного рода патологий, затрагивающих желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) человека, что обусловлено многими причинами, включая, помимо качества медицинской помощи и методов диагностики, также социальные, культурные и иные факторы, применимые к конкретному географическому региону или отдельной стране.

ЖКТ является сложным органокомплексом, обеспечивающим усвояемость пищи и осуществляющим первичный контакт с разнообразными пищевыми, лекарственными и другими веществами экзогенного происхождения.

Желудок, как функционально значимая часть ЖКТ, включает целый ряд механических, фермен-

тативных и иммунологически-опосредованных механизмов. Он выполняет чрезвычайно важную барьерную функцию, участвуя в поддержании микробного гомеостаза человеческого организма, препятствуя чрезмерному размножению поступающих извне болезнетворных микроорганизмов.

Среди неопухолевых заболеваний желудка широкое распространение получили такие, как хронический атрофический гастрит (ХАГ) и язвенная болезнь желудка (ЯБЖ). Что касается злокачественных новообразований, их уровень в России по-прежнему остается высоким, а в мире рак желудка (РЖ) является второй по частоте причиной смертности среди опухолевых заболеваний [17].

### Специализированная функция желудка и система «пепсиноген–пепсин»

Среди многих показателей, характеризующих функциональную активность ЖКТ, специализированная ферментативная функция занимает особое место. Продукция ферментов клетками слизистой оболочки желудка (СОЖ) может служить в качестве важных маркеров, достоверно отображающих процессы, протекающие в этом органе при развитии тех или иных патологических изменений.

Выраженные нарушения при различных заболеваниях желудка обнаружены в системе «пепсиноген–пепсин», что впервые было установлено в 1968 г. [2]. Пепсиноген (ПГ) является предшественником пепсина, он нуждается в воздействии соляной кислоты для своей активации. ПГ включает два структурных и функциональных варианта, ПГ I (другое название ПГА) и ПГ II, которые различаются не только по месту выработки в отделах желудка, но и по месту расположения генов, детерминирующих их синтез [12]. В целом ряде исследований при заболеваниях желудка были выявлены нарушения синтеза ПГ I, которые проявлялись в снижении концентрации ПГ I в желудочном соке, сыворотке крови [3], при этом функциональная активность пепсина была также понижена.

Выяснилось, что генетическая структура ПГ I обладает значительным полиморфизмом [9], что отчасти затрудняет попытки найти соответствие между имеющимися генотипами и выявленными нарушениями в его функции. Изучение гена ПГ I показало, что имеется несколько его структурных вариантов, отличающихся по включению ДНК-фрагментов размерами 3,5; 12,0; 15,0; 16,6; 20,0 тысяч пар нуклеотидов. Очевидно, что подобная структура может означать и возможные различия в продукции субгрупп ПГ I [9].

### Влияние хеликобактериоза на ферментативную функцию желудка

Инфицирование желудка микроорганизмом *Helicobacter pylori* (Hр) сегодня, пожалуй, является одним из показателей, наиболее часто привлекающих внимание исследователей для оценки роли этого возбудителя в развитии заболеваний желудка [7]. Hр, как и ПГ I, может служить биомаркером атрофического гастрита антрального отдела [14]. В другом исследовании также подтверждается, что Hр-позитивные язвы желудка сочетаются с атрофическими изменениями в этом отделе [51].

Однако следует отметить, что далеко не у всех лиц наличие инфицированности Hр способно приводить к развитию заболеваний. Выявлены и другие факторы, наличие которых является важным в раз-

витии болезней ЖКТ. Например, курение, вместе с увеличением продукции ПГ I, является также фактором повышенного риска для развития дуоденальной язвы у больных, инфицированных Hр [16].

При изучении возможной роли Hр может быть важным выявление токсигенных штаммов этого микроорганизма, характеризующихся продукцией белков CagA и VacA. Konturek P. C. и соавт. [33] изучали развитие индуцированных пептических язв у мышей, инфицированных CagA- и VacA-позитивными и негативными штаммами Hр. Оказывается, что Hр не только способен вызывать воспаление, но и влияет на протеолитическую функцию желудка. Например, инфицирование приводило к резкому – на 50% – снижению продукции соляной кислоты и пепсина в двух группах. В плазме у животных первой группы был повышен цитокин IL-1b, что подтверждает более выраженные провоспалительные свойства CagA- и VacA-позитивных штаммов Hр. Атрофические гастриты антрального отдела желудка были четко ассоциированы с инфицированием токсигенных CagA-штаммов Hр [43].

Данные мультицентрового исследования подтверждают важную информативную значимость уровней сывороточного ПГ I, гастрин-17 и титров антител (АТ) к Hр как маркеров для неэндоскопической диагностики атрофических гастритов (АГ). Предлагается использовать эти показатели для раннего выявления АГ [8, 57]. Ведущая роль Hр и взаимосвязь «Hр – низкий уровень сывороточного ПГ I» отмечена в случае АГ у Hр-инфицированных больных, в сравнении с Hр-негативными [31]. Отмечено, что детекция Hр-специфичных IgG и низкие уровни сывороточных ПГ I и II могут быть расценены как факторы риска развития РЖ [59].

Активно оценивается роль Hр в процессах канцерогенеза в ЖКТ, при этом, как и в случае неопухолевых заболеваний, отмечаются высокие показатели инфицирования больных РЖ. Например, по данным Shen B. и соавт. [52], хеликобактер был обнаружен у 43 из 50 больных с аденокарциномой (в 86% случаев). Отмечена значительная зависимость между опухолевой трансформацией атрофических изменений в СОЖ и инфицированием Hр [31]. При этом авторы подчеркивают, что уровень сывороточного ПГ I может служить маркером раннего РЖ.

Показано, что после лечения, направленного на эрадикацию Hр, положительная динамика в содержании ПГ I в сыворотке крови сочетается со снижением титров специфических АТ [42]. В исследовании Gisbert J. P. и соавт. [20] показана более высокая, по сравнению с ПГ I, информативность ПГ II для оценки состояния СОЖ после эрадикации Hр. Длительное мониторирование уровней сывороточного ПГ I и II у больных с диспептическими явлениями показало

восстановление ПГ-продуцирующей функции СОЖ после эрадикации Нр [41]. При этом гистологические признаки воспаления СОЖ и активность иммунокомпетентных клеток нормализовались в течение 1–3 мес, в то время как явления атрофии тела желудка и метаплазии в антральной части претерпевали восстановительные изменения на протяжении более длительного времени, составлявшего 12–15 мес.

### Продукция пепсиногена-пепсина при язвенной болезни желудка

В образцах язвенных поражений отмечено более низкое соотношение ПГ I/II, чем при язвенной болезни двенадцатиперстной кишки (ЯБДК) [49], что подтверждает, возможно, большую информативность ПГ I, нежели ПГ II, для диагностики желудочной патологии. При ЯБДК также выявлено повышение инфильтрации лимфоцитами в антральном отделе желудка, что сочеталось и с инфекцией Нр. При этом был повышен уровень гастринина – важного для желудочной деятельности гормона [19]. Гастрин способствует выработке соляной кислоты, необходимой для активации ПГ.

Проведенный в наших предыдущих исследованиях анализ сывороточного ПГ I показал, что имеются значительные различия в сыворотке крови у взрослых и детей. У детей наиболее высокий уровень ПГ I отмечен при ЯБДК [4]. Был также оценен уровень ПГ I в сыворотке крови при эндоскопической и гистологической верификации изменений в СОЖ (табл. 1).

Таблица 1

Уровень ПГ I в сыворотке крови в сопоставлении с формой заболевания, эндоскопической картиной и гистологическим анализом СОЖ

Исследование	Уровень ПГ I (нг/мл)		
	Нормальная СОЖ	Поверхностные изменения	Атрофические изменения
Эндоскопическое	76,5±19,0	91,3±21,4	80,4±15,2
Гистологическое	68,2±15,2	108,1±39,5	136,5±49,4

Продукция соляной кислоты, необходимой для активации ПГ, может быть тесно связана с уровнем самого ПГ I и других желудочных маркеров, а также может изменяться при наличии инфекции Нр [18]. Подобные данные и снижение уровня ПГ I у больных с ЯБДК получены в работе Lee С. Т. и соавт. [38]. Применение омепразола, помимо излечения язвенного дефекта, привело к значительному повышению уровня ПГ I в сыворотке, более чем в 2 раза (со 111 до 253 нг/мл), равно как и гастринина.

Оценивая причины широкого распространения язвенной патологии, нельзя не упомянуть и о роли нестероидных противовоспалительных препаратов (НПВП). Использование НПВП было оценено как наиболее важный фактор, способствующий развитию кровотечения из язвы двенадцатиперстной кишки. Кроме того, показана и возможная роль инфекции Нр как фактора, способного влиять на развитие язвенных поражений при ЯБДК. Так, кровотечения из язвы, не связанные с приемом препаратов или инфекцией, составляли всего 2% случаев [21]. Применение НПВП многократно (в 3 и 5 раз) повышает риск развития пептической язвы (соответственно, у Нр-позитивных и негативных больных) [58]. Сниженная активность пепсина была установлена в эксперименте на крысах при оральном употреблении ибупрофена, при этом также обнаружено увеличение числа пептических язв и объема выработки желудочного сока [50]. Таким образом, широко распространенная практика применения НПВС при различных заболеваниях может привести к снижению выработки ПГ и нарушению других процессов, протекающих в ЖКТ.

### Уровень пепсиногена I отражает прогрессию атрофических изменений в желудке

Одним из наиболее часто встречающихся заболеваний желудка, при котором проявляются нарушения в системе «пепсиноген–пепсин», является хронический атрофический гастрит (ХАГ). Установлено снижение содержания фракций ПГ I и ПГ II у больных с выраженным ХАГ по сравнению с поверхностным гастритом [10].

При детальном исследовании морфологии ХАГ [6] продемонстрировано, что воспалительно-атрофические процессы у большинства больных (75%) локализованы в антральном отделе желудка, при этом у четверти больных выявлена инфильтрация нейтрофилами, что подтверждает активный воспалительный процесс. Продукция пепсина как непосредственно в СОЖ, так и в желудочном соке была наибольшей при отсутствии атрофических изменений. В той же работе исследован уровень пепсина в СОЖ и желудочном соке при различной степени атрофии (табл. 2).

Таблица 2

Уровень пепсина в зависимости от степени атрофии слизистой оболочки желудка (СОЖ)

Степень атрофии	Уровень пепсина (мг/г ткани)	
	Желудочный сок	СОЖ
Атрофии нет	96,2±6,9	111,0±5,4*
Слабая	48,3±7,8	60,1±12,2
Умеренная	29,4±12,0	18,1±9,1
Выраженная	24,7±8,5*	16,4±5,4*

\* Различия статистически достоверны между сравниваемыми группами при  $p < 0,05$ .

Положительная оценка диагностической роли ПГ I и соотношения ПГ I/II как информативных маркеров при хронических атрофических изменениях показана в ряде работ [32, 55]. Для оценки возможности использования сывороточного уровня ПГ в качестве дифференциально-диагностического критерия был проведен радиоиммунологический анализ сывороточного ПГ I у больных ХАГ, РЖ и здоровых лиц без желудочной патологии [3]. Отмечены существенные различия в уровне сывороточного ПГ I между здоровыми лицами (123 нг/мл) и ХАГ (51 нг/мл), а также у больных с низко- и высококодифференцированным РЖ (37 и 58 нг/мл соответственно). Как видно в данном случае, выявление примерно одинакового количества ПГ I при высококодифференцированном РЖ и ХАГ пока затрудняет использование ПГ для постановки более точного диагноза (табл. 3).

Таблица 3

Средние уровни сывороточного пепсиногена I у больных и здоровых лиц

Исследуемая группа	Уровень ПГ I в сыворотке крови, нг/мл
Низкодифференцированный рак желудка	37,4±3,4
Высокодифференцированный рак желудка	58,2±3,5
Хронический атрофический гастрит	51,1±4,7
Контрольная группа (без патологии желудка)	123,6±11,7

#### Участие пепсина в воспалительных процессах

Оценивается роль соляной кислоты и пепсина как активных повреждающих агентов, способных, в частности, вызывать повреждение эпителия пищевода и служить причиной развития эзофагита. В связи с этим проводятся исследования целого ряда веществ, способных предохранять пищевод от подобных повреждений [34]. Однако необходимы тщательные исследования, подтверждающие отсутствие возможных отрицательных эффектов для функции желудка от ингибирования действия физиологически значимых факторов.

Установлена роль пепсина, как повреждающего агента, при экспериментальном рефлюкс-эзофагите [40]. В данном исследовании в качестве ингибитора активности пепсина хорошо проявил себя пепстатин (ПС), применение которого позволило существенно уменьшить выраженность поражений пищевода. Интрагастральное назначение пепсина привело к усилению эрозивных поражений пищевода.

Показано, что количество пепсина может изменяться при нарушениях кровоснабжения тканей желудка. По данным японских авторов Kotani T. и др., экспериментальная ишемия-реперфузия вызывала повышение продукции ПГ в желудке [35].

В связи с полученными данными возникает, на наш взгляд, довольно важный вопрос о том, не может ли функция системы «пепсиноген–пепсин», при ассоциации с требуемыми для активации уровнем секреции и pH соляной кислоты, быть одним из необходимых факторов, обеспечивающих защитные свойства СОЖ по разрушению и элиминации чужеродных для желудка клеток.

Отмечается возможная роль пепсина как потенциально провоспалительного агента, что подтверждается его способностью, в отличие от других протеаз (трипсина, эластазы, химотрипсина), не вызывать разрушения TNF $\alpha$  – одного из основных цитокинов, активно участвующего в воспалительных реакциях [11].

Пепсин проявляет свою активность в отношении компонентов внеклеточного матрикса (ВКМ), принимая участие в его ремоделировании при различных патологических состояниях. В системной циркуляции выявлены пепсин-растворимые и нерастворимые белки ВКМ, уровень и соотношение которых, очевидно, также могут быть использованы в клинико-диагностической оценке различных заболеваний, в частности, при кардиологической патологии [37].

В реализации воспалительных механизмов в СОЖ задействовано множество различных факторов. В частности, пепсин способен оказывать ингибирующее воздействие на процессы адгезии иммунокомпетентных клеток к клеткам эндотелия, что показано в работе Ruiz-Torres M. P. и соавт. [46], где нейтрофилы и мононуклеары периферической крови культивировались совместно с эндотелиальными клетками HuVEC. Пепсин частично снижал экспрессию фактора адгезии – хемокина MCP-1, ярко выраженную в присутствии белка коллагена-1, являющегося составной частью ВКМ. Таким образом, пепсин оказывает влияние на протекание иммуноопосредованных воспалительных реакций в желудке.

#### Метапластические изменения в желудке и ферментативная функция

Необходимо отметить, что важной задачей современной медицины является поиск причин, способствующих инициации злокачественных процессов в организме человека. Применительно к ЖКТ показано, что одной из причин опухолевого роста в желудке могут являться процессы метаплазии эпителия.

В целом ряде научных работ отмечается, что процессы интестинальной метаплазии (ИМ) могут играть одну из ведущих ролей в развитии аденокар-

цином желудка и пищевода. По данным Chandrasoma P. и соавт. [15], ИМ была выявлена у 87% больных с опухолями дистального отдела пищевода и у 45% – с опухолями кардиального отдела желудка. Кроме того, в большинстве случаев ИМ была выявлена при опухолях небольшого размера, в том числе в 100% случаев – при опухолях размером менее 1 см, что может подтверждать метапластическое происхождение этих опухолей.

Достоверное различие в уровне пепсина непосредственно в СОЖ у больных ХАГ выявлено при наличии метапластических и диспластических изменений [6]. При этом метаплазия имела место у 51% больных. Было установлено, что атрофические изменения в желудке локализуются преимущественно в антральном его отделе, где также были локализованы и все имеющиеся случаи (в 18,4%, или у 28 больных) метаплазии СОЖ по толстокишечному типу, считающемуся вариантом предракового состояния СОЖ. Другой, тонкокишечный тип метаплазии СОЖ был обнаружен также и в теле желудка. В отличие от метаплазии, дисплазия была обнаружена лишь у нескольких больных ХАГ.

В работе Ikeda Y. и соавт. [26] установлено, что продукция ПГ I в участках метаплазии практически отсутствовала. Это еще один довод в пользу использования ПГ как информативного маркера для оценки предопухолевых изменений в желудке. Схожего мнения о роли метапластических процессов в развитии аденокарцином пищевода и желудка (кардии) придерживаются и Ruol A. и соавт. [47], обнаружившие метапластические изменения в 69% аденокарцином кардиального отдела желудка.

Роль ПГ I как важного информативного фактора в оценке метапластического перерождения СОЖ, как и в других случаях, отмечена в статье японских исследователей Miki K. и Urita I. [39].

#### **Изменения синтеза пепсина–пепсиногена у больных с опухолями желудка**

Нарушения синтеза ПГ отмечались и у больных с опухолями желудка. Установлено снижение содержания ПГ I в желудочном соке и сыворотке крови, более выраженное, чем при неопухолевых заболеваниях [6]. Подобные изменения выявлены и в условиях экспериментального гастроканцерогенеза. Применение систем бесклеточного синтеза белка позволило обнаружить снижение синтеза ПГ I у больных с аденокарциномой, при этом полученный белковый продукт обладал сниженной активностью [30].

Попытка установить причину снижения синтеза ПГ I при заболеваниях желудка привела к необходимости изучения структуры гена ПГ I. Удалось установить, что при РЖ имеют место изменения структуры генов ПГ I [1, 29]. В частности, выявлены делеции

в гене ПГ I у больных РЖ [10]. Делеции участков ДНК были обнаружены в 14% опухолей.

В ДНК ПГ I в ряде работ был исследован также уровень метилирования цитозиновых оснований. Метилирование довольно часто может быть изменено при развитии опухолевых процессов. В экспериментальных работах по изучению воздействия химического агента MNNG – выраженного канцерогена для желудка, было обнаружено, наряду со снижением синтеза белкового продукта [30], повышенное метилирование в локусе генов ПГ I [56]. В исследовании Ichinose M. и соавт. [24] оценено физиологическое метилирование в генетическом локусе ПГ I в различных тканях организма крыс. Установлено, что в СОЖ уровень метилирования генов ПГ I снижен по сравнению с другими тканями, в которых не происходит активного синтеза белкового продукта – ПГ (почки, селезенка, головной мозг). Эта особенность была также продемонстрирована и у человека [25]. Полученные результаты свидетельствуют о важности процессов метилирования ДНК для обеспечения физиологического уровня функционирования гена ПГ I. Изменения при РЖ были также обнаружены и на уровне РНК ПГ I, что позволяет сделать вывод о возможной причастности структурных нарушений в геноме к процессам синтеза белкового продукта.

#### **Возможное участие системы «пепсиноген–пепсин» в противоопухолевых и антиинфекционных реакциях организма**

Установлено, что пепсин способствует активации лактоферрина (ЛФ), обладающего антимикробной и противоопухолевой активностью. Было показано, что ряд пептидов, полученных при ПГ-индуцированном гидролизе бычьего ЛФ, характеризуются высокой степенью гомологии с лактоферрицином В [23]. Выделенные фрагменты показали широкий спектр антибактериальной активности в низких концентрациях.

В работе Sakai T. и соавт. изучено участие пепсин-расщепленного ЛФ на клеточную линию SAS (сквамозная карцинома полости рта) [48]. ЛФ индуцировал апоптическую гибель клеток, при этом был задействован каспаз-зависимый путь с активацией каспазы-3 и индуцированием фосфорилирования внеклеточной сигнал-регулирующей киназы ERK1/2, относящейся к MAP-киназам. Фосфорилирование другой MAP-киназы, JNK/SAPK, было также активировано действием ЛФ, в то время как назначение специального препарата-ингибитора JNK/SAPK привело к снижению ЛФ-индуцированного апоптоза клеток.

Интересна работа Roy M. K. и соавт. [45] по оценке различий во влиянии нативного и расщепленного ЛФ на пролиферацию клеток миелолейкозной линии



HL-60, подтверждающая важную роль ПГ в активации ЛФ. Наибольший эффект на клетки показали ПГ-расщепленные фрагменты ЛФ, один из которых, включающий основания с 17 по 38 нативного ЛФ, проявлял наибольшую активность в подавлении клеточного роста, что также подтверждалось усилением признаков апоптоза клеток (фрагментация ДНК, наличие типичных морфологических изменений).

Отмечено, что в ЖКТ гидролизированный ЛФ оказывает также ингибирующий метастазы эффект и влияет на повышение продукции регуляторного цитокина IL-18 в клетках кишечного эпителия [36].

### Пепсин и аутоиммунные процессы

В развитии предопухолевых процессов играют роль и аутоиммунные процессы, что выявлено в ряде исследований [27, 28, 54]. Так, Sugi K. и соавт. [54], наряду с пониженным соотношением ПГ I/II в сыворотке крови, обнаружили также повышенную продукцию аутоантител (ААТ) к париетальным клеткам желудка у больных РЖ. Выявлено, что титр ААТ был выше у больных с воспалительным процессом в СОЖ по сравнению с теми, у кого имелись атрофические изменения.

В сравнительном анализе двух групп больных атрофическими гастритами (в Германии и Японии) выявлены повышенные титры ААТ и одновременно сниженный показатель ПГ I/II у Hр-позитивных лиц [27]. При этом указанные показатели не различались существенно у пациентов из двух стран.

Отмечено, что у Hр-инфицированных больных АГ при одновременном наличии указанных ААТ применение длительной антимикробной терапии совместно с ингибиторами протонной помпы не повлияло на их уровни [28]. При этом соотношение ПГ I/II в сыворотке сочеталось с повышением уровней ААТ только в группе с Hр-инфекцией. Это дает основания полагать, что наличие ААТ к париетальным клеткам желудка является значимым признаком, который может приводить к развитию патологических реакций в СОЖ.

### Возможности использования показателей специализированной функции желудка в целях диагностики

Гастроскопия рекомендуется как важная диагностическая процедура, способная представить широкий и вполне информативный анализ о состоянии СОЖ. Конечно, «идеальными» для исследователей могут явиться такие данные обследования пациентов, при которых имеется некое сопоставление различных параметров, как это можно видеть, например, в такой триаде показателей, как инфицированность ХП,

гистологически выявленные изменения в СОЖ, сывороточный уровень ПГ I.

Важно проводить скрининговый анализ населения, сопоставляя данные не только инструментальной, но и лабораторной диагностики. В работе Oksanen A. и соавт. [44] при обследовании 144 здоровых лиц старше 45 лет установили у 60 из них (42%) совпадение физиологического уровня ПГ I, низкого титра ХП и неизмененные гистологические данные (последний показатель – у 52 человек). При всех преимуществах эндоскопии, оценка возможностей использования для диагностики ряда показателей в системной циркуляции остается сегодня наиболее актуальной. По данным Hartleb M. и соавт. [22], сывороточный ПГ I может быть использован для атрофических гастритов, низкий уровень которого, как и гастрин-17, детектирован у 84% больных с атрофией СОЖ и у 19% лиц, не имеющих ее.

В нашем исследовании [3] получены данные о возможности разработки подходов для использования уровня сывороточного ПГ I в дифференциальной диагностике опухолевых и неопухолевых заболеваний (табл. 3).

Более того, уровни ПГ I в сыворотке могут отображать топографию хронических гастритов, в частности, наименьшие его уровни отмечены у больных с атрофическими изменениями тела желудка [8, 13]. Похожего мнения придерживаются и Sipponen P. и соавт. [53]. Они полагают, что сывороточный ПГ I может служить биомаркером атрофического гастрита тела желудка, в то время как гастрин-17, по их мнению, более специфичен для атрофии антральной части.

### Возможности использования пепсиногена в целях скрининга опухолей желудка

Поскольку измененный синтез ПГ отмечен при различных уровнях воспаления и дегенерации СОЖ, то, прежде всего, возникли идеи о возможности использования этого показателя для оценки различных заболеваний желудка. Пока еще достаточно затруднительно говорить о реальном уровне заболеваний желудка и других отделов ЖКТ в России, поскольку в нашей стране не проводится активных и широких диагностических обследований населения. При наличии в ряде стран высокого уровня развитой диагностической службы и централизованной обработки информации можно сделать вывод о том, что примерно до 80% всего населения могут иметь признаки ХАГ, причем количество больных увеличивается с возрастом и составляет 50–70% населения для лиц старше 50 лет [5].

Следует отметить, что именно ПГ I может служить в качестве одного из основных маркеров патологических изменений, происходящих в СОЖ, по

крайней мере можно сказать, что этот показатель позволяет достаточно точно дифференцировать физиологическое функционирование клеток СОЖ и наличие выраженных процессов атрофии и опухолевых изменений в желудке. Поэтому возможно использовать ПГ как вполне информативный показатель в сочетании с другими маркерами СОЖ, например гастрином.

Вместе с успехами по выявлению достоверной роли ПГ в функционировании системы ЖКТ можно отметить, в частности, что попытка установления возможного вклада хронических процессов, протекающих в желудке, в формирование опухолевой патологии пока не приносит заметной информации, на основании которой можно было бы делать какие-либо определенные выводы.

Необходимо подчеркнуть, что, как правило, развитие хронической патологии СОЖ происходит за довольно длительный срок. Так, известно, что для развития поверхностного неатрофического гастрита в атрофическую форму может потребоваться промежуток времени, равный порядка 20 лет. Таким образом, ранняя диагностика заболеваний желудка поможет избежать развития более выраженных патологических изменений, по крайней мере, это позволит выиграть некоторое время для поиска возможных путей их коррекции.

Важно продолжить изучение нарушений специализированной функции желудка для более полного осмысления его роли в функционировании как системы ЖКТ, так и всего организма человека в целом. Можно сделать вывод, что необходим также анализ ряда других клинико-диагностических критериев, характеризующих работу желудка, для более точной оценки патофизиологических состояний и функционального статуса ЖКТ при различных опухолевых и неопухолевых заболеваниях.

### Литература

1. Вольфсон Н. И., Калиновский В. П., Петров А. С. Морфологические и молекулярно-биологические аспекты генеза экспериментального рака желудка // *Вопр. онкол.* 1985. № 6. С. 3–11.
2. Калиновский В. П. Белки желудочного сока больных раком и другими заболеваниями желудка // *Вопр. мед. химии.* 1968. Т. 14. № 6. С. 572–577.
3. Калиновский В. П., Гамаюнова В. Б., Шумакова А. Р., Хансон К. П. Радиоиммунологический анализ сывороточного пепсиногена I у больных хроническим гастритом и раком желудка // *Вопр. онкол.* 2000. Т. 46. № 2. С. 153–155.
4. Калиновский В. П., Приворотский В. Ф., Хансон К. П. Диагностическая и прогностическая значимость экспрессии тканеспецифических биомаркеров в опухолях и при других патологических состояниях желудка: Метод. реком. СПб., 2001.
5. Минушкин О. Н., Зверков И. В. Хронический гастрит // *Лечащий врач.* 2003. № 3. С. 24–31.
6. Павлович И. М., Голофеевский В. Ю., Калиновский В. П. Хронический атрофический гастрит: особенности морфологической структуры и пепсинообразующей функции // *Вопр. онкол.* 2006. Т. 52. № 3. С. 353–356.
7. Успенская М. Н., Калиновский В. П., Ткаченко Е. И., Хансон К. П. Инфекция *Helicobacter pylori* в свете современных представлений о гастроинтестинальной неоплазии и пепсин-пепсиноген-образующей функции желудка // *Вопр. онкол.* 2005. Т. 51. № 5. С. 533–539.
8. Успенская М. Н., Калиновский В. П., Ткаченко Е. И. Биохимические и иммунологические критерии оценки состояния слизистой оболочки желудка при ее опухолевой и неопухолевой патологии // *Вопр. онкол.* 2007. Т. 53. № 3. С. 304–310.
9. Шумаков А. Р., Калиновский В. П., Хансон К. П. Анализ полиморфизма генов пепсиногена А при раке желудка // *Вопр. онкол.* 1999. Т. 45. № 2. С. 129–130.
10. Шумаков А. Р., Федоров С. Н., Калиновский В. П., Хансон К. П. Анализ экспрессии генов пепсиногена А при раке желудка // *Вопр. онкол.* 1999. Т. 45. № 3. С. 238–240.
11. Alfasser G., Antoniu B., Thayer S. P. et al. Degradation and inactivation of plasma tumor necrosis factor-alpha by pancreatic proteases in experimental acute pancreatitis // *Pancreatol.* 2005. Vol. 5. P. 37–43.
12. Arveiler B., Breen H., Gosden J., Porteous D. Mapping human chromosome 11 with yeast artificial chromosome recombinants // *Cytogenet. Cell Genet.* 1991. Vol. 58. P. 1954–1955.
13. Bodger K., Wyatt J. I., Heatley R. V. Variation in serum pepsinogens with severity and topography of *Helicobacter pylori*-associated chronic gastritis in dyspeptic patients referred for endoscopy // *Helicobacter.* 2001. Vol. 6. P. 216–224.
14. Cao Q., Ran Z. H., Xiao S. D. Screening of atrophic gastritis and gastric cancer by serum pepsinogen, gastrin-17 and *Helicobacter pylori* immunoglobulin G antibodies // *J. Dig. Dis.* 2007. Vol. 8. P. 15–22.
15. Chandrasoma P., Wickramasinghe K., Ma Y., De Meester T. Is intestinal metaplasia a necessary precursor lesion for adenocarcinomas of the distal esophagus, gastroesophageal junction and gastric cardia? // *Dis. Esophagus.* 2007. Vol. 20. P. 36–41.
16. Chen T. S., Lee Y. C., Li F. Y., Chang F. Y. Smoking and hyperpepsinogenemia are associated with increased risk for duodenal ulcer in *Helicobacter pylori*-infected patients // *J. Clin. Gastroenterol.* 2005. Vol. 39. P. 699–703.
17. Crew K. D., Neugut A. I. Epidemiology of gastric cancer // *World J. Gastroenterol.* 2006. Vol. 12. P. 354–362.
18. Derakhshan M. H., El-Omar E., Oien K. et al. Gastric histology, serological markers and age as predictors of gastric acid secretion in patients infected with *Helicobacter pylori* // *J. Clin. Pathol.* 2006. Vol. 59. P. 1293–1299.

19. Francesco de V., Zullo A., Rinaldi V. et al. Relationship between antral lymphocyte density and basal gastrin levels in patients with Helicobacter pylori infection // *Dig. Liver Dis.* 2000. Vol. 32. P. 676–681.
20. Gisbert J. P., Boixeda D., Al-Mostafa A. et al. Basal and stimulated gastrin and pepsinogen levels after eradication of Helicobacter pylori: a 1-year follow-up study // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1999. Vol. 11. P. 189–200.
21. Gisbert J. P., Gonzalez L., Pedro de A. et al. Helicobacter pylori and bleeding duodenal ulcer: prevalence of the infection and role of non-steroidal anti-inflammatory drugs // *Scand. J. Gastroenterol.* 2001. Vol. 36. P. 717–724.
22. Hartleb M., Wandzel P., Waluga M. et al. Non-endoscopic diagnosis of multifocal atrophic gastritis; efficacy of serum gastrin-17, pepsinogens and Helicobacter pylori antibodies // *Acta Gastroenterol. Belg.* 2004. Vol. 67. P. 320–326.
23. Hoek K. S., Milne J. M., Grieve P. A. et al. Antibacterial activity in bovine lactoferrin-derived peptides // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997. Vol. 41. P. 54–59.
24. Ichinose M., Miki K., Furihata C. et al. DNA methylation and expression of the rat pepsinogen gene in embryonic, adult and neoplastic tissues // *Cancer Res.* 1988. Vol. 48. P. 1603–1609.
25. Ichinose M., Miki K., Wong R. N. S. et al. Methylation and expression of human pepsinogen genes in normal tissues and their alteration in stomach cancer // *Jpn. J. Cancer Res.* 1991. Vol. 82. P. 686–692.
26. Ikeda Y., Nishikura K., Watanabe H. et al. Histopathological differences in the development of small intestinal metaplasia between antrum and body of stomach // *Pathol. Res. Pract.* 2005. Vol. 201. P. 487–496.
27. Ito M., Haruma K., Kaya S. et al. Serological comparison of serum pepsinogen and anti-parietal cell antibody levels between Japanese and German patients // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2002. Vol. 14. P. 123–127.
28. Ito M., Haruma K., Kaya S. et al. Role of anti-parietal cell antibody in Helicobacter pylori-associated atrophic gastritis: evaluation in a country of high prevalence of atrophic gastritis // *Scand. J. Gastroenterol.* 2002. Vol. 37. P. 287–293.
29. Kalinovsky V. P., Likhatchev A. J., Shumakov A. R., Hanson K. P. Pepsinogen A gene, carcinogenesis and gastric cancer: biochemical and molecular-biological investigations // *J. of BUON.* 1998. Vol. 4. P. 341–346.
30. Kalinovsky V. P., Volfson N. Y., Zaozerskaya L. A. et al. Molecular, biochemical and morphological aspects of the dynamics of rat stomach mucous membrane changes in experimental carcinogenesis induced by N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) // *Arch. Geschwulstforsch.* 1989. Vol. 59. P. 313–323.
31. Karita M., Noriyasu A., Teramukai S., Matsumoto S. Atrophic progression induced by H. pylori infection is correlated with a changing pepsinogen I value and associated with the development of gastric cancer // *Dig. Dis. Sci.* 2004. Vol. 49. P. 1615–1620.
32. Kiyohira K., Yoshihara M., Ito M. et al. Serum pepsinogen concentration as a marker of Helicobacter pylori infection and the histologic grade of gastritis; evaluation of gastric mucosa by serum pepsinogen levels // *J. Gastroenterol.* 2003. Vol. 38. P. 332–338.
33. Konturek P. C., Brzozowski T., Konturek S. J. et al. Mouse model of Helicobacter pylori infection: studies of gastric function and ulcer healing // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1999. Vol. 13. P. 333–346.
34. Konturek S. J., Zayachkivska O., Havryluk X. O. et al. Protective influence of melatonin against acute esophageal lesions involves prostaglandins, nitric oxide and sensory nerves // *J. Physiol. Pharmacol.* 2007. Vol. 58. P. 361–377.
35. Kotani T., Murashima Y., Kobata A. et al. Pathogenic importance of pepsin in ischemia/reperfusion-induced gastric injury // *Life Sci.* 2007. Vol. 80. P. 984–1992.
36. Kuhara T., Iigo M., Itoh T. et al. Orally administered lactoferrin exerts an antimetastatic effect and enhances production of IL-18 in the intestinal epithelium // *Nutr. Cancer.* 2000. Vol. 38. P. 192–199.
37. Kukacka J., Bibova J., Ruskoaho H., Pelouch V. Protein remodeling of extracellular matrix in rat myocardium during four-day hypoxia: the effect of concurrent hypercapnia // *Gen. Physiol. Biophys.* 2007. Vol. 26. P. 133–142.
38. Lee C. T., Kuo B. I., Chen C. Y. et al. Helicobacter pylori clearance and serum gastrin and pepsinogen I concentrations in omeprazole treatment of duodenal ulcer patients // *Eur. J. Clin. Pharmacol.* 1999. Vol. 54. P. 817–820.
39. Miki K., Urita Y. Using serum pepsinogens wisely in a clinical practice // *J. Dig. Dis.* 2007. Vol. 8. P. 8–14.
40. Nagahama K., Yamato M., Nishio H., Takeuchi K. Essential role of pepsin in pathogenesis of acid reflux esophagitis in rats // *Dig. Dis. Sci.* 2006. Vol. 51. P. 303–309.
41. Ohkusa T., Miwa H., Nomura T. et al. Improvement in serum pepsinogens and gastrin in long-term monitoring after eradication of Helicobacter pylori: comparison with H. pylori-negative patients // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2004. Vol. 20 (Suppl. 1). P. 25–32.
42. Ohkusa T., Takashimizu I., Fujiki K. et al. Changes in serum pepsinogen, gastrin, and immunoglobulin G antibody titers in Helicobacter pylori-positive gastric ulcer after eradication of infection // *J. Clin. Gastroenterol.* 1997. Vol. 25. P. 317–322.
43. Oksanen A., Sipponen P., Karttunen R. et al. Atrophic gastritis and Helicobacter pylori infection in outpatients referred for gastroscopy // *Gut.* 2000. Vol. 46. P. 460–463.
44. Oksanen A., Sipponen P., Miettinen A. et al. Evaluation of blood tests to predict normal gastric mucosa // *Scand. J. Gastroenterol.* 2000. Vol. 35. P. 791–795.
45. Roy M. K., Kuwabara Y., Hara K. Peptides from the N-terminal end of bovine lactoferrin induce apoptosis in human leukemic (HL-60) cells // *J. Dairy Sci.* 2002. Vol. 85. P. 2065–2074.

46. Ruiz-Torres M. P., Perez-Rivero G., Rodriguez-Puyol M. et al. The leukocyte-endothelial cell interactions are modulated by extracellular matrix proteins // *Cell Physiol. Biochem.* 2006. Vol. 17. P. 221–232.
47. Ruol A., Parenti A., Zaninotto G. et al. Intestinal metaplasia is the probable common precursor of adenocarcinoma in Barrett esophagus and adenocarcinoma of the gastric cardia // *Cancer.* 2000. Vol. 88. P. 2520–2528.
48. Sakai T., Banno Y., Kato Y. et al. Pepsin-digested bovine lactoferrin induces apoptotic cell death with JNK/SAPK activation in oral cancer cells // *J. Pharmacol. Sci.* 2005. Vol. 98. P. 41–48.
49. Samloff I. M., Stemmermann G. N., Heilbrun L. K., Nomura A. Elevated serum pepsinogen I and II levels differs as risk factors for duodenal ulcer and gastric ulcer // *Gastroenterology.* 1986. Vol. 90. P. 570–576.
50. Santhosh S., Anandan R., Sini T. K., Mathew P. T. Protective effect of glucosamine against ibuprofen-induced peptic ulcer in rats // *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2007. Vol. 22. P. 949–953.
51. Schlemper R. J., van der Werf S. D., Biemond I., Lamers C. B. Seroepidemiology of gastritis in Japanese and Dutch male employees with and without ulcer disease // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 1996. Vol. 8. P. 33–39.
52. Shen B., Ormsby A. H., Shen C. et al. Cytokeratin expression patterns in noncardia, intestinal metaplasia-associated gastric adenocarcinoma: implication for the evaluation of intestinal metaplasia and tumors at the esophagogastric junction // *Cancer.* 2002. Vol. 94. P. 820–831.
53. Sipponen P., Ranta P., Helske T. et al. Serum levels of amidated gastrin-17 and pepsinogen I in atrophic gastritis: an observational case-control study // *Scand. J. Gastroenterol.* 2002. Vol. 37. P. 785–791.
54. Sugiu K., Kamada T., Ito M. et al. Anti-parietal cell antibody and serum pepsinogen assessment in screening for gastric carcinoma // *Dig. Liver Dis.* Vol. 38. P. 303–307.
55. Suzuki H., Masaoka T., Hosoda H. et al. Plasma ghrelin concentration correlates with the level of serum pepsinogen I and pepsinogen I/II ratio – a possible novel and non-invasive marker for gastric atrophy // *Hepatogastroenterology.* 2004. Vol. 51. P. 1249–1254.
56. Tatematsu M., Ichinose M., Tsukada S. et al. DNA methylation of the pepsinogen I gene during rat glandular stomach carcinogenesis // *Jpn. J. Cancer Res.* 1988. Vol. 79. P. 691–695.
57. Vaananen H., Vauhkonen M., Helske T. et al. Non-endoscopic diagnosis of atrophic gastritis with a blood test. Correlation between gastric histology and serum levels of gastrin-17 and pepsinogen I: a multicentre study // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2003. Vol. 15. P. 885–891.
58. Voutilainen M., Mantynen T., Farkkila M. et al. Impact of non-steroidal anti-inflammatory drug and aspirin use on the prevalence of dyspepsia and uncomplicated peptic ulcer disease // *Scand. J. Gastroenterol.* 2001. Vol. 36. P. 817–821.
59. Yamada S., Matsuhisa T., Makonkawkeyoon L. et al. Helicobacter pylori infection in combination with the serum pepsinogen I/II ratio and interleukin-1 beta-511 polymorphisms are independent risk factors for gastric cancer in Thais // *J. Gastroenterol.* 2006. Vol. 41. P. 1169–1177.

Представлена академиком РАМН А. В. Шабровым

## КОМПЕНСАТОРНЫЕ ВОЗМОЖНОСТИ ЯРЕМНЫХ ВЕН ПРИ ИЗМЕНЕНИИ ОТТОКА КРОВИ ОТ ГОЛОВНОГО МОЗГА

ИВАНОВ А. Ю., ПАНУНЦЕВ В. С., КОНДРАТЬЕВ А. Н., ИВАНОВА Н. Е., ПЕТРОВ А. Е.,  
КОМКОВ Д. Ю., ПАНУНЦЕВ Г. К., ЧЕРЕПАНОВА Е. В., ВЕРШИННИНА Е. А.

ФГУ «Российский институт нейрохирургии им. проф. А. Л. Поленова»,  
Санкт-Петербург

*Иванов А. Ю., Панунцев В. С., Кондратьев А. Н., Иванова Н. Е., Петров А. Е., Комков Д. Ю., Панунцев Г. К., Черепанова Е. В., Вершинина Е. А.* Компенсаторные возможности яремных вен при изменении оттока крови от головного мозга // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 109–114. ФГУ «Российский институт нейрохирургии им. проф. А. Л. Поленова», Санкт-Петербург, ул. Маяковского, 12.

Приведены результаты исследования венозного кровотока головного мозга у больных с артерио-венозными мальформациями во время внутрисудистых операций. Одновременная фиксация скоростей кровотока в артериях и венах головы и шеи, площадей сечения яремных вен, давления в яремных венах и синусах мозга, проведение ангиографического контроля позволили получить объективную информацию о состоянии венозной системы. Полученные данные могут быть использованы в сосудистой нейрохирургии и неврологии, при проведении ультразвуковых обследований венозной системы у пациентов с различными видами патологии головного мозга.

*Ключевые слова:* церебральный венозный кровоток, венозная дисциркуляция, дуплексное сканирование, артерио-венозная мальформация головного мозга, яремная вена.

*Ivanov A. Yu., Panuntsev V. S., Kondratyev A. N., Ivanova N. E., Petrov A. E., Komkov D. Yu., Panuntsev G. K., Cherepanova E. V., Vershinina E. A.* Compensatory abilities of the jugular veins under conditions of altered cerebral blood drainage // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 109–114. Polenov's Russian institute of Neurosurgery, St. Petersburg.

The results of studying cerebral venous blood flow during endovascular surgery for arteriovenous malformations are given. Simultaneous assessment of the head and neck arterial and venous blood flow velocities, jugular square section, jugular vein and brain sinus pressures, and angiographic control ensured objective information on the dynamics of the venous system state.

The data obtained may be of use in vascular neurosurgery and neurology, in ultrasound studies of the venous system in the patients suffering various types of cerebral pathology.

*Key words:* cerebral venous blood flow, venous discirculation, duplex ultrasound, cerebral arteriovenous malformation, jugular vein.

В последние годы отмечается рост интереса к вопросам венозного кровообращения головного мозга при различных заболеваниях, как непосредственно связанных с поражением самой венозной системы, так и при сопутствующих изменениях венозного оттока.

Нарушения венозного оттока от головного мозга подразделяют на первичные и вторичные. Первичные вызваны так называемыми дистониями вен шеи и головного мозга, могут быть связаны с колебаниями внутричерепного давления [1, 2, 9, 10, 11, 16, 19, 23]. Вторичные нарушения венозного оттока вызываются нарушением проходимости венозных коллекторов, например, при сдавлении синуса головного мозга объемным образованием. Диагностика вторичных нарушений венозного кровообращения хорошо изучена и отражена в литературе [6], что же касается критериев диагностики первичных нарушений, то они остаются достаточно спорными [2, 4, 10, 13, 20, 21].

Вариабельность анатомии венозных сосудов осложняет выработку четких границ нормы скоростных параметров кровотока и поперечных размеров яремных вен на шее и затрудняет объективную диагностику венозных дисциркуляций. Однако именно решению этого вопроса уделяется большое внимание в работах, посвященных исследованию венозного оттока у больных с нарушениями мозгового кровообращения и гипертонической энцефалопатией и венозной гипертензией [1, 2, 3, 4, 10, 11, 13, 18], при которых компонент венозной дисциркуляции признается большинством авторов. Следует отметить, что получаемые данные характеризуются значительным разбросом показателей, затрудняющим использование параметров венозного кровотока в клинической практике. На сегодняшний день нет единой точки зрения, насколько характеристики кровотока в яремных венах (размеры сечения яремной вены, средняя линейная скорость кровотока, вид паттерна) отражают нарушения венозной циркуляции головного моз-

га, также неизвестно, насколько изменение функционального состояния вен шеи может быть значимо для мозгового кровотока [2, 4, 20, 21, 22].

С точки зрения физиологии обязательным компонентом нарушения оттока (при срыве процессов компенсации) является повышение давления в венозной системе, что может быть зафиксировано во время исследования [1, 3, 12]. При операциях на артерио-венозных мальформациях (АВМ), после окклюзии артерио-венозного шунта, возникает разобщение артериальной и венозной системы, происходит значимое и достоверное уменьшение артериального притока к головному мозгу [6, 12, 13]. При этом появляется возможность оценить, насколько эти изменения отражаются на параметрах давления и кровотока в яремных венах. Желательно, чтобы операция была внутрисосудистой и проводилась при самостоятельном дыхании пациента, тогда мы можем быть уверены в том, что не будет реакций венозной системы на значительные изменения внутригрудного давления, которые возникают при искусственной вентиляции легких [3].

Цель исследования: изучить динамику кровотока и давления в яремных венах на фоне внутрисосудистых эмболизаций артерио-венозных мальформаций головного мозга.

Задачи исследования:

- 1) установить, насколько значимым для параметров кровотока в яремных венах (скоростные характеристики, давление, площадь сечения вены) является уменьшение венозного оттока от мозга;
- 2) провести сравнение значимости интракраниальных (снижение оттока) и экстракраниальных факторов (колебаний внутригрудного давления) на параметры яремного давления;
- 3) выявить направления венозного дренирования в зависимости от локализации мальформации.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Во время проведения внутрисосудистых операций (суперселективная эмболизация артерио-венозной мальформации гистоакрилом) обследовали 30 больных с АВМ головного мозга. В среднем, по данным ангиографии, за один этап операции из кровотока выключалось 56,4% мальформации.

Для контроля кровотока больным осуществляли ультразвуковое (УЗ) исследование кровотока в артериях и венах шеи и головного мозга до начала операции, после введения в наркоз и после проведения эмболизации. Оценивали скорость кровотока для внутричерепных сосудов и дополнительно – площадь сечения для артерий и вен на шее. Измерение системного артериального давления проводили с помощью прямой катетеризации лучевой артерии и фиксировали данные с помощью монитора. Для

контроля давления в яремной вене осуществляли ее катетеризацию по Сельдингеру направляющим катетером, к которому присоединяли измерительную систему. Через установленный в яремной вене направляющий катетер вводили микрокатетер, который располагали на уровне места слияния синусов. Контроль ликворного давления проводили с помощью установки люмбального катетера. Таким образом появлялась возможность судить об изменениях почти всех звеньев как артериального, так и венозного кровотока в сочетании с ликвородинамикой.

Исследования проводили при наличии информированного согласия больных.

При анализе данных использовались следующие методы математической статистики: линейные связи между параметрами определялись с использованием корреляционного анализа; для проверки гипотезы о влиянии фактора вмешательства (до операции – наркоз – операция) и фактора сторона (ipsi-contra) на значения исследуемых признаков применялся смешанный многомерный дисперсионный анализ – MANOVA с использованием парных сравнений; для определения внутренней структуры системы параметров применялся факторный анализ. Статистические решения принимались на 5%-м уровне значимости (двусторонняя альтернатива).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Перед началом операции скорость кровотока по яремным венам значительно превышала норму и в среднем составляла  $71 \pm 28$  см/сек на стороне мальформации и  $65 \pm 29$  см/сек на контралатеральной стороне. По данным УЗ-обследования, в 13 наблюдениях преимущественное венозное дренирование осуществлялось в яремную вену на стороне мальформации, в 9 наблюдениях – в контралатеральную, а в 8 – венозный сброс был практически симметричен. Яремная вена, в которой отмечался преимущественный кровоток, считалась нами доминантной и катетеризировалась по Сельдингеру для контроля венозного давления. Кровоток в позвоночных венах был повышен у 6 пациентов, однако как по УЗ-данным, так и по данным ангиографии этот путь оттока ни разу не являлся не сравнимым по масштабу с яремными венами.

После индукции наркоза у всех пациентов отмечалось снижение системного артериального давления в среднем на 20–25% от исходного, причем степень снижения была связана с глубиной седации больного. В течение нескольких минут после болюсного введения лекарственных препаратов происходил умеренный подъем артериального давления (на 5–10%) и в дальнейшем образовывалось плато артериального давления, сохранявшееся на все время действия препарата. Восстановление сознания пациента происхо-

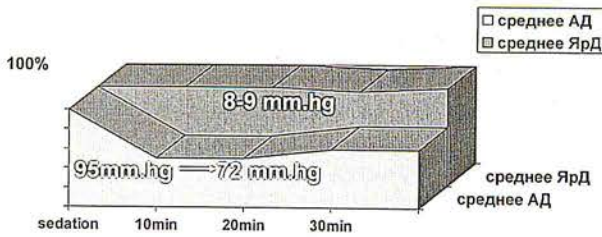


Рис. 1. Отсутствие динамики яремного давления на снижение системного артериального давления после наркоза (%)

дило в отчетливо выраженной зависимости от уровня артериального давления, которое всегда поднималось при пробуждении пациента (рис. 1).

Скорость артериального кровотока в бассейне приводящего сосуда АВМ значительно превышала норму и составляла в среднем  $146 \pm 53$  см/сек. После начала наркоза отмечалось достоверное снижение скорости кровотока до  $124 \pm 47$  см/сек. Одновременно отмечалось некоторое нарастание параметров сопротивления (пульсовой индекс (ПИ) с 0,55 возрастал до 0,6, а резистивный индекс (РИ) – с 0,43 до 0,46). После эмболизации скорость кровотока в бассейне приводящего сосуда снижалась до  $111 \pm 60$  см/сек (в зависимости от степени эмболизации). Параллельно наблюдалось заметное нарастание индексов сопротивления кровотоку.

Кровоток по средней мозговой артерии, контралатеральной расположению АВМ, при выполнении исследования снижался при начале седации с  $81 \pm 18$  до  $76 \pm 21$  см/сек (разница достоверна). В этом случае также наблюдалось нарастание ПИ с  $0,8 \pm 0,02$  до  $0,84 \pm 0,03$  см/сек. После эмболизации отмечалась тенденция к снижению скорости кровотока и нарастанию индексов сопротивления.

Таким образом, при эмболизации АВМ регистрировалось достоверное снижение степени артерио-венозного шунтирования и, соответственно, уменьшение притока крови к мозгу. На этом фоне производилась регистрация показателей венозного кровотока.

Площадь сечения доминантной яремной вены после эмболизации АВМ достоверно уменьшалась с  $84 \pm 39$  до  $65 \pm 38$  мм<sup>2</sup>, зато скорость кровотока по доминантной яремной вене имела небольшую тенденцию к нарастанию с  $71 \pm 28$  до  $85 \pm 46$  см/сек.

Динамика скорости кровотока в доминантной вене в большинстве наблюдений находилась в об-

Linear Regression

$$S \text{ Яр вена ипси max} = 107.88 + -0.98 * \text{nv\_40}$$

$$R\text{-Square} = 0.25$$

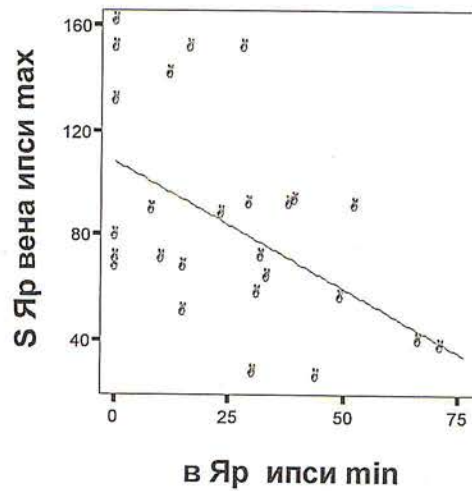


Рис. 2. Обратная корреляция между скоростью кровотока в яремной вене и ее площадью сечения  $r = -.504, p = .009$

ратной связи от площади (площадь/скор.  $R = -0,85; p = 0,00007$  по Spearman) (рис. 2).

Эти изменения коррелировали с изменениями пульсового и резистивного индексов кровотока в ВСА (PI  $r = 0,52; p = 0,047; RI r = 0,51; p = 0,049$  по Spearman).

Реакций на наркоз со стороны давления в синусе и доминантной яремной вене (при наличии свободного, незатрудненного дыхания) не отмечалось.

Давление в доминантной яремной вене составляло от 4 до 12 мм рт. ст. и практически не изменялось на протяжении всей операции (колебания не превышали 2–3 мм рт. ст.) (при свободном дыхании), независимо от того, насколько снижалась скорость кровотока и площадь вены после наркоза или окклюзии артерио-венозного шунта (табл. 1, 2).

Как следует из табл. 2, колебания давления в яремной вене до и после операции не достоверны.

При возникновении любых, даже самых минимальных, нарушений спонтанного дыхания больного, включая храп (при избыточной дозе фентанила и дипривана), отмечался мгновенный подъем давления в яремной вене (доходивший до 28 мм рт. ст. при временной вентиляции мешком Амбу), быстро рег-

Таблица 1

Давление в яремной вене до и после операции

	Valid N	Mean	Median	Std. Dev.	Standard error
Давление до операции	30	8,357143	8,500000	3,433033	0,917517
Давление после операции	30	9,214286	9,000000	3,117656	0,833229

Достоверность разницы давления в яремной вене до и после операции (парный Т-тест для зависимых признаков)

	Mean	Std. Dv.	N	Diff.	Std. Dv.	T	df	p
Д. до операции	8,357143	3,433033	30					
Д. после операции	9,214286	3,117656	30	-0,857143	2,282278	-1,40523	13	0,183396

рессировавший после восстановления нормального дыхания (рис. 3).

Давление в синусной системе составляло в среднем  $19,6 \pm 8,6$  мм рт. ст., что почти в 2 раза выше нормы, причем уровень давления коррелировал с размерами и характеристиками венозного сброса мальформации, достигая у некоторых пациентов 28–30 и даже 39 мм рт. ст. Давление в синусе всегда превышало давление в яремной вене, при этом отмечалась довольно жесткая зависимость от состояния дыхания (рис. 4).

При катетеризации прямого синуса фиксировалось повышение давления на 1–2 мм рт. ст. по направлению к его начальным отделам. При измерении давления в поперечных синусах справа и слева от слияния не выявлялось значимой разницы даже в тех

случаях, когда размеры синусов (правого и левого) резко различались между собой.

У 87% пациентов давление в синусе было ниже люмбального, однако встречалось и противоположное соотношение, что не вполне объяснимо с современных позиций по резорбции ликвора, которая должна происходить при преимущественном ликворном давлении.

Давление ликвора в среднем составляло  $19,9 \pm 8,7$  мм рт. ст. и так же зависело от режимов дыхания и вентиляции, как и давление в синусах.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Трудности в оценке нарушений венозного оттока от головного мозга заключаются не столько в регистрации показателей, сколько в их трактовке, поскольку физиологические механизмы венозного кровообращения изучены недостаточно [1, 2, 4, 9, 13, 15, 16]. Не сформировано общей точки зрения, насколько параметры кровотока в яремных венах способны отражать нарушения венозной циркуляции головного мозга, также неизвестно, насколько изменение функционального состояния вен шеи может быть значимо для мозгового кровотока [2, 4, 17, 20, 21, 22].

Исследования, проводимые на эту тему, сталкиваются с одной и той же проблемой – слишком большое число факторов, влияющих на показатели венозного кровотока (дыхание, состояние давления, возраст, анатомическая вариабельность венозной системы и т. д.), которые маскируют сдвиг параметров, возникающий при изменении оттока крови непосредственно от мозга в условиях патологии [1, 2, 3, 13]. Подобная задача может быть решена исследованиями в динамике, но для этого нужно, чтобы у одного и того же пациента за относительно небольшое время значимо и достоверно изменились показатели артериального притока, причем на фоне стабильности всех других факторов. Такая ситуация возникает при разобщении артерио-венозного шунта при внутрисосудистых операциях на АВМ головного мозга [6, 12, 13], особенно если они проводятся на самостоятельном дыхании больного. В этом случае становится возможным оценить динамику венозного оттока от мозга на фоне верифицированного уменьшения артериального притока.

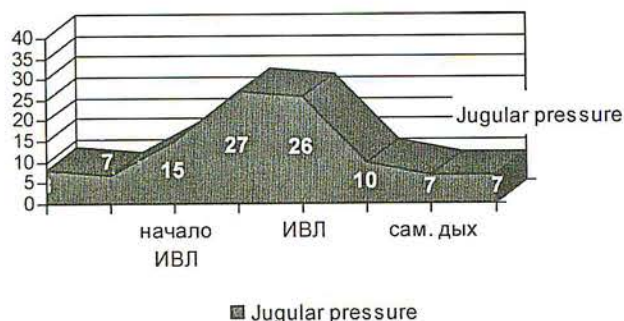


Рис. 3. Нарастание давления в яремной вене при искусственной вентиляции легких

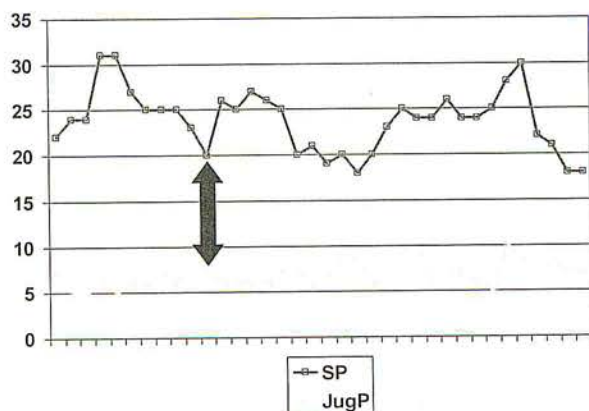


Рис. 4. Превышение давления в синусе (SP) над давлением в яремной вене (JugP) (интраоперационная динамика)



В представленном исследовании предполагалось получить данные, свидетельствующие о повышении кровенаполнения в яремных венах, с учетом наличия такого мощного нагрузочного фактора, как АВМ головного мозга [12, 14]. Сопоставление динамики давления в яремных венах до и после эмболизации АВМ с данными ультразвукового исследования позволило бы отработать количественные критерии УЗ-диагностики венозной дисциркуляции.

Однако во всех наблюдениях давление в системе яремных вен не превышало нормы, не отмечалось достоверной реакции ни на изменение системного давления, ни на эмболизацию АВМ. До тех пор, пока не были нарушены механизмы дыхания и вентиляции [3], сохранялся стабильный уровень яремного давления, свидетельствующий о полной компенсации оттока в бассейне яремных вен. Постоянство давления, по всей вероятности, поддерживается в первую очередь изменением площади сечения яремных вен и в меньшей степени скоростью кровотока. Установленная обратная зависимость между площадью сечения яремной вены и скоростью кровотока в ней дает возможное объяснение стабильности яремного давления и одновременно говорит о том, что яремные вены обладают активной регуляцией собственного тонуса.

Подобное явление можно сравнить с ауторегуляцией мозгового кровотока, который сохраняется относительно стабильным, даже при значительных колебаниях системного артериального давления [8]. Система ауторегуляции венозного кровотока обладает довольно значительными резервами, так как легко справлялась со значительными колебаниями оттока крови от мозга. Не наблюдалось ни ангиографических, ни доплерографических признаков заметного оживления кровотока по позвоночным сплетениям в положении лежа, как можно было бы ожидать при значимой перегрузке бассейна яремных вен, что также свидетельствовало о компенсированности оттока [1, 2, 20, 21].

Таким образом, даже наличие такого мощного нагрузочного для венозной системы фактора, как АВМ, не приводит к недостаточности оттока по яремным венам, любые, даже весьма резкие изменения объема венозного дренирования, не влияют на уровень яремного давления. С другой стороны, даже самые минимальные нарушения дыхания приводили к мгновенному подъему давления в яремных венах [3].

Оценка преимущественных направлений оттока от АВМ позволяет заключить, что сторона, на которой локализуется патологический процесс, далеко не всегда совпадает со стороной измененного венозного дренирования, что создает дополнительные трудности с трактовкой данных ультразвуковых исследований.

Полученные результаты позволяют лучше понять механизмы регуляции венозного оттока, которые используются при обследовании венозной системы мозга.

Из всего вышесказанного следует, что, по всей вероятности, оценка венозного кровотока шеи и головного мозга должна основываться не столько на простой фиксации данных, сколько на результатах специфических функциональных проб, которые необходимо разрабатывать с учетом известных особенностей физиологии венозного кровотока.

## ВЫВОДЫ

1) При наличии нормального дыхания давление в яремной вене в положении лежа является константой и регулируется, в частности, просветом яремной вены. Компенсаторные возможности яремных вен позволяют легко справиться даже с таким мощным фактором перегрузки, как артерио-венозная мальформация.

2) Колебания давления в яремных венах больше связаны с экстракраниальными факторами, такими как изменения режима дыхания и вентиляции, чем с объемом венозного дренирования мозга.

3) Преимущественное венозное дренирование из АВМ осуществляется в ипсилатеральную яремную вену лишь в 1/3 наблюдений.

## Литература

1. Бердичевский М. Я. Венозная дисциркуляторная патология головного мозга. М., 1989. 256 с.
2. Бокерия Л. А., Бузиашвили Ю. И., Шумилина М. В. Нарушения церебрального венозного кровообращения у больных с сердечно-сосудистой патологией. М., 2003. 162 с.
3. Вайнштейн Г. Б. К вопросу о происхождении дыхательных волн внутричерепного давления // Физиол. журн. СССР. 1969. Т. 35. № 11. С. 1386–1392.
4. Луцик У. Б., Браницкая Н. С. Исследование артерио-венозного равновесия (прикладные аспекты ультразвуковой доплерографии). Киев, 2003. 68 с.
5. Карлов В. А., Куликов Ю. А., Ильина Н. Л. Дисциркуляторная энцефалопатия у больных артериальной гипертензией // Журн. неврол. и психиатр. им. С. С. Корсакова. 1997. Т. 97. № 5. С. 15–17.
6. Свистов Д. В. Ультразвуковая транскраниальная доплерография в диагностике артерио-венозных мальформаций головного мозга и оптимизации хирургической тактики у этой категории больных // Актуальные проблемы военной нейрохирургии. СПб., 1996. С. 78–84.
7. Семенов С. Е., Абалмасов В. Г. Диагностика нарушений церебрального венозного кровообращения с применением магнитно-резонансной венографии // Журн. неврол. и психиатр. 2000. № 10. С. 44–50.

8. Хилько В. А., Москаленко Ю. Е. Принципы изучения сосудистой системы головного мозга человека. Л., 1984. 70 с.
9. Шахнович В. А., Бехтерева Т. Л., Серова Н. К. Нарушения венозного кровообращения головного мозга при внутричерепной гипертензии // *Нейрохирургия*. 1999. № 3. С. 34–37.
10. Alperin N., Lee S. H., Mazda M. et al. Evidence for the importance of extracranial venous flow in patients with idiopathic intracranial hypertension (ИИ) // *Acta Neurochir. Suppl.* 2005. Vol. 95. P. 129–132.
11. Bateman G. A. The pathophysiology of idiopathic normal pressure hydrocephalus: cerebral ischemia or altered venous hemodynamics? // *Am. J. Neuroradiol.* 2008. Jan. Vol. 29 (1). P. 198–203. (Epub. 2007. Oct. 9.)
12. Cognard C., Casasco A., Toevi M. et al. Dural arteriovenous fistulas as a cause of intracranial hypertension due to impairment of cranial venous outflow // *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry*. 1998. Sep. Vol. 65 (3). P. 308–316.
13. Doepp F., Valdueza J. M., Schreiber S. J. Incompetence of internal jugular valve in patients with primary exertional headache: a risk factor? // *Cephalalgia*. 2008. Feb. Vol. 28 (2). P. 182–185. (Epub. 2007. Nov. 16.)
14. Hademenos G. J., Massoud T. F. Risk of intracranial arteriovenous malformation rupture due to venous drainage impairment. A theoretical analysis // *Stroke*. 1996. Vol. 27 (6). P. 1072–1083.
15. Kim J., Thacker N. A., Bromiley P. A., Jackson A. Prediction of the jugular venous waveform using a model of CSF dynamics // *Am. J. Neuroradiol.* 2007. May. Vol. 28 (5). P. 933–983.
16. Pranevicius O., Pranevicius M. On the relationship between intracerebral venous pressure, intracranial pressure and brain edema // *Acta Neurochir. (Wien)*. 2007. Vol. 149 (5). P. 541–542.
17. Neimark M. A., Konstas A. A., Laine A. F., Pile-Spellman J. Integration of jugular venous return and circle of Willis in a theoretical human model of selective brain cooling // *J. Appl. Physiol.* 2007. Nov. Vol. 103 (5). P. 1837–1847. (Epub. 2007. Aug. 30.)
18. San Millan Ruiz D., Gailloud P., Rufenacht D.A. et al. The craniocervical venous system in relation to cerebral venous drainage // *Am. J. Neuroradiol.* 2002. Vol. 23. P. 1500–1508.
19. Schoser B.G., Riemenschneider N., Hansen H.C. The impact of raised intracranial pressure on cerebral venous hemodynamics: a prospective venous transcranial Doppler ultrasonography study // *J. Neurosurg.* 1999. Nov. Vol. 91 (5). P. 744–749.
20. Schreiber S. J., Lürting F., Götze R. et al. Extrajugular pathways of human cerebral venous blood drainage assessed by duplex ultrasound // *J. Appl. Physiol.* 2003. Vol. 94. P. 1802–1805.
21. Valdueza J.M., von Münster T., Hoffman O., Schreiber S. and Einhäupl K.M. Postural dependency of the cerebral venous outflow // *Lancet*. 2000. Vol. 355. P. 200–201.
22. Wen Y., Zhou S., Wang C. Compensation of external jugular vein to the reflux of cerebral blood after bilateral ligation of the internal jugular vein // *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2000. Jan. Vol. 35 (1). P. 64–66.
23. Zamboni P., Menegatti E., Bartolomei I. et al. Intracranial venous haemodynamics in multiple sclerosis // *Curr. Neurovasc. Res.* 2007. Nov. Vol. 4 (4). P. 252–258.

Представлена академиком РАМН А. А. Скоромцом

## МОЖЕТ ЛИ ИММУННАЯ СИСТЕМА ЗАЩИЩАТЬ НАС ОТ АТЕРОСКЛЕРОЗА?

*Академик РАМН КЛИМОВ А. Н., ДЕНИСЕНКО А. Д.**ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН»,  
Санкт-Петербург*

**Климов А. Н., Денисенко А. Д.** Может ли иммунная система защищать нас от атеросклероза? // Мед. акад. журн. 2008. Т. 8. № 2. С. 115–117. ГУ «Научно-исследовательский институт экспериментальной медицины РАМН», Санкт-Петербург, 197376, ул. Академика Павлова, 12.

На основании опубликованных собственных и литературных данных авторы предполагают, что формирование аутоиммунных комплексов модифицированный липопротеин низкой плотности–антитело может носить защитный характер: такие комплексы обладают меньшей способностью индуцировать накопление эфиров холестерина в макрофагах по сравнению с исходными модифицированными липопротеинами и быстро элиминируются из кровотока. Авторы полагают, что активный иммунный ответ на модифицированные липопротеины может защищать от преждевременного развития атеросклероза.

*Ключевые слова:* атеросклероз, модифицированные липопротеины, иммунный ответ, иммунные комплексы.

**Klimov A. N., Denisenko A. D.** Can the immune system protect us against atherosclerosis? // Med. Acad. Journ. 2008. Vol. 8. № 2. P. 115–117. Research Institute of Experimental Medicine of the RAMS, St. Petersburg. 197376.

Using as basis their publications and the available literature data the authors of the editorial suggest that formation in the human organism of autoimmune complexes “modified low density lipoprotein–antibody” may have a protective character: such complexes are less atherogenic, compared to initial modified lipoproteins, and are eliminated from circulation very quickly. In the authors view the active immune response to modified lipoproteins may protect organism from premature development of atherosclerosis.

*Key words:* atherosclerosis, modified lipoproteins, immune response, immune complexes.

Изучение участия иммунологических факторов в атерогенезе, проведенное в последние годы, заставляет нас по-новому подойти к оценке роли иммунного комплекса липопротеин низкой плотности (ЛПНП)–антитело в развитии атеросклероза.

Долгое время рядом исследователей, в том числе и нами, иммунные комплексы ЛПНП–антитело рассматривались как высокоатерогенная субстанция, активно участвующая в атерогенезе [5, 15, 17 и многие др.]. Следует напомнить, что иммунный комплекс ЛПНП–антитело содержит в качестве антигена самый богатый холестерином липопротеин. Это послужило одним из главных аргументов в пользу точки зрения о высокой атерогенности указанного комплекса. Кроме того, принимались во внимание и следующие факты: при инкубации искусственно приготовленных иммунных комплексов ЛПНП–IgG (но не нативных ЛПНП) с мышинными перитонеальными макрофагами происходило накопление в клетках эфиров холестерина и трансформация макрофагов в пенистые клетки [15]; то же самое наблюдалось при инкубации выделенных из сыворотки крови человека иммунных комплексов с перикардиальными макрофагами [2, 16]; при развитии экспериментального холестеринового атеросклероза в крови кроликов происходило сначала нарастание антилипидных антител, а затем комплексов ЛПНП–IgG и липопротеин очень низкой плотности (ЛПОНП)–IgG

[3]; у больных ишемической болезнью сердца (ИБС) частота обнаружения и концентрация иммунного комплекса ЛПНП–IgG оказались выше, чем у здоровых лиц того же возраста, хотя в целом уровень иммунных комплексов в крови у людей оказался крайне низким [4, 12]; у больных с ангиографически диагностированным атеросклерозом сонных артерий обнаружена корреляция между содержанием антител к окисленным ЛПНП и тяжестью заболевания [18]. Однако при оценке проведенных исследований трудно было решить, являются ли циркулирующие в крови иммунные комплексы липопротеин–антитело или свободные антитела к липопротеинам всего лишь сопутствующим признаком атеросклеротического процесса или же они непосредственно влияют на течение заболевания: ускоряют или замедляют его.

Обнаружена также высокая цитотоксичность иммунных комплексов липопротеин–антитело по сравнению с нативными липопротеинами при их инкубации с клеточными культурами [8] или при перфузии изолированной аорты кролика средой, содержащей комплекс ЛПОНП–IgG [7], рассматриваемая как косвенный признак атерогенности комплекса.

Однако в проведенных исследованиях при оценке взаимодействия иммунных комплексов с макрофагами в качестве контроля использовались нативные липопротеины, тогда как в образовании комплексов

в организме, как правило, участвует их модифицированная форма. При интерполировании экспериментальных данных, полученных в опытах *in vitro*, на целостный организм не учитывался тот факт, что образовавшиеся иммунные комплексы чрезвычайно быстро удаляются из кровотока. Не удивительно, что содержание в крови иммунных комплексов липопротеин-антитело по сравнению с содержанием свободных липопротеинов чрезвычайно низкое: менее 0,5% всех циркулирующих ЛПНП вовлечено в их образование [12].

Заметим также, что изучение цитотоксичности иммунных комплексов проводилось в основном на культуре клеток в замкнутой системе при длительной инкубации (1–3 сут), причем в инкубационной среде создавались более высокие концентрации комплекса, чем те, которые существуют в плазме крови людей, хотя и близкие к таковым в сосудистой стенке [12].

С учетом этих замечаний в работах А. Н. Климова и А. Д. Денисенко [1, 6] проводилось изучение атерогенности иммунных комплексов ЛПНП-IgG, выделенных из сыворотки крови и атеросклеротических поражений аорты людей (аутопсийный материал), по сравнению с атерогенностью свободных ЛПНП, выделенных из того же материала [12]. О степени атерогенности иммунных комплексов или свободных ЛПНП авторы судили по скорости их захвата мышинными перитонеальными макрофагами. Кроме того, изучалась скорость элиминации из кровотока кролика иммунного комплекса ЛПНП-IgG, образовавшегося непосредственно в организме животного.

Полученные данные показали, что иммунные комплексы липопротеин-антитело, выделенные из крови или аорты человека, при инкубации с макрофагами активно захватываются последними, при этом в макрофагальной клетке происходит накопление эфиров холестерина и возрастает вероятность ее трансформации в пенистую клетку. Все это свидетельствует о том, что иммунные комплексы, образующиеся в организме человека, обладают определенной атерогенностью. Однако проведенные исследования показали, что макрофаги в несколько раз активнее захватывают свободные модифицированные (окисленные) ЛПНП, чем аутоиммунные комплексы. Найдено, что захват сывороточных и аортальных аутоиммунных комплексов ЛПНП-антитело макрофагами был в 2,1–2,4 раза выше, чем захват свободных липопротеинов сыворотки (преимущественно нативных). Однако захват свободных (преимущественно модифицированных) аортальных ЛПНП был в среднем в 3,6 раза выше, чем захват аортальных иммунных комплексов. Другими словами, атерогенность иммунного комплекса оказалась ниже по сравнению с входящим в его состав

антигеном. В порядке ранжировки она может быть выражена следующим образом: модифицированные ЛПНП > комплекс модифицированных ЛПНП с IgG > нативные ЛПНП.

Далее, в упоминаемой выше работе было исследовано, как быстро элиминируются из кровотока иммунные комплексы ЛПНП-IgG, образовавшиеся в организме животного при избытке антител. С этой целью кроликам, предварительно иммунизированным человеческим апоВ, вводили внутривенно меченые человеческие ЛПНП и следили за ходом элиминации радиоактивности плазмы крови. Контролем служили интактные животные.

В этих опытах образовавшиеся *in vivo* иммунные комплексы ЛПНП-антитело исчезали из кровотока почти мгновенно, подавляющая часть комплекса исчезала за 2–3 мин.

Таким образом, можно полагать, что образование иммунных комплексов модифицированные ЛПНП-антитело направлено на то, чтобы, с одной стороны, ослабить действие антигена, а с другой – ускорить его удаление из организма. Другими словами, в ответ на опасность развития атеросклероза организм запускает иммунологические механизмы защиты от этой опасности, подобно тому, как это происходит при инфекционных заболеваниях. Уместно привести еще одно сравнение: известно, что Т-лимфоциты защищают нас от новообразований и ослабление клеточного иммунитета ведет к раннему развитию раковых опухолей. Таким образом, на защите организма от двух самых распространенных и коварных заболеваний человека – атеросклероза и рака – стоит иммунная система, проявляющая свою активность в виде гуморального и клеточного иммунитета.

Важные данные о роли иммунного ответа на модифицированные липопротеины в атерогенезе были получены в исследованиях, в которых проводилась однократная иммунизация взрослых животных (мышей и кроликов) гомологичными окисленными ЛПНП или водными экстрактами из пораженной атеросклерозом аорты. Такие исследования показали, что иммунизация животных приводила к нарастанию антител к окисленным ЛПНП и, что самое интересное и важное, к задержке развития атеросклероза [13, 19]. Эти исследования показали также, что развитие устойчивости к атеросклерозу у мышей и кроликов, в том числе у кроликов Ватанабе, не ведет к снижению уровня холестерина в крови (наблюдается лишь статистически недостоверная тенденция к снижению), а развитие устойчивости авторы связывают, главным образом, с активацией антителами против модифицированных ЛПНП гуморальных и клеточных факторов, ведущих у угнетению иммунного воспаления артерий. По всей вероятности, если бы авторы цитированных выше работ оценивали содержание

модифицированных ЛПНП у иммунизированных животных, они обнаружили бы заметное снижение этого показателя, тем более, что содержание перекисно-модифицированных липопротеинов в крови у мышцей необычайно высокое [14]. Не отрицая возможного подавления воспалительного процесса в артериях у иммунизированных животных, по-видимому, главный эффект иммунизации связан с образованием менее атерогенных иммунных комплексов и их быстрым захватом клетками РЭС. Отметим, что успешные результаты опытов с иммунизацией животных поставили на повестку дня вопрос о создании вакцины против атеросклероза для иммунизации человека [9].

Вместе с тем следует упомянуть и об экспериментах, в которых было установлено, что у мышцей, нокаутированных по апоЕ и RAG-1 или RAG-2 (рекомбиназу-активирующие-гены; у таких животных не достигают функциональной зрелости Т- и В- лимфоциты и развивается иммунодефицит), выраженность атеросклероза на атерогенной диете не отличалась от таковой у апоЕ-дефицитных мышцей с нормальным иммунным ответом, несмотря на полное отсутствие антител к модифицированным липопротеинам [10, 11].

Таким образом, роль иммунного ответа на модифицированные липопротеины в развитии атеросклероза остается предметом пристального изучения и дискуссии.

### Литература

1. Денисенко А. Д. Аутоиммунные комплексы липопротеин-антитело и их роль в атерогенезе // Мед. академ. журн. 2007. Т. 7. № 1. С. 38–44.
2. Денисенко А. Д., Виноградов А. Г., Нагорнев В. А. и др. Взаимодействие макрофагов с аутоиммунным комплексом липопротеид-антитело // Иммунология. 1989. № 2. С. 32–35.
3. Иоффе В. И., Зубжсицкий Ю. Н., Нагорнев В. А., Климов А. Н. К иммунологической характеристике экспериментального атеросклероза // Бюл. экспер. биол. 1973. № 6. С. 72–76.
4. Каленич О. С., Тертов В. В., Новиков И. Д. и др. Холестерин циркулирующих иммунных комплексов как биологический маркер коронарного атеросклероза // Кардиология. 1991. Т. 31. № 2. С. 42–44.
5. Климов А. Н., Денисенко А. Д. О роли иммунных комплексов липопротеид-антитело в атерогенезе // Успехи совр. биол. 1988. Т. 196. № 2 (5). С. 279–289.
6. Климов А. Н., Денисенко А. Д. О кажущейся и действительной атерогенности иммунных комплексов ЛПНП-IgG в плазме крови и артериальной стенке // Вестн. РАМН. 2007. № 7. С. 3–6.
7. Климов А. Н., Денисенко А. Д., Нагорнев В. А. Иммунные комплексы липопротеид-антитело // Иммунореактивность и атеросклероз / Ред. А. Н. Климов. Л., 1986. С. 107–128.
8. Нагорнев В. А., Восканянц А. Н., Виноградов А. Г. и др. Цитотоксический эффект липопротеинов низкой плотности // Бюл. экспер. биол. мед. 2003. Т. 135. № 1. С. 107–109.
9. Brown M. A vaccine against atherosclerosis // Drug Discovery Today. 2002. Vol. 7. P. 588–590.
10. Dansky H. M., Charlton S. A., Harper M. M., Smith J. D. T and B lymphocytes play a minor role in atherosclerotic plaque formation in the apolipoprotein E-deficient mouse // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1997. Vol. 94. P. 4642–4646.
11. Daugherty A., Pure E., Delfel-Butteiger D. et al. The effect of total lymphocyte deficiency on the extent of atherosclerosis in apolipoprotein E-/- mice // J. Clin. Invest. 1997. Vol. 100 (6). P. 1575–1580.
12. Denisenko A. D., Makovejchuk E. G., Vinogradov A. G. et al. Autoantibodies against oxidized low density lipoproteins and lipoprotein-antibody autoimmune complexes in human atherosclerosis // Eur. J. Lab. Med. 1996. Vol. 4. P. 85–90.
13. Fredrikson G. N., Söderberg I., Lindholm M. et al. Inhibition of atherosclerosis in apoE-null mice by immunization with apoB-100 peptide sequences // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2003. Vol. 23. P. 879–884.
14. George J., Afek A., Gilburg B. et al. Hyperimmunization of apo-E-deficient mice with homologous malondialdehyde low-density lipoprotein suppresses early atherosclerosis // Atherosclerosis. 1998. Vol. 138. № 1. P. 147–152.
15. Klimov A. N., Denisenko A. D., Popov A. V. et al. Lipoprotein-antibody immune complexes. Their catabolism and role in foam cell formation // Atherosclerosis. 1985. Vol. 58. P. 1–15.
16. Klimov A. N., Denisenko A. D., Vinogradov A. G. et al. Accumulation of cholesteryl esters in macrophages incubated with human lipoprotein-antibody autoimmune complex // Atherosclerosis. 1988. Vol. 74. P. 41–46.
17. Lopes-Virella M. F., Virella G., Orchard T. J. et al. Antibodies to oxidized LDL and LDL-containing immune complexes as risk factors for coronary artery disease in diabetes mellitus // Clin. Immunol. 1999. Vol. 90. P. 165–172.
18. Salonen J. T., Yla-Herttuala S., Yamamoto R. et al. Autoantibody against oxidized LDL and progression of carotid atherosclerosis // Lancet. 1992. Vol. 339. P. 883–887.
19. Zhou X., Caligiuri G., Hamsten A. et al. LDL immunization induces T-cell-dependent antibody formation and protection against atherosclerosis // Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol. 2001. Vol. 21. P. 108–114.

## РЕЦЕНЗИЯ НА МОНОГРАФИЮ

## «ФАРМАКОЛОГИЯ В САНКТ-ПЕТЕРБУРГЕ (ИСТОРИЧЕСКИЕ ОЧЕРКИ)»

/ Под ред. Ю. Д. Игнатова, Н. С. Сапронова и П. Д. Шабанова.  
СПб.: Элби-СПб, 2007. 416 с.

Коллективная монография известных Санкт-петербургских фармакологов посвящена истории становления и развития фармакологической науки в Санкт-Петербурге – колыбели отечественной фармакологии. Авторский коллектив монографии включает 17 фармакологов, работающих в разных учреждениях Санкт-Петербурга. Монография построена по принципу очерков (всего их 13), в каждом из которых описывается отдельное профильное подразделение (кафедра, лаборатория, отдел) с момента его создания по настоящее время. Очерки излагаются в исторической последовательности, по мере возникновения соответствующих кафедр и лабораторий. Книга содержит большое число фотографий и персоналий.

Во Введении описывается становление фармакологии как науки, начиная с XVIII века.

Первая профильная кафедра в Санкт-Петербурге, на которой стали преподавать фармакологические знания, была основана в России в 1798 г. (год основания Медико-хирургической академии в Санкт-Петербурге), дисциплина именовалась «Материя медика» и включала в себя современные знания о фармакологии, ботанике и фармакогнозии. Сам термин и сочетание «кафедра фармакологии» появились в 1808 г., когда в штате Медико-хирургической академии была выделена самостоятельная кафедра ботаники и фармакологии. В те годы термин «фармакология» еще не устоялся, наряду с ним использовали термин «фармакография», и первый отечественный учебник по фармакологии (в трех томах), изданный профессором Санкт-Петербургской Императорской Медико-хирургической академии А. П. Нелюбиным, назывался «Фармакография или химико-фармацевтическое и фармако-динамическое изложение приготовления и употребления новейших лекарств» (1840). В 1860–1870-е гг. профессором кафедры фармакологии Медико-хирургической академии О. В. Забелиным была организована экспериментальная фармакологическая лаборатория (первым лабораторию фармакологии организовал Р. Бухгейм в 1840-х гг. в Дерптском университете), где активно проводились исследования по изучению действия фармакологических агентов на животных. В 1870–1874 гг. О. В. Забелин издавал

журнал под названием «Журнал для нормальной и патологической гистологии, фармакологии и клинической медицины». В 1874 г. он начал издавать более специализированный журнал «Современный лечебник», в котором, кроме работ, выходящих из его лаборатории, и рефератов о выдающихся исследованиях по фармакологии, стал печатать свои лекции. В них он сообщал только о тех лекарствах, которые изучены в эксперименте. И, наконец, в 1879 г. И. П. Павловым была организована лаборатория по изучению и стандартизации лекарственных препаратов на животных (первоначально существовала в структуре кафедры факультетской терапии, возглавляемой С. П. Боткиным, после его смерти была переведена в структуру кафедры фармакологии Военно-медицинской академии, где существует по настоящее время), положившая начало научному изучению многих групп фармакологических препаратов (сердечные гликозиды, горечи, кофеин, бром, алкоголь и др.).

Таким образом, за свою более чем двухвековую историю фармакология превратилась из науки умозрительной, описательной, констатирующей в науку молекулярно-биологическую. Основные положения, характеризующие фармакологию сегодня и выделяющие ее среди других медико-биологических наук, авторы Введения (Игнатов Ю. Д., Сапронов Н. С., Шабанов П. Д.) сформулировали следующим образом:

1. Фармакология занимается изучением эффектов и механизма влияния лекарственных средств на организм, иными словами, это наука о взаимодействии экзогенно вводимых веществ с живым субстратом, рецептором.

2. Фармакология – одна из самых активных медико-биологических дисциплин, которая не только констатирует и изучает факты и явления, но непременно стремится с помощью соответствующих химических агентов воздействовать в желаемом направлении на различные функции и процессы, протекающие в целом организме.

3. Фармакология, какой бы фундаментальной она ни была, носит выраженный прикладной характер. Экспериментальная же фармакология в этом смысле составляет незыблемую основу всех фармакологических исследований.

Задачей современной фармакологии – науки о действии и изыскании лекарственных веществ – является изучение взаимодействия между живым субстратом и действующим на него биологически активным веществом. В этом смысле фармакологию следует считать биологической наукой, частью которой является фармакология медицинская.

Кроме общих сведений о формировании фармакологии как науки, во Введении подчеркивается, что Санкт-Петербургское фармакологическое сообщество дало миру целую плеяду выдающихся, талантливых и самобытных ученых, ставших пионерами различных оригинальных направлений в фармакологии и вписавших славные страницы в историю отечественной фармакологии: Н. П. Кравков, С. В. Аничков, В. В. Закусов, А. А. Лихачев, Н. В. Лазарев, В. М. Карасик, А. В. Вальдман, С. Н. Голиков, М. Я. Михельсон и многие-многие другие. В Ленинграде–Санкт-Петербурге сложился ряд крупных научных коллективов, продолжающих плодотворно развивать идеи своих учителей, заложивших основы экспериментальной и клинической фармакологии.

В монографии представлены краткие исторические очерки формирования и развития фармакологических школ – научно-исследовательских учреждений и кафедр высших учебных заведений, основные направления, научные труды и современное состояние фармакологии в Санкт-Петербурге.

**Очерк 1. Первая в России кафедра фармакологии. Краткая история и научные достижения кафедры фармакологии Военно-медицинской академии.** Очерк написан заведующим кафедрой фармакологии проф. П. Д. Шабановым. Очерк начинается с описания исторических предпосылок возникновения Медико-хирургической академии (XVIII в.), а также изложения материалов, посвященных *Materia medica* как врачебной дисциплине. Далее приводятся сведения о становлении кафедры фармакологии (1798–1809), включая персоналии отдельных руководителей кафедры: Карла (Иоганна Христиана) Рингеброяга (1754–1802), Тимофея Андреевича Смеловского (1769–1815), Фридриха Христиановича (Фридриха Христиана) Стефана (1757–1814), Иогана Генриховича (Иогана Генриха) Рудольфа (1754–1809), Язона Васильевича Петрова (1780–1823), Александра Петровича Нелюбина (1785–1858). Следующий раздел очерка посвящен кафедре фармакологии в XIX веке, где приведены материалы по преподаванию фармакологии Осипом Федоровичем Калинин-Гелита (1792–1858), Иваном Тимофеевичем Спасским (1795–1861), Павлом Федоровичем Горяниновым (1796–1865), Генрихом Казимировичем Куллаковским (1802–1871) Осипом Викентьевичем Забелиным (1834–1875), Петром Петровичем Сушинским (1842–1894), Иваном Петровичем Павловым (1849–1936), Степаном Дмитрие-

вичем Костюриным (1853–1898). Имя И. П. Павлова у большинства исследователей ассоциируется с его физиологическими работами. Однако он сам и его ученики выполнили ряд блестящих работ в области экспериментальной и клинической фармакологии. Достаточно упомянуть, что в годы руководства кафедрой фармакологии (1890–1895) под руководством И. П. Павлова активно изучались эффекты и механизмы действия алколоидов (атропина, эметина, пилокарпина, никотина, физостигмина, скополамина, лобелина, кокаина и др.), сердечных гликозидов (настойка ландыша майского, горицвета, морозника), горечей, этанола, брома, кофеина, морфина и т. д. Последний раздел очерка описывает кафедру фармакологии как родоначальника современной отечественной фармакологии. Эта часть очерка начинается с описания исследований Николая Павловича Кравкова (1865–1924), выдающегося ученого, члена-корреспондента Российской академии наук, академика Военно-медицинской академии. Общеизвестно, что проф. Н. П. Кравков является основоположником современного этапа развития отечественной фармакологии. С именем Н. П. Кравкова связано внедрение метода изолированных органов в экспериментальную фармакологию, первое использование внутривенного анестетика гедонала, изучение механизма действия двухвалентных металлов, органических кислот, газообразных токсикантов и т. д. Н. П. Кравков стал основателем экспериментально-патологического (экспериментально-терапевтического) направления в отечественной фармакологии. В 1920–30-е гг. кафедру возглавлял выдающийся советский фармаколог академик АМН СССР Сергей Викторович Аничков (1892–1981), в эти же годы на кафедре работали Михаил Петрович Николаев (1893–1949), Василий Васильевич Закусов (1903–1986), будущий академик АМН СССР (1952), Анатолий Иванович Кузнецов (1898–1951). В послевоенные годы кафедру возглавляли Сергей Яковлевич Арбузов (1903–1978), Николай Васильевич Лазарев (1895–1974), Василий Михайлович Виноградов (1924–2003), Александр Владимирович Смирнов (р. 1948). С 2000 г. кафедрой фармакологии руководит проф. Петр Дмитриевич Шабанов (р. 1955). П. Д. Шабанов – известный в стране и за рубежом ученый в области физиологии и фармакологии центральной нервной системы. Его исследования посвящены выяснению механизмов памяти, подкрепления, эмоций и возможностям их управления с помощью фармакологических веществ. Им опубликованы более 700 научных работ, в их числе 22 монографии, 19 учебно-методических пособий, 15 патентов РФ на изобретение, более 200 журнальных статей, из них 35 за рубежом. Завершает очерк список основных публикаций сотрудников кафедры фармакологии.

**Очерк 2. История кафедры фармакологии Женского медицинского института, 1-го Ленинградского медицинского института им. И. П. Павлова, Санкт-Петербургского медицинского университета им. акад. И. П. Павлова и Института фармакологии им. А. В. Вальдмана СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова.** Очерк написан академиком РАМН проф. Ю. Д. Игнатовым. В нем подробно описано становление кафедры фармакологии, начиная с 1899 г., когда ее возглавил проф. А. А. Лихачев (бессменный руководитель кафедры до 1942 г.), приведены биографии выдающихся фармакологов, работавших на кафедре (Владимир Моисеевич Карасик, Василий Васильевич Закусов, Дмитрий Александрович Харкевич, Наталья Вениаминовна Каверина, Артур Викторович Вальдман, Александр Иванович Шаповалов), а также краткое описание деятельности большинства сотрудников кафедры, работавших на ней в разные периоды современной истории (Мария Игнатьевна Пальчевская, Николай Алексеевич Круглов, Сергей Яковлевич Арбузов, Борис Иванович Легостев, Зинаида Николаевна Иванова, Ольга Петровна Острейко, Мария Георгиевна Созина, Галина Сергеевна Алексева, Геннадий Васильевич Ковалев, Валерий Павлович Лебедев, Марина Михайловна Козловская, Виталий Александрович Цырлин, Олег Стефанович Медведев, Эдвин Эдуардович Звартау, Александр Афанасьевич Зайцев, Борис Владимирович Андреев, Олег Ильич Карпов и др.). С 1978 г. по настоящее время кафедру возглавляет академик РАМН проф. Юрий Дмитриевич Игнатов. Основным научным направлением работы кафедры является фармакология болеутоляющих средств и фармакология болезней зависимости.

**Очерк 3. Фармакологическая школа С. В. Аничкова в Институте экспериментальной медицины.** Очерк написан членом-корреспондентом РАМН проф. Н. С. Сапроновым.

История отдела фармакологии в Институте экспериментальной медицины берет свое начало с 1923 г., когда в Институте было принято решение создать Отдел экспериментальной фармакологии. Для руководства отделом был приглашен известный фармаколог Николай Павлович Кравков (1865–1924), однако безвременная кончина помешала ему развернуть работу отдела. По рекомендации академика И. П. Павлова руководителем отдела был назначен проф. Владимир Васильевич Савич (1874–1936) – крупный физиолог, имевший также фармакологический опыт, который и возглавлял его до 1936 г. Тогда же, в связи с переводом большинства отделов в Москву (организация ВИЭМ) и смертью В. В. Савича, отдел был упразднен. В 1948 г. в Институте был вновь открыт Отдел фармакологии, который до 1981 г. бессменно возглавлял Герой Социалистического Труда, лауреат Ленинской и Государственной премий СССР, академик АМН СССР Сергей Викторович Аничков

(1892–1981), чье имя в настоящее время носит Отдел нейрофармакологии и с чьим именем связаны наиболее значимые успехи отдела. В эти годы вместе с С. В. Аничковым работали академик АМН СССР Владимир Моисеевич Карасик (1894–1964), член-корреспондент АМН СССР Николай Васильевич Хромов-Борисов (1905–1987), член-корреспондент РАМН Ирина Сергеевна Заводская (1924–2006), проф. Н. А. Хараузов и другие ученые. В 1984–1992 гг. Отдел фармакологии возглавлял проф. Юрий Сергеевич Бородин, а с 1992 г. по настоящее время Отделом нейрофармакологии им. С. В. Аничкова руководит член-корреспондент РАМН Николай Сергеевич Сапронов (р. 1937). Отделу нейрофармакологии принадлежат приоритетные исследования в области холинергической передачи, регуляции эндокринных органов, фармакотерапии дистрофических процессов во внутренних органах, молекулярной фармакологии гистамин- и ВАК-ергической передачи.

**Очерк 4. История кафедры фармакологии Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова.** Очерк написан заведующим кафедрой проф. Г. И. Дьячуком.

Кафедра фармакологии входила в число первых кафедр Психо-неврологического института, ректором которого был назначен В. М. Бехтерев (1907). В 1920 г. институт переименовали в Государственный институт медицинских знаний. С 1936 г. он стал именоваться 2-м Ленинградским медицинским институтом, с 1946 г. – Ленинградским санитарно-гигиеническим медицинским институтом, с 1994 г. – Санкт-Петербургской государственной медицинской академией им. И. И. Мечникова. Первым заведующим кафедрой фармакологии был Павел Васильевич (Войцехович) Буржинский, который руководил кафедрой до 1915 г. С 1917 по 1924 г. кафедру возглавлял ученик И. П. Павлова проф. Давид Абрамович Каменский. С 1925 по 1942 г. кафедрой заведовал проф. Михаил Иванович Граменицкий. С 1945 по 1962 г. кафедрой руководил академик АМН СССР Сергей Викторович Аничков. С 1963 по 1989 г. кафедру возглавлял ученик С. В. Аничкова проф. Петр Прокофьевич Денисенко (р. 1923), с 1989 г. по настоящее время кафедрой заведует ученик П. П. Денисенко проф. Георгий Иванович Дьячук. Достижения кафедры связаны с изучением функции химиокаротидных рецепторов, разработкой новых центральных холинолитиков, протившоковых средств, блокаторов кальциевых каналов, изучением производных фуллеренов. На кафедре издан учебник «Фармакология» (Аничков С. В., Беленький М. Л.) (1953 г., переиздание в 1968 г.).

**Очерк 5. Кафедра фармакологии Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии. Прошлое и настоящее.** Очерк написан проф. М. В. Неженцевым.

Преподавание фармакологии в Педиатрическом медицинском институте началось в 1933 г., когда



лекции по фармакологии стал читать заведующий кафедрой нормальной физиологии проф. А. Г. Гинецинский. Образование кафедры, как научно-педагогического коллектива, произошло в 1934–1935 гг., когда ее возглавил Владимир Моисеевич Карасик, руководивший кафедрой до 1964 г. С 1964 по 1988 г. кафедрой заведовала ученица В. М. Карасика проф. Ирина Валерьевна Маркова, которая в последующем долгое время оставалась научным консультантом кафедры. С 1988 г. по настоящее время кафедрой руководит проф. Михаил Васильевич Неженцев.

Основные достижения кафедры связаны с изучением токсического действия лекарственных средств (В. М. Карасик), средств, влияющих на холинергические структуры, и возрастной фармакологией. Исходя из сущности токсического процесса и обезвреживания конкретных ядов, В. М. Карасик и его сотрудники (Хараузов Н. А., Шелоханова В. Е., Рожков В. М., Розенберг В. Н.) разработали метод использования метгемоглобинообразователей (нитритов, метиленового синего) при лечении отравленных цианидами, сероводородом, азидом и фторидом натрия. Обнаружено потенцирование их антитоксического действия глюкозой. Сейчас применение нитритов и метиленового синего при названных интоксикациях описывается во всех справочниках и руководствах по токсикологии. На кафедре подготовлен и издан ряд учебников, учебно-методических пособий по педиатрической фармакологии и клинической фармакологии.

**Очерк 6. Кафедра фармакологии Санкт-Петербургской государственной химико-фармацевтической академии.** Представлен проф. В. А. Краузом и проф. Е. Е. Лесиовской.

Кафедра фармакологии была основана в 1919 г. в только что открытом Петроградском химико-фармацевтическом институте. В 1924–1925 гг. кафедра входит в структуру Ленинградского государственного университета, в 1925–1937 гг. – в структуру 1-го Ленинградского медицинского института. С 1937 г. химико-фармацевтический факультет передается вновь организованному химико-фармацевтическому институту. В 1961 г. курс фармакологии вновь приобретает статус кафедры. Первым заведующим кафедрой был проф. Алексей Алексеевич Лихачев, который руководил кафедрой с 1919 по 1942 г. С 1942 по 1951 г. кафедру возглавлял профессор И. А. Стерин. С 1951 по 1975 г. кафедрой фармакологии руководила проф. Тамара Александровна Мельникова, с 1976 по 1981 г. – проф. Александра Никитична Поскаленко. С 1981 по 1995 г. кафедру возглавлял проф. Леонид Васильевич Пастушенков, с 1995 по 2004 г. – проф. Елена Евгеньевна Лесиовская. С 2004 г. по настоящее время кафедрой заведует проф. Владислав Алексеевич Крауз (р. 1938).

Преподавание на кафедре направлено на углубление знаний провизоров в области фармако- и фитоте-

рапии. В этом здесь видят основу для эффективного взаимодействия провизора и врача в плане рационального и безопасного применения лекарственных средств различного происхождения. Дисциплина углубляет медико-биологическую подготовку провизоров, расширяет представления специалистов о современных перспективах фармако- и фитотерапии, путях решения проблемы повышения эффективности и безопасности терапии с помощью современных высокоэффективных препаратов. Опубликован учебник «Фармакология с основами фитотерапии» (1995 г., переиздание в 2003 г.).

**Очерк 7. Кафедра фармакологии и токсикологии Санкт-Петербургской государственной академии ветеринарной медицины. История и научные школы.** Очерк написан заведующей кафедрой проф. Н. Л. Андреевой.

Кафедра фармакологии и токсикологии основана в Ленинградском ветеринарном институте в 1921 г., в 1924 г. была введена фармация, а в 1937 г. – курс токсикологии. Первым заведующим кафедрой был ученик И. П. Павлова проф. Владимир Васильевич Савич (1874–1936), который руководил кафедрой с 1921 по 1936 г. В 1936–1940 и в 1945–1951 гг. кафедру возглавлял проф. Анатолий Иванович Кузнецов (1897–1951). В 1952–1953 гг. заведующей была ученица И. П. Павлова проф. Екатерина Николаевна Сперанская (1899–1979), в 1954–1960 гг. – проф. Сергей Илларионович Ордынский, в 1960–1986 гг. – проф. Петр Дмитриевич Евдокимов (1916–1986), в 1986–2005 гг. – заслуженный деятель науки РФ, проф. Владимир Дмитриевич Соколов. С 2006 г. кафедрой руководит проф. Надежда Лукояновна Андреева. Основные достижения кафедры связаны с решением вопросов фармакологической коррекции многих патологий животных, разработкой и внедрением в практику моно- и комбинированных препаратов для фармакологической коррекции иммунодефицитов, стресса и продуктивности животных, изучением и использованием органических кислот в ветеринарии, фармакологической коррекцией дисбактериозов, детоксикационной терапии. Подготовлено 3 учебника по ветеринарной фармакологии и токсикологии.

**Очерк 8. Фармакологические исследования в Институте токсикологии.** Очерк написан профессорами А. Н. Петровым, Э. П. Зацепиным и Е. В. Семеновым.

Институт токсикологии создан в 1935 г. под названием Ленинградский санитарно-химический институт. В 1940 г. переименован во Всесоюзный санитарно-химический институт. С 1957 г. Институт носит нынешнее имя, адекватно отражающее его принадлежность к соответствующей области научных знаний. За более чем 70 лет своего существования Институт прошел плодотворный путь, отмеченный внедрением в практику здравоохранения уникаль-

ных медицинских средств защиты от отравляющих веществ, прежде всего фосфорорганических отравляющих веществ. У истоков научной школы Института стояли выдающиеся отечественные ученые фармакологи Алексей Алексеевич Лихачев (возглавлял Институт в 1935–1942 гг.), Сергей Викторович Аничков (в 1946–1951 гг. – заместитель директора Института токсикологии по научной работе), Владимир Моисеевич Карасик (в 1935–1951 гг. – руководитель лаборатории экспериментальной терапии, в последующем член Ученого совета Института), профессора Н. А. Хараузов и С. С. Крылов, которые были не менее выдающимися токсикологами. В 1951–1975 гг. Институт возглавлял академик АМН СССР Сергей Николаевич Голиков, организовавший и возглавивший в 1956 г. лабораторию, а в дальнейшем отдел фармакологии. До 2007 г. Институтом руководил проф. Александр Николаевич Петров, а с 2007 г. – проф. Сергей Петрович Нечипоренко. Институт фармакологии явился инициатором и разработчиком новых оригинальных антидотов, применяемых при отравлении фосфорорганическими соединениями. Параллельно этому разработана концепция общетоксического эффекта (С. Н. Голиков), доказана роль отдельных подтипов мускариновых холинорецепторов, созданы оригинальные фармакологические средства холинергической направленности.

**Очерк 9. Психофармакология в Психоневрологическом научно-исследовательском институте имени В. М. Бехтерева.** Очерк написан проф. И. П. Лапиным.

Лаборатория психофармакологии в Ленинградском научно-исследовательском психоневрологическом институте имени В. М. Бехтерева была открыта в 1960 г., ее возглавил проф. И. П. Лапин. В 1992 г. лаборатория была реорганизована в Отделение клинических и экспериментальных исследований новых психотропных средств, научным руководителем отделения избрали проф. Ю. Л. Нуллера. С 2004 г. отделение возглавляет доктор медицинских наук Владимир Леонидович Козловский. К наиболее значимым результатам деятельности лаборатории (отделения) следует отнести разработку «серотониновой концепции депрессии» (И. П. Лапин, Г. Ф. Оксенкруг), экспериментальную фармакологию нейрокинуринов, фармакологию фенибута, представления о плацебо-терапии как основе психологического компонента фармакотерапии.

**Очерк 10. Развитие фармакологии репродукции в Институте акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта.** Очерк написан проф. В. В. Корховым.

В 1966 г. в составе Института акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта АМН СССР была организована Лаборатория фармакологии по изысканию и апробации контрацептивов, которую возглавила доктор медицинских наук А. Н. Поскаленко. Научным консультантом лаборатории стал академик

АМН СССР С. В. Аничков. С 1976 г. по настоящее время лабораторию возглавляет проф. Всеволод Всеволодович Корхов. Исследования лаборатории сосредоточены на изучении эффективности, механизма действия и переносимости в эксперименте и клинике ряда гормональных контрацептивов и внутриматочных средств. Лаборатория проводит широкие комплексные исследования в области фармакологии репродукции с ведущими институтами химического профиля страны – ВНИХФИ (Москва), Институтом органической химии им. Н. Д. Зелинского РАН (Москва), Ленинградским (Санкт-Петербургским) государственным университетом. Основное внимание уделяется разработке и исследованию стероидных препаратов (как гестагенов, так и эстрогенов), аналогов люлиберина, синтетических простагландинов, растительных препаратов, воздействующих на репродуктивную систему женщины.

**Очерк 11. Кафедра клинической фармакологии Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии.** Очерк подготовлен заведующим кафедрой проф. И. Б. Михайловым.

Кафедра клинической фармакологии Санкт-Петербургской государственной педиатрической медицинской академии была организована в 1983 г. Это была одна из первых в стране кафедр клинической фармакологии. Первым заведующим кафедрой стал проф. Вильям Анатольевич Гусель, который возглавлял кафедру с 1983 по 1994 г. С 1995 г. кафедрой клинической фармакологии руководит проф. Игорь Борисович Михайлов. Проф. В. А. Гуселем совместно с проф. И. В. Марковой написан «Справочник педиатра по клинической фармакологии» (1989), учебник по фармакологии (под ред. И. В. Марковой, 1979), монография «Отравления в детском возрасте» (под ред. И. В. Марковой, 1977). И. Б. Михайлов – автор первого в России учебника «Клиническая фармакология» для студентов педиатрических факультетов (учебник выдержал 4 издания: 1998, 2000, 2002, 2005), ряда монографий по сердечным гликозидам, лечению дерматозов у детей, основам фармакотерапии в акушерстве и гинекологии, фармакотерапии нервных болезней у взрослых и детей, лечению детских инфекций и паразитарных инвазий, ряда справочников по педиатрической фармакологии.

**Очерк 12. Клиническая фармакология в Санкт-Петербургской государственной медицинской академии им. И. И. Мечникова.** Очерк написан заведующей курсом клинической фармакологии проф. А. Т. Бурбелло.

Курс клинической фармакологии в Санкт-Петербургской медицинской академии им. И. И. Мечникова был создан в 1984 г. при кафедре фармакологии. Его возглавил проф. П. П. Денисенко. В 1992 г. курс клинической фармакологии был переведен на

кафедру внутренних болезней №1 (зав. — академик РАМН проф. А. В. Шабров), им стала заведовать проф. Александра Тимофеевна Бурбелло, возглавляющая курс до настоящего времени. В 2003 г. кафедра была переименована и стала называться кафедрой госпитальной терапии с курсом семейной медицины и курсом клинической фармакологии. К наиболее значимым достижениям курса следует отнести разработку методических рекомендаций «Взаимодействие лекарственных средств, применяемых в кардиологии» (1997), учебно-методического пособия «Клиническая фармакология ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента» (1997, второе издание в 2002), «Контрольных вопросов и тестовых заданий для самостоятельной подготовки по фармакологии и клинической фармакологии» (2001), «Тестовых заданий и ситуационных задач по фармакологии и клинической фармакологии» (2001), учебного пособия на английском языке «Основы базисной и клинической фармакологии. В 2 ч.» (2001), учебно-методических разработок и пособий «Противомикробные и противопаразитарные средства. Особенности клинического применения. Вопросы антибиотикорезистентности», «Лекарственные средства, регулирующие метаболические процессы в организме. Их роль и место в фармакотерапии», «Экспертная оценка лекарственной терапии. Эффективность, безопасность», «Лекционная тетрадь для студентов», «Клиническая фармакология в вопросах и ответах», «Сборник задач по клинической фармакологии» (2002–2007).

**Очерк 13. Научная школа токсикологов-фармакологов Научно-исследовательского испытательного центра (медико-биологической защиты) Государственного научно-исследовательского испытательного института военной медицины Минобороны России.** Статья написана проф. В. Б. Прозоровским и С. В. Чепуром.

Научно-исследовательский институт военной медицины как самостоятельное учреждение был организован на базе Научно-исследовательской лаборатории №1 Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова в 1969 г. Необходимость создания самостоятельного института, в котором были бы сосредоточены исследования по разработке средств медицинской защиты от различных поражающих факторов, к этому времени стала очевидной. Решающим в создании института стало вмешательство крупнейшего организатора военно-медицинской службы нашей страны генерал-полковника медицинской службы академика АМН СССР Е. И. Смирнова, а практическая реализация замысла была возложена на первого руководителя учреждения, выдающегося радиолога генерал-майора медицинской службы проф. Т. К. Джаракьяна. В 1999 г. произошла реорганизация института, и Институт военной медицины

стал исследовательским и испытательским центром НИИЦ (медико-биологической защиты) ГНИИИ военной медицины МО РФ. Руководителями Института (а впоследствии НИИЦ) в этот период были генерал-майоры медицинской службы профессора Н. В. Саватеев, С. А. Куценко и Н. Н. Плужников. Среди наиболее важных достижений ученых Института следует выделить изучение препаратов, воздействующих на холинергическую синаптическую передачу, а также неантихолинэстеразного действия антихолинэстеразных веществ, дистантных эффектов фосфорорганических ингибиторов, нехолинергического действия антихолинэстеразных веществ, создание антидотов высокотоксичных соединений, создание новых эффективных противосудорожных средств, а также препаратов для широкого клинического применения в основном с антихолинэстеразной направленностью.

Таким образом, в 13 исторических очерках описаны основные достижения Санкт-Петербургской научной школы фармакологов. Нужно отметить, что не все очерки, вошедшие в монографию, одного качества: одни — более обстоятельные и более научные по форме (см. очерки П. Д. Шабанова, Ю. Д. Игнатова, Н. С. Сапронова, А. Н. Петрова и соавторов, В. Б. Прозоровского и С. В. Чепура), другие представлены в виде отчета. Однако это не снижает достоинств книги. Монография выполнила свою задачу — впервые дано подробное описание большинства фармакологических подразделений (кафедр, отделов, лабораторий) санкт-петербургских научных и учебных заведений. К сожалению, есть подразделения, которые не представлены в монографии. Это профильные лаборатории Института физиологии им. И. П. Павлова РАН, Института эволюционной физиологии и биохимии им. И. М. Сеченова РАН, Института фтизиопульмонологии, кафедра Санкт-Петербургского государственного университета и ряд других подразделений. Однако, учитывая, что книга создавалась к III съезду фармакологов России (проходил в Санкт-Петербурге 23–27 сентября 2007 г.), время для сбора материалов было ограниченным, и не все подразделения своевременно представили сведения для публикации. Думаю, что редакторы-составители учтут это при втором издании монографии. В целом считаю, что данное издание не только обогащает нас знаниями в области истории науки (в данном случае фармакологии), но и способствует объединению самих фармакологов для свершения новых открытий в науке.

*А. Д. Ноздрачев,  
академик РАН, заведующий кафедрой общей  
физиологии Санкт-Петербургского  
государственного университета*

**ЯИЦКИЙ**  
**Николай Антонович**  
 к 70-летию со дня рождения



11 июня 2008 г. одному из крупнейших хирургов, онкологов, организаторов отечественного высшего медицинского образования, науки и здравоохранения академику РАМН доктору медицинских наук профессору Николаю Антоновичу Яицкому исполнилось 70 лет.

Николай Антонович родился в п. Ямполь Краснелиманского района Донецкой области, закончил Киевское военно-медицинское училище, а в 1963 г. – Донецкий медицинский институт, после чего работал врачом-хирургом. В 1965 г. поступил в аспирантуру Института онкологии АМН СССР, по окончании которой, в 1968 г., защитил кандидатскую диссертацию «Флебография таза в диагностике распространенного рака прямой кишки». С этого времени вся жизнь Николая Антоновича неразрывно связана с 1-м Ленинградским медицинским институтом им. акад. И. П. Павлова (ныне Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова). В 1968 г. он избран ассистентом, в 1978 г. – доцентом кафедры хирургических болезней стоматологического факультета института. К 1984 г. Николай Антонович при консультативной помощи своего любимого учителя А. М. Ганичкина подготовил и блестяще защитил докторскую диссертацию «Хирургическая тактика при осложненном клиническом течении рака ободочной кишки». В 1985 г. Н. А. Яицкий стал профессором, в 1990 г. – был избран заведующим кафедрой хирургических болезней стоматологического факультета и проблемной лаборатории колопроктологии, а в 2004 г. – заведующим кафедрой госпитальной хирургии №1 университета.

В 1988 г. коллектив 1 ЛМИ им. акад. И. П. Павлова избрал профессора Николая Антоновича Яицкого ректором, и по настоящее время он занимает эту должность.

За 20 лет руководства одним из лучших медицинских вузов России и Европы Николаю Антоновичу вместе со своими соратниками и сподвижниками удалось создать крупнейший образовательный, научно-исследовательский, лечебно-профилактический центр, оснащенный и оборудованный на уровне мировых стандартов, сотрудники которого способны

решать педагогические, научные, диагностические и лечебные задачи любой сложности.

Неоценимой заслугой Н. А. Яицкого стало создание в последние годы новых кафедр последипломного обучения, позволяющих готовить высококвалифицированные кадры по медицинским технологиям последнего поколения, НИИ и лаборатории в составе университета, выполняющих работы мирового уровня, многие из которых защищены патентами и открытиями. Впервые в рамках университета открыт Институт сестринского образования, осуществляющий многоуровневую подготовку медицинских сестер, в том числе с высшим образованием.

Под руководством профессора Н. А. Яицкого университет стал для Северо-Запада и других регионов России одним из наиболее привлекательных центров переподготовки и дополнительного образования научно-педагогических кадров по 39 специальностям в рамках аспирантуры и 20 специальностям в рамках докторантуры. Уникальной особенностью вуза стала организация и всестороннее обеспечение научных исследований не только в

области медицинских наук, но и по экономическим, химическим, физико-математическим, историческим, педагогическим дисциплинам, что в полной мере соответствует статусу университета.

Николай Антонович Яицкий – выдающийся педагог, блестящий лектор и методист. Под его руководством созданы и совершенствуются новые учебные планы и программы преподавания клинических дисциплин, в том числе и в первую очередь хирургического профиля.

Профессор Н. А. Яицкий – широко известный, глубоко уважаемый и авторитетнейший ученый, работы которого в области хирургии и онкологии признаны образцовыми как в нашей стране, так и за рубежом. Его вклад в становление и развитие отечественной колопроктологии можно без преувеличения признать решающим. Несмотря на сложное финансово-экономическое положение, при активном участии ректора Н. А. Яицкого происходит переоснащение кафедр и методических лабораторий современной диагностической аппаратурой, активно внед-



ряются новые медицинские технологии высшего качества.

Основное содержание работ Н. А. Яицкого можно представить тремя направлениями. Первое направление исследований – разработка системы предоперационной подготовки больных с запущенными и осложненными формами рака толстой кишки, особенно у лиц пожилого и старческого возраста, и определение особенностей проведения операций и послеоперационного лечения. Разработана техника оперативного вмешательства первичного восстановления кишечной непрерывности при осложненных формах рака ободочной и прямой кишки. Использование новых оригинальных технологий позволило предложить и внедрить новый вид восстановления кишечной непрерывности после обширных резекций с использованием способа бесшовного колопроктального анастомоза. Проведение различных по объему операций с учетом функционального состояния прямой кишки и ее сфинктерного аппарата значительно улучшило хирургическую и медико-социальную реабилитацию больных.

Второе направление работ связано с изучением патогенеза, диагностики и лечения острых воспалительных процессов в толстой кишке и в поджелудочной железе. Разработана лечебно-тактическая концепция острого деструктивного панкреатита. Предложена классификация острого панкреатита, отражающая особенности клинического течения. Выработаны оптимальные диагностические алгоритмы и разработаны методы эндовидеохирургического лечения панкреонекрозов. Определен объем и характер ранней интенсивной терапии, позволяющей прогнозировать тяжесть острого панкреатита, приоритетный характер для разработанного на кафедре системного патогенетического подхода к лечению хронических процессов. Приоритетные работы по использованию плазмоцитофероза обеспечили детоксикацию и иммунокоррекцию при осложненных формах течения воспалительных и опухолевых заболеваний толстой кишки.

Третье направление работ – изучение патогенеза колоректального рака. В рамках сотрудничества с международным агентством по исследованиям рака ВОЗ (Франция) группой исследователей под руководством Н. А. Яицкого были обнаружены опухолевоспецифические генетические нарушения (мутации) коннексина. Результаты этих исследований опубликованы в 2002 г. в одном из ведущих онкологических журналов «Oncogene». Выявленные генетические изменения позволили сделать вывод о важном значении полученных данных как для фундаментальной науки, так и для разработки способов ранней диагностики и диагностики злокачественной прогрессии колоректального рака.

Николай Антонович – прекрасный врач-диагност, владеющий всеми новейшими методами хирургичес-

кого вмешательства при патологии ободочной и прямой кишки и уделяющий особое внимание приемам классической российской хирургической школы – предоперационной подготовке больного и выхаживанию пациента в послеоперационный период.

Профессор Н. А. Яицкий – автор более 300 научных работ, опубликованных в отечественной и зарубежной печати, в том числе 4 монографий. Под его руководством выполнено 5 докторских и 15 кандидатских диссертаций, получено 3 патента на изобретение.

Профессор Н. А. Яицкий отмечен правительственными наградами: медалью «Ветеран труда» (1990), орденом Почета (1997), медалью «За заслуги в Отечественном Здравоохранении» (2002), премией Правительства РФ в области науки и техники (2003) и многочисленными почетными грамотами и дипломами.

Н. А. Яицкий – главный редактор журнала «Вестник хирургии им. И. И. Грекова», главный редактор журнала «Ученые записки СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова», член редколлегии журнала «Колопроктология».

Н. А. Яицкий – доктор медицинских наук (1984), профессор (1985), действительный член РАЕН (2003), действительный член РАМН (2004), член Президиума РАМН (2006), академик Петровской академии наук и искусств, почетный член Хирургического общества Пирогова, член международного хирургического общества, член Президиума Всероссийского научного совета по колопроктологии, научно-технического совета при Правительстве Санкт-Петербурга, коллегии Министерства здравоохранения и социального развития РФ, президент Санкт-Петербургского отделения Российской медицинской ассоциации, лауреат премии Правительства РФ.

Академик РАМН профессор Николай Антонович Яицкий – Почетный доктор СПбГМУ им. акад. И. П. Павлова – широко одаренный человек, его незаурядные таланты ярко проявляются во всех сферах его многообразной и многотрудной деятельности, его образованность, глубокий ум, жизненная, профессиональная и гражданская мудрость позволяют ему видеть все новое и перспективное и внедрять в повседневную работу вуза. Он по достоинству ценит лучшие педагогические, научные и лечебные кадры университета, поддерживает научную молодежь, хранит славные традиции Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И. П. Павлова и чтит память своих Учителей, заботится о всех поколениях своих выпускников.

*Президиум СЗО РАМН, редакционная коллегия журнала, ученики, сотрудники, коллеги и друзья поздравляют Николая Антоновича с юбилеем, желают ему крепкого здоровья, новых успехов в научной и общественной работе.*

ПРАВИЛА ДЛЯ АВТОРОВ ЖУРНАЛА  
«МЕДИЦИНСКИЙ АКАДЕМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ»

*Профиль журнала.* Журнал представляет междисциплинарное издание научно-теоретической и практической ориентации, направленное на публикацию оригинальных исследований, обзоров, лекций, рецензий по актуальным вопросам фундаментальной, клинической и профилактической медицины. Имеет следующие рубрики: редакционная статья, обзоры, фундаментальная медицина, клиническая медицина, профилактическая медицина и экология, лекции для врачей и специалистов, письма в редакцию, дискуссии, рецензии, коммерческая информация, текущая информация. Ориентирован на широкий круг научной общественности, практических врачей, биологов, экологов. В журнале печатаются ранее не опубликованные работы по профилю журнала. Не принимаются к печати статьи, представляющие собой отдельные этапы незавершенных исследований, а также статьи с нарушением Правил и норм гуманного обращения с объектами исследований.

*Представление в журнал.* Статья должна иметь представление действительного члена или члена-корреспондента Северо-Западного отделения Российской академии медицинских наук. Не требуют представления статьи, где соавторами являются действительные члены или члены-корреспонденты СЗО РАМН.

*Структура статей.* Рукопись должна иметь направление от учреждения, где выполнялась работа. Заглавие должно быть кратким (не более 120 знаков), точно отражающим содержание статьи. Под заглавием помещаются инициалы и фамилии авторов, затем указываются полное название учреждения, город и почтовый индекс. Перед текстом статьи помещаются резюме (до 1500 знаков) и ключевые слова (до 10). Резюме не требуется при публикации рецензий, отчетов о конференциях, коммерческой информации. В статье целесообразно соблюдать следующий порядок изложения: заглавие, авторы, учреждение, резюме, ключевые слова, введение, методика, результаты исследования, обсуждение результатов, литература, резюме на английском языке с ключевыми словами и переводом фамилий авторов и названия статьи. На отдельных страницах представляются таблицы, рисунки и подписи к рисункам. В разделе «Методика» обязательно указываются сведения о статистической обработке экспериментального или клинического материала. Не допускаются сокращения слов, кроме принятых Комитетом стандартов. Единицы измерения даются в соответствии с Международной системой единиц СИ. Фамилии иностранных авторов приводятся в оригинальной транскрипции. На поля следует выносить номера рисунков, таблиц, особые знаки.

*Объем рукописи.* Объем рукописи обзора не должен превышать 25 страниц машинописного текста (включая таблицы, список литературы, подписи к рисункам и резюме на английском языке). Объем рукописи статьи экспериментального характера не должен превышать 15 страниц машинописного текста; кратких сообщений (писем в редакцию) – 7 страниц; отчетов о конференциях – 3 страниц; рецензий на книги – 3 страниц; лекций для врачей – 15 страниц.

*Иллюстрации.* Число рисунков не должно превышать пяти. Фотоснимки должны быть отпечатаны на белой глянцевой бумаге, присылаются в двух экземплярах, один из них без надписей и цифр. На обороте рисунков необходимо указать карандашом фамилии авторов и названия статьи. Графики должны быть изготовлены тушью или с помощью лазерного принтера, к графикам должны прилагаться исходные табличные данные. В подписях под рисунками должны быть сделаны объяснения значений всех кривых, букв, цифр и прочих условных обозначений. Все графы в таблицах должны иметь заголовки. Сокращение слов в таблицах не допускается. Повторять одни и те же данные в тексте, на рисунках и в таблицах не следует.

*Литература.* Список литературы должен представлять полное библиографическое описание цитируемых работ в соответствии с ГОСТ 7.1-84. Если число авторов превышает четыре, приводятся первые три, затем пишется: и др. Фамилии и инициалы авторов в алфавитном порядке, сначала русского, затем латинского алфавита, полное название статьи, знак //, стандартное сокращенное название журнала, год, том, номер, первая и последняя страницы. Вся информация о выходных данных издания отделяется точками. Сокращения для обозначения тома – Т., для номера – №, для страниц – С. В англоязычном варианте: том – Vol., номер – №, страницы – P. Например: Шабанов П.Д. Механизмы лекарственной зависимости // Мед. акад. вестн. 2001. Т. I. № I. С. 27–35. Монография, руководство: авторы, название книги, место издания, издательство, год. Например: Ткаченко Б. И. Физиология человека. СПб.: Наука, 2000. Глава в книге: авторы, полное название, знак //, название книги, знак /, фамилии редакторов, место издания, издательство, год, первая и последняя страницы. Например: Лебедев А.А. Поведенческие эффекты алаптиды у крыс-изолянтов // Эмоциональное поведение / Под ред. Е.С. Петрова. СПб.: Питер, 2000. С. 56–78. Цитирование в тексте дается в прямых скобках на номер работы в списке литературы. Не следует включать в список литературы диссертации. Необходимо, чтобы цитируемые источники соответствовали списку литературы.

*Оформление.* Рукописи предоставляются в редакцию в двух экземплярах, распечатанных на одной стороне листа стандартной белой бумаги 210х297 мм, с электронной копией на диске 3,5" в редакторах, совместимых с Word for Windows версии 6.0 или 7.0. При наборе используйте шрифт Times New Roman, стандартный 12 кегль, для таблиц 8 кегль, для подписей к рисункам 10 кегль. Рисунки, схемы, фотографии должны быть представлены в расчете на печать в черно-белом виде в точечных форматах tif (300–600 dpi) или в векторных форматах Word for Windows (wmf), Corel Draw (cdr). При оформлении графических материалов учитывайте размеры печатного поля журнала (равного 8,5 или 17,8 см). Масштаб 1:1. Статья должна быть подписана всеми авторами. В конце статьи следует указать полностью имя, отчество, фамилию авторов, служебный и домашний адрес, телефон, факс. E-mail. Следует указать фамилию автора, с которым будет вестись переписка.

*Рецензирование.* Статьи, поступившие в редакцию, обязательно рецензируются. Если у рецензента возникают вопросы, статья возвращается на доработку. Датой поступления статьи считается дата получения редакцией окончательного варианта статьи. Редакция оставляет за собой право внесения редакторских изменений в текст, не искажающих смысла статьи.

*Отписки.* Редакция высылает авторам 2 копии журнала, в котором опубликована статья.

*Гонорар.* Редакция не выплачивает гонорара за статьи.

*Авторское право.* Авторское право на конкретную статью принадлежит авторам статьи, что отмечается знаком ©. За издательством остается право на оформление и издание журнала. При перепечатке статьи или ее части ссылка на журнал обязательна.

*Реклама.* Журнал публикует рекламу по профилю журнала в виде отдельных рекламных модулей на 2, 3 и 4-й страницах обложки (полноцветная печать), статей, содержащих коммерческую информацию по профилю журнала с указанием "Публикуется на правах рекламы". Размещение рекламы в журнале платное. Объем помещения рекламной информации в журнале ограничен.

*Адрес редакции:* Санкт-Петербург, 197022, Каменноостровский пр., д. 69/71, СЗО РАМН, Редакция журнала «Медицинский академический журнал». Ответственный секретарь – проф. Петр Дмитриевич Шабанов. Тел.: (812) 542-4397; факс: (812) 234-9487; E-mail: shabanov@mail.com.ru.

**Медицинский академический журнал**  
**Том 8. № 2. 2008**

Редактор *Л. В. Каретина*  
Художественно-технический редактор *С. П. Иванова*

Подписано в печать 27.05.08  
Формат 60×90 1/8. Бумага мелованная. Уч.-изд.-л. 16,7  
Усл.кр.-отт. 67. Тираж 500 экз. Изд. № 122

Государственное образовательное учреждение  
высшего профессионального образования  
**ПЕТРОЗАВОДСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ**  
Отпечатано в типографии Издательства ПетрГУ  
185910, Петрозаводск, пр. Ленина, 33

**Уважаемые читатели журнала  
«Медицинский академический журнал»!**

Сообщаем, что продолжается подписка на журнал на 2-е полугодие 2008 года.  
 Наш подписной индекс – 14552.  
 Периодичность – 4 номера в год.  
 Стоимость  
 одного номера для индивидуальных подписчиков и организаций – 100 руб.,  
 подписки на 2-е полугодие – 200 руб.

Для подписки можно воспользоваться предлагаемым здесь бланком абонемента.

Министерство связи Российской Федерации		на газету журнал		14552 (индекс издания)							
<b>АБОНЕМЕНТ</b>											
<b>Медицинский</b> (наименование издания)				Количество комплектов:							
<b>академический журнал</b>											
на 2008 год по месяцам:											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда											
		(почтовый индекс)				(адрес)					
Кому											
						(фамилия, инициалы)					

				ДОСТАВОЧНАЯ КАРТОЧКА		на газету журнал		14552			
ПВ		место		ли-тер							
<b>Медицинский академический журнал</b>											
				(наименование издания)							
Стоп-мость		подписки		руб.		коп.		Количество комплектов:			
		пере-адресовки		руб.		коп.					
на 2008 год по месяцам:											
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Куда											
		(почтовый индекс)				(адрес)					
Кому											
						(фамилия, инициалы)					